

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**5 HZ VE 15 HZ DÜŞÜK FREKANSLI PULSLU MANYETİK
ALANLARIN STREPTOZOTOSİNİN İNDÜKLEDİĞİ
SIÇANLARDA PERİFERAL DİYABETİK NÖROPATİYİ
TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Shabnam ASSADOLLAHİANBONAB

BİYOFİZİK TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Doç. Dr. Işıl ÖCAL

ADANA-2017

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**5 HZ VE 15 HZ DÜŞÜK FREKANSLI PULSLU MANYETİK
ALANLARIN STREPTOZOTOSİNİN İNDÜKLEDİĞİ
SIÇANLARDA PERİFERAL DİYABETİK NÖROPATİYİ
TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Shabnam ASSADOLLAHİANBONAB

BİYOFİZİK TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Doç. Dr. Işıl ÖCAL

Bu Tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TSA-2016-4958 nolu proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2017

KABUL ve ONAY SAYFASI



TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve tezimin oluşma aşamasında sürekli destek olan, deneyim ve bilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Işıl ÖCAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Göreve başladığım ilk günden beri bana her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. İsmail GÜNAY hocama teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim sırasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım bölümümüzün diğer öğretim üyelerine sayın hocalarım Doç.Dr.Aykut PELIT ve Dr.figen ÇİÇEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Biyofizik Anabilim Dalı sekreterimiz Perihan YEŞİL'e ve bölümümde yardımcı olan diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca tüm desteklerini yanımda hissettiğim, bu günlere gelmemde hiçbir zaman yanımdan ayrılmayan, onların varlığıyla varlık bulduğum, yegane sığınağım olan ve beni her an maddi ve manevi destekleyen aileme; annem Fatemeh Hoseinian 'a, ağabeyim Dr. Jalal 'a, ablalarım Shadi, Roya ve Dr. Maryam 'e ve eşleri Dr. Esmaili, F.Alimohamadi ve Dr. Norozian 'a ve ailemizin küçük şekerleri Amirreza ve Arya 'a ve arkadaşım Mozghan Zarifikhosroshahi 'e minnet dolu duygularımı sunuyorum.

Ve Sevgili Eşim, tezimi yazdığım süre boyunca büyük bir sabır ve hoşgörü ile zamanından feragat eden, her zaman yanımda olduğunu hissettiren, varlığıyla güven veren ve en büyük destekçim Dr.Mahdi MARZİ'e çok teşekkür ederim ve minnet dolu duygularımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1 Elektromanyetik Alanlar	4
2.1.1 Elektromanyetik Alan	4
2.1.2 Elektromanyetik dalgaların özellikleri	5
2.1.3 Elektromanyetik Alanların Büyüklüğü ve Birimleri	9
2.2 Manyetik Alanların Yapay Olarak Elde Edilmesi	10
2.2.1 Helmholtz Bobin Çifti	11
2.3 Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri	12
2.4 Manyetik Alan Tedavisi	14
2.5 Diyabetes mellitus	16
2.5.1 Tarihçe	16
2.5.2 Diabetes mellitus' un sınıflandırılması	17
2.5.3 Tip 1 Diabetes Mellitus	17
2.5.4 Tip 2 Diabetes Mellitus	18
2.5.5 Gestasyonel Diabetes Mellitus	18
2.5.6 Diğer grup	19
2.6 Diyabetik Nöropati	19
2.7 Diyabetik Polinöropati	19
2.8 Deneysel Diyabet	21
2.8.1 Deneysel Diyabet Modelleri	22
2.9 Diyabetik Nöropatinin Değerlendirilmesi	22
2.9.1 Termal Plantar Test	23
2.9.2 Mekanik Plantar Test (Aesthesiometer)	24
2.10 Diyabet ve Sitokinler	25
2.10.1 İnterlökn-2 (IL-2)	26
2.10.2 İnterlökn-6 (IL-6)	26
2.10.3 Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1 Sıçanların Temin Edilmesi	28
3.2 Deney Grupları	29

3.3	Serum Fizyolojik ve Streptozotosin İnjesiyonu.....	29
3.4	Diyabet Testi.....	30
3.5	Sıçanların Bakımı	31
3.6	Pulsu Manyetik Alan Sistemi.....	31
3.7	Pulsu Manyetik Alan Uygulanması	32
3.8	Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi.....	33
3.9	Sıçanların Kan Plazma Glukoz Seviyelerinin Ölçülmesi	33
3.10	Geri-Çekme Refleksinin Ölçülmesi	34
3.10.1	Termal Plantar Test	34
3.10.2	Mekanik Plantar Test	35
3.11	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yönteminin Uygulanması	36
3.12	Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	37
4.	BULGULAR	39
4.1	Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçümleri	39
4.2	Sıçanların Kan Plazma Glukoz Seviyeleri.....	43
4.3	Sıçanların Kan İnsulin Seviyeleri	46
4.4	Sıçanların Kan Sitokin (IL-2 ve IL-6) Seviyeleri	48
4.5	Sıçanların Sitokin (TNF- α) Seviyeleri.....	52
4.6	Sıçanların Mekanik Eşik Değerleri	54
4.7	Sıçanların Termal Latans Değerleri	57
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	60
5.1	Ağırlık ve Glukoz	61
5.2	Mekanik Eşik ve Termal Latans.....	63
5.3	Sitokinler (IL-2, IL-6, TNF- α).....	65
5.4	İnsulin.....	67
6.	KAYNAKÇA	70
	ÖZGEÇMİŞ	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Elektromanyetik dalganın şematik gösterimi. Elektrik alanı (E), manyetik alan (B) ve elektromanyetik dalganın ilerleme yönü (k) birbirine diktir. Dalga boyu “ λ ” olarak belirtilmiştir (24)..	5
Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum ve görünür ışık spektrumu.	6
Şekil 2.3. Selenoid.	10
Şekil 2.4. Helmholtz halkaları.	10
Şekil 2.5. Helmholtz bobin çifti. “I” yönünde geçen elektrik akımı, bobinlerin arasındaki alan “x” düzgün manyetik alanı oluşturmaktadır. Bobinler arasındaki mesafe (R) ve bobinlerin yarıçapı (R) birbirine eşittir (35).	11
Şekil 2.6. Termal Plantar Test Sistemi.	23
Şekil 2.7. Mekanik Plantar Test Sistemi.	24
Şekil 3.1. Deney grupları ve deneysel işlemlerin diyagramı. (PMA: Pulsu manyetik alan, K5, K15 ve D5, D15: 5 Hz ve 15 Hz li pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet grupları.)	28
Şekil 3.2 Kuyruk veninden serum fizyolojik (SF) veya streptozotosin (STZ) injeksiyonu.	30
Şekil 3.3 Deney hayvanları sıcaklık ve nemi kontrol edilen koşullarda ad libidum olarak palet yemle beslendiler ve çeşme suyu içtiler.	30
Şekil 3.4 Manyetik alan uygulama sistemi.	31
Şekil 3.5 Pulsu manyetik alanın biçim ve süreleri.	32
Şekil 3.6 Pulsu Manyetik alan sabit ve düzgün manyetik alanın oluşturulduğu üç bobinli bir sistem aracılığı ile uygulandı. Dışardan gelecek manyetik alanlar Faraday kafesi ile engellendi.	32
Şekil 3.7 Sıçanların ağırlıklarının ölçülmesi.	33
Şekil 3.8 Kan plazma glukoz seviyesinin ölçülmesi.	33
Şekil 3.9 Termal Plantar Test Sistemi.	35
Şekil 3.10 Mekanik Plantar Test Sistemi.	36
Şekil 3.11 TNF- α ve IL-6 sitokinlerinin ELISA yöntemi ile belirlenmesi.	37
Şekil 4.1 Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların zaman içinde haftalık ağırlık değişimleri (üst) . Aynı büyüklüklerin % değişimleri ise (<i>altta</i>) yeniden çizildi. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir.	40
Şekil 4.2. Kontrol ve Diyabet gruplarında, alt gruptaki ortalama ağırlık değişimleri.	41
Şekil 4.3. K ve D alt gruplarına ait sıçanların ağırlıkları birbirinden tamamen farklıdır	42

- Şekil 4.4** Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların zaman içinde **kan plazma glukoz** seviyelerindeki değişimler. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir..... 44
- Şekil 4.5** Kontrol ve Diyabet gruplarında, alt gruptaki ortalama kan glukoz seviyelerinin değişimleri. 46
- Şekil 4.6** Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların **kan insülin** seviyeleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir..... 46
- Şekil 4.7** Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların **kan sitokin IL-2 ve IL-6** seviyeleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir. 49
- Şekil 4.8** Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların **kan TNF- α** seviyeleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir. r. 52
- Şekil 4.9** Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların **mekanik eşik** değerleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir..... 54
- Şekil 4.10** Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların **termal latans** değerleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir..... 57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Frekans aralıklarına göre elektromanyetik dalgalar ve genel özellikleri.....	7
Çizelge 2.2	SI ve Gauss birimlerinin karşılaştırılması.	9
Çizelge 2.3	EM büyüklükler ve birimleri.....	9
Çizelge 2.4	Diyabetik nöropati sınıflandırması (80,84,85).	20
Çizelge 4.1	Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15 ve D5, D15) bulunan sıçanların 8 hafta boyunca haftada bir kez ölçülen ağırlıklarının ortalama \pm SEM değerleri.....	39
Çizelge 4.2	8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık ağırlık kazançlarına PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	40
Çizelge 4.3	8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık ağırlık kazançlarına PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.	41
Çizelge 4.4.	PMA'nın K ve D grupların frekansa bağlı etkileri. PMA K ve D alt gruplarında etkili değil (grup içi), fakat K ve D grupları birbirinde farklı iki gruptur (gruplar arası), $p < 0,05$. ..	42
Çizelge 4.5.	K, K5, K15, D, D5, D15 gruplarındaki sıçanların kan plazma glukoz seviyelerinin ortalama değerleri ve standart hataları ($ort \pm SEM$) (Kan plazma glukoz; G).	43
Çizelge 4.6.	8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık kan glukoz seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	45
Çizelge 4.7.	8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık kan plazma glukoz seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	45
Çizelge 4.8.	8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık kan insulin seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	47
Çizelge 4.9.	8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık kan insulin seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	47
Çizelge 4.10	K5, K15, D, D5 ve D15 gruplarında bulunan sıçanların kan sitokin IL-2, IL-6, insulin ve TNF-α seviyelerinin ortalama değerleri ve standart hataları ($ort \pm SEM$)	48
Çizelge 4.11	8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık IL-2 seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	50

Çizelge 4.12 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık IL-2 seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	50
Çizelge 4.13 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık IL-6 seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	51
Çizelge 4.14 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık IL-6 seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	51
Çizelge 4.15 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık TNF-α seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	53
Çizelge 4.16 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık TNF-α seviyelerinde PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	53
Çizelge 4.18 4.17 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol grubunda bulunan sıçanların haftalık mekanik eşik değerlerine PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	55
Çizelge 4.18 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık mekanik eşik değerlerine PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	55
Çizelge 4.19 K ve D gruplarında mekanik eşik değerlerine PMA'nın etkisine ait two-way ANOVA sonuçları	56
Çizelge 4.20 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık termal latans değerlerine PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar	58
Çizelge 4.21 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış diyabet grubunda bulunan sıçanların haftalık termal latans değerlerine PMA'nın etkisini gösteren istatistik sonuçlar.....	58
Çizelge 4.22 K ve D gruplarında termal latans değerlerine PMA'nın etkisine ait two-way ANOVA sonuçları	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DPN	Diyabetik Periferel Nöropati
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Hz	Hertz
ELF	Düşük Frekanslı Manyetik Alan
PEMA	Pulslu Elektromanyetik Alanlar
PMA	Pulslu Manyetik Alan
K	Kontrol
K5	Kontrol+5 Hz Pulslu Manyetik Alan
K15	Kontrol+15 Hz Pulslu Manyetik Alan
D	Diyabet
D5	Diyabet +5 Hz Pulslu Manyetik Alan
D15	Diyabet +15 Hz Pulslu Manyetik Alan
INS	Serum İnsülin
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
IL-2	İnterlökin-2
IL-6	İnterlökin-6
STZ	Streptozotosin
ELIZA	Enzyme Linked Immunosorbent assay
f	Frekans
RF	Radyo Dalgalar
MW	Mikro Dalgalar
HF	Yüksek Frekans
UV	Ultraviyole ışınları
T	Tesla
G	Gauss
EM	Elektromanyetik
SI	Système International D'unités

B	Manyetik Alan Şiddeti
R	Yarıçapı
I	Akim Şiddeti
NDDG	National Diabetes Data Group
ADA	American Diabetes Association
IDDM	İnsulin Bağımlı Diyabetes Mellitus
T1D	Tip 1 Diyabet
NIDDM	İnsulin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
GAD	Glutamik Asit Dekarboksilaz
ENMG	Elektronöromiyografi
NCV	Sinir İleti Hızı
ALL	Alloksan
i.p	İntraperitoneal
i.v	İntravenöz
IL-1 β	İnterlökin-1 β
IL-8	İnterlökin-8
IL-4	İnterlökin-4
IL-12	İnterlökin-12
IL-18	İnterlökin-18
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein-1
CRP	C-reactive protein
TCGF	T Hücresi Büyüme Faktörü
Da	Dalton
LPS	Lipopolisakkarit
IFN- γ	İnterferon- Gama
SF	Serum Fizyolojik
DETAUM	Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden
SEM	Standarde Error Mean

ÖZET

5 Hz ve 15 Hz düşük frekanslı pulslu manyetik alanların streptozotosinin indüklediği sıçanlarda periferel diyabetik nöropatiyi tedavi edici etkilerinin araştırılması

Diabetes Mellitus (DM) cinsiyet farkı gözetmeksizin popülasyonda yaygın olarak görülen ve gittikçe artan makrovasküler (kardiyovasküler) ve mikrovasküler (retinopati, nefropati ve nöropati) komplikasyonlara sebep olan otoimmün bir hastalıktır. Diyabetle birlikte gelişen periferel diyabetik nöropatinin (DPN) tedavisinde düşük frekanslı pulslu manyetik alan (PMA) uygulamalarının periferel kan mono nükleer hücreleri uyardığı, anjiyogenez ve diyabetik ayak ülserlerinde kullanıldığı çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızın amacı 5 Hz ve 15 Hz düşük frekanslı pulslu manyetik alanların streptozotosinin indüklediği periferel diyabetik nöropatinin tedavisinde etkililerini belirlemektir.

Çalışmada Wistar Albino türü 60 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar control (K), diyabet (D), 5 Hz ve 15 Hz PMA uygulama grupları olmak üzere toplam 6 gruba ayrıldı. PMA grubunda bulunan sıçanlar, haftada 5 gün, günde 1 saat, 8 hafta boyunca 5 ve 15 Hz düşük frekanslı PMA etkisine bırakıldılar. Deney süresi boyunca haftada bir kez sıçanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları ölçüldü. Mekanik ve termal plantar testler yapıldı ve deney süresinin sonunda sıçanların kalplerinden kanları alındı, serum insülin (INS), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin- 2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6) ölçüldü.

Çalışmamızda, K ve K-PMA gruplarında bulunan sıçanların 8 hafta sonunda, deney başlangıcındaki ilk değerlerine göre ağırlıklarının arttığı ve kan glukoz seviyelerinin azaldığı; D ve D-PMA gruplarında bulunan sıçanların ağırlıklarının ve kan glukoz seviyelerinin azaldığı görüldü. Fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sekiz hafta sonunda tüm gruplarda bulunan sıçanların kan örneklerinden INS seviyeleri ve IL-2, IL-6 ve TNF- α ölçüldü. K ve D alt gruplarında değerler PMA ile bir miktar değişmektedir, fakat dalgalanma çok yüksek olduğundan bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Termal latans ve mekanik eşik değerlerinde D-PMA grubu ile D grubu arasında anlamlı fark vardır, PMA uyarımı, diyabetik sıçanlarda termal ve mekanik uyarana karşı hipersensitivite gelişimini önemli ölçüde engelledi.

Bugünkü çalışmamızın sonuçları, PMA ile yapılan tedavinin DPN için hayvan modellerinde gözlenen anormalliklerin gelişmesini engelleyebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, PMA'nin DPN üzerindeki spesifik mekanizmalarını aydınlatmak ve PMA'nin klinik uygulama için uygulanabilirliğini teyit etmek için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Pulslu manyetik alan, diyabetik sıçan, diyabetik nöropati

ABSTRACT

Investigation of Therapeutic Effects of 5 Hz and 15 Hz Pulsed Electromagnetic Fields on Diabetic Peripheral Neuropathy in Streptozotocin-induced Rats

Diabetes mellitus (DM) widely seen without discriminating the sex of the population and increasing macrovascular (cardiovascular) and microvascular (retinopathy, nephropathy and neuropathy) is an autoimmune disease that causes the complications. In studies diabetes together diabetic neuropathy with low-frequency magnetic field applications, stimulate peripheral blood mononuclear cells, that has been reported to help the healing of angiogenesis and diabetic foot ulcers. The aim of our study is to determine the effects of 5 Hz and 15 Hz low frequency pulsed magnetic fields in the treatment of streptozotocin induced peripheral diabetic neuropathy.

In our studies were used 60 rats of Wistar albino species. The rats were divided into 6 groups, control, diabetes, 5 Hz and 15 Hz PMF. Rats of PMF groups were exposed to 5 and 15 Hz frequency pulsed magnetic field for 8 weeks, 5 days a week for 1 hour on day. During the experimental period blood glucose levels and weights of the rats were measured in once a week. mechanical and thermal plantar testing were done and at the end of the experiments, rats received blood from their hearts, the serum of rats were measured insulin level (INS), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6).

In our study, the weight of rats in K and K-PMA groups were increased at the end of 8 weeks in comparison of initial values at the beginning of the experiment whereas the blood glucose levels were decreased; the weight and the blood glucose levels of rats in D and D-PMF groups were decreased. However, these changes were not statistically significant. After 8 weeks, INS levels and IL-2, IL-6 and TNF- α were measured in blood samples from rats in all groups, Values in the K and D subgroups vary somewhat with PMF, but because of high fluctuations in the results, the changes were not statistically significant. There was a significant difference between D-PMF group and D group in thermal latency and mechanical threshold values, PMF stimulation in diabetic rats, thermal and mechanical stimuli significantly inhibited the development of hypersensitivity.

The current study demonstrates that treatment with PMF might prevent the development of abnormalities observed in animal models for DPN. However, further research is required to elucidate the specific mechanisms of PMF on DPN and to confirm the applicability of PMF for clinical practice.

Key words: Pulsed magnetic field, diabetic rat, diabetic neuropathy

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus; pankreas insülin sekresyonunun mutlak veya rölatif yetersizliği veya insülin etkisizliği ya da insülin molekülündeki yapısal bozukluklar sonucu gelişen, hiperglisemi ve glucagon yüksekliliği ile karakterize; karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlara neden olan bir sendromdur. Günümüzde diyabet, sıklığı ve yarattığı sorunlar nedeniyle tüm dünyada önemi gittikçe artan bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Diyabetik periferik nöropati (DPN), genellikle diabetes mellitusun her iki tipinde, en sık ortaya çıkan komplikasyonlarından biridir (1-3). Çalışmalar sonucuna göre diyabet hastalarının yaklaşık %30 u DPN ile etkilenir ve diyabetik hastaların %16-26 sının kronik ağrı yaşadıklarını göstermektedir (4). DPN allodyni ve hiperaljezi dahil uyarıcı-uyarılmış ağrı anormal semptom ile karakterizedir ve genellikle büyük ölçüde yaşam kalitesini ve süresini bozabilir ve böylece ruh hali ve uyku bozukluğu yol açar (5-7).

Bu nedenle, hem bireysel hem de toplumsal olarak insan sağlığını olumsuz etkilemektedir ve büyük bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Ancak, periferik nöropati için glisemik kontrolü dikkatli yönetmek ve ağrı hafifletme dışında, başka bir tedavi yoktur (8,9). Diyabetik hastalarda bazı potansiyel toksisite, kötü tolere edilebilirlik ve etkili olmama durumu güncel tedavi seçeneklerin önemli dezavantajlarındanır.

Nöro mekanizmalar diyabet kaynaklı nöropati gelişimi ve ilerlemesinde önemli rol oynayan çok sayıda çalışmada, pro-enflamatuar sitokinler olarak tümör nekroz faktörü (TNF-alfa) ve interlekin (IL-6), nöropatinin gelişmesinde ve devamında katkıda buldukları rapor edilmiştir. Merkezi ya da periferik sinir sistemlerinde diyabetin indüklediği hasarlar, lenfositler, monositler, makrofajlar ve glial veya Schwann hücrelerinde lokal olarak çeşitli sitokin salınımını gerçekleştirir (10).

Diyabetin indüklediği hiperaljezia ve allodynia semptomlarının ortaya çıktığı süre boyunca pro-ve anti-enflamatuar sitokinleri sinir dokularını modüle ya da aktive eder (10). Geleneksel analjezik tedavilere, anti-inflamatuar ilaçlar,

antidepresanlar, antikonvülsanlar, çeşitli inhibitörler ve diğerleri de dâhil olmak üzere tedavilerin hiç biri diyabetik hastalarda, acılı nöropati tedavisi için tatmin edici değildir (11,12).

Bu nedenle, diyabetli hastalarda DPN gelişimini önlemek için, özellikle bir oral antidiyabetik ilaç ile kombine tedaviye ihtiyaç olan hastalarda, etkili ve güvenli olan diğer farmakolojik olmayan yeni tedavi modalitelerinin keşfetmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Farmakolojik tedavilerin diyabet ve komplikasyonlarının tanı ve tedavisi için yetersizliği ve birkaç yan etkileri, pulslu manyetik alanlar (PMA) gibi non-farmakolojik yaklaşımlar, araştırmacıların ilgisini çekmiştir (10).

Birçok klinik çalışmada, diyabetik hastalarda pulslu alanların (PMA) sinir fonksiyonunun bazı parametrelerini değiştirebileceğini bildirmişlerdir (13,14). Literatürün çoğunluğu in vitro hücrelerde veya sinir hastalığı olan hayvan modellerinde sinirlerin büyüme, yenilenme ve fonksiyonel iyileşmesinin PMA ile uyarılması belirtmiştir (15-19). Ancak, kliniklerde PMA uygulaması hala tartışmalıdır (20).

Bu nedenle, PMA 'nın tedavi edici etkilerini onaylamak için DPN üzerinde daha fazla araştırma ve PMA 'nın klinik uygulaması için uygulanabilirliğini doğrulamak gerekmektedir.

Bu güne kadar hayvanlarda diabetes mellitus tarafından uyarılan nöropatiye PMA etkileri üzerine çalışmalar oldukça kısıtlı olduğundan, bu çalışmada, hayvanlarda 5 Hz ve 15 Hz PMA nin diyabet kaynaklı nöropatide terapatik potansiyele sahip olup olmadığını test etmek amaçlanmıştır.

Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçan modeli, potansiyel terapatik müdahalelerin etkinliklerinin değerlendirilmesi, DPN hastalarında görülen birçok anormalliği göstererek bir DPN modeli olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (21). Diyabetik sıçanlarda, STZ enjeksiyonundan bir hafta sonra arka pençelerinde, dokunsal mekanik ya da termal uyarıcıya karşı allodinia ve hiperaljezia gelişmektedir (10,21).

Bu çalışmada, manyetik akı yoğunluğu pikleri yaklaşık 1,5 mT olan 5 Hz ve 15 Hz PMA ya whole-body olarak maruz kalan STZ uygulanmış sıçanlarda, PMA nın diyabetik periferik nöropati semptomlarını tedavi edici etkileri

araştırıldı. PMA modifiye Helmholtz bobinleri ile üretildi. Davranış testleri kullanılarak ve kan serum insülin değeri (IH), tümör nekroz faktör alpa (TNF- α) ve interlökin-2 (IL-2) ve interlökin-6 (IL-6) parametreleri ELIZA yöntemiyle ölçüldü.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektromanyetik Alanlar

2.1.1. Elektromanyetik Alan

Elektrik yüklü bir parçacığın uzayda ivmeli hareketi sonucunda birbirine dik elektrik ve manyetik alan bileşenleri oluşur. Elektrik alan bileşeni ortamda elektrik yüklerinin varlığında oluşurken manyetik alan elektrik yüklerinin ivmeli hareketinden oluşur. Geniş bir spektrumu bulunan değişken elektrik, manyetik ve elektromanyetik alanlar, yüksek gerilim hatlarından radarlara, iletişim araçlarından TV ve radyo vericilerine, ofis ve evlerdeki elektrikli aletlerden trafo merkezlerine kadar pek çok elektrikli sistemden yayılmaktadır. Elektrik alanları gerilim tarafından üretilir ve gerilimin artmasıyla artış gösterir. Manyetik alan akımın kablolar veya elektrikli cihazlar boyunca akışıyla son bulur ve akımın artmasıyla şiddet artar. Çoğu elektrikli cihaz açılmasıyla birlikte şebekeden çektiği akım miktarına bağlı olarak etrafında manyetik alan oluşturur. Elektrik alanlar elektriği taşıyan materyaller tarafından korunabilir veya zayıflatılabilir. Manyetik alanların ise zayıflatılması oldukça güçtür.

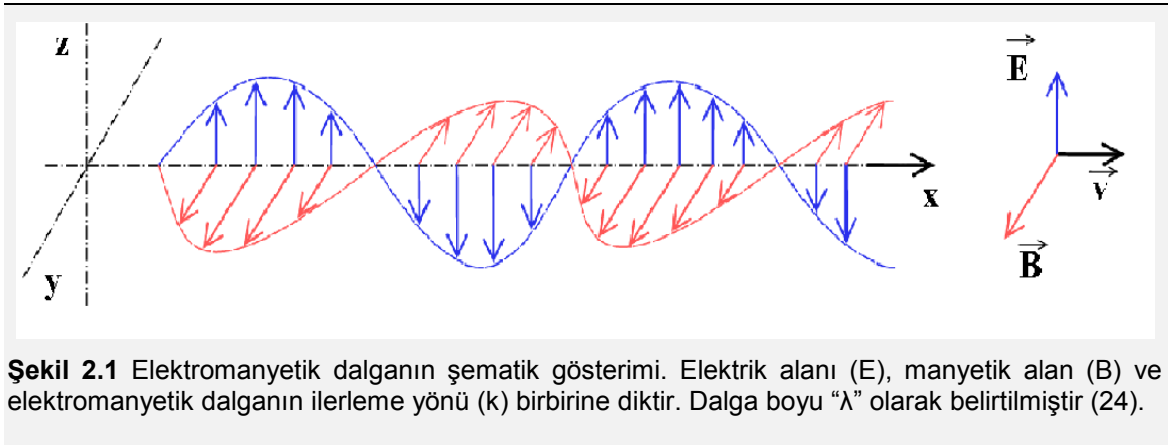
Elektromanyetik alanların, dalgalar biçiminde yayılan enerjisine elektromanyetik radyasyon (ışınım) denir. Elektromanyetik ışınımın en küçük birimi fotondur ve fotonların kütleleri yoktur. Boşlukta ışık hızında enerji paketleri (fotonlar) şeklinde yayılırlar. Elektromanyetik dalga, dalga biçimi ve boyu, frekansı ve şiddeti ile karakterize edilir. Elektromanyetik ışımalarda iki dalga tepesi arasındaki uzaklık dalga boyu (λ), bir noktadan bir saniyede geçen dalga sayısı ışınımın frekansı (f), Hertz (Hz) ise ışık hızı;

$$c = \lambda \cdot f \quad (1.1)$$

formülü ile ölçülür. Formülde c , ışık hızı yaklaşık 3×10^8 m/s'dir. Elektromanyetik radyasyonlar, sinüzoidal yayılım yaparlar. Sinüzoidal yayılımdaki hız, frekans ve dalga boyu parametreleri fotonun yayılımını açıklar. Frekans yükseldikçe dalga boyu kısalmaya yayılan enerji artar (22).

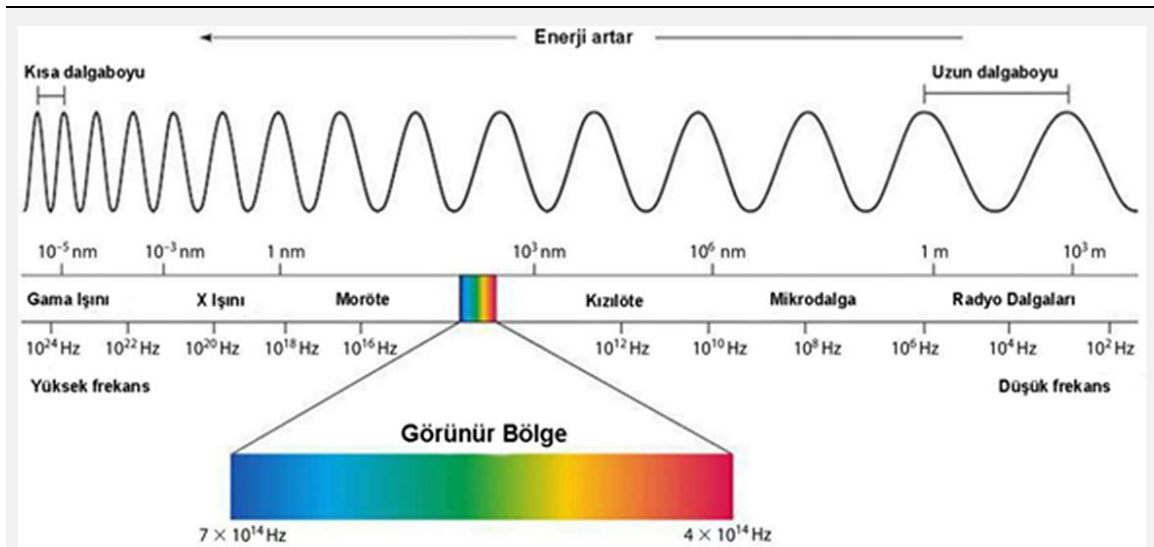
2.1.2. Elektromanyetik dalgaların özellikleri

Elektromanyetik dalgalar yüklerin ivmeli hareketi ile oluşan enine dalgalardır. Dalgalar yayılmak için mekanik dalgaların ihtiyaç duyduğu gibi bir madde ortamına ihtiyaç duymazlar. Elektromanyetik dalgalar elektrik ve manyetik alan bileşenlerinden oluşurlar ve bu iki bileşen birbirine ve dalganın yayılma doğrultusuna diktir (Şekil 2.1). Görülebilir ışığın bir elektromanyetik radyasyon olduğunu ilk olarak James Clerk Maxwell (1831–1879) fark etmiştir. Elektromanyetik dalgalar uzayda ışık hızı ile yayılır, enerji taşır ve yayıldıkları madde ortamına enerji aktarırlar fakat başka bir ortamda yol aldıklarında hızları enerjileri ve enerji aktarımları buldukları ortamın özelliklerine bağlı olarak değişir. Mekanik dalgalar ve ışıkta da gözlenen yansıma, kırılma, kırınım ve girişim özellikleri elektromanyetik dalgalar için de geçerlidir, bunun yanında elektromanyetik dalgalar hem dalga, hem tanecik özellikleri taşır. Düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar, dalga teorisinin öngördüğü gibi, yüksek frekanslı dalgalar ise tanecik teorisinin öngördüğü şekilde davranırlar (23).



Elektromanyetik spektrum, elektromanyetik dalgaların özelliklerine göre sınıflandırılmış türlerinin dalga boyuna veya frekansa göre sıralanmış, gama ışınlarından çok düşük frekanslı elektromanyetik dalgalara kadar uzanan dizilimidir (Şekil 2.2). Elektromanyetik spektrum süreklidir. Dalgaların frekansı arttıkça enerjileri de artar, en düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar en düşük

enerjiye sahip olanlardır. Geniş frekans aralığına sahip (0-10²² Hz arasında) elektromanyetik alanlar frekanslarına göre şöyle sınıflandırılır: alternatif manyetik alanlar, 0-3000 Hz frekans aralığında değişen dalgalardır, çok düşük frekanslı manyetik alanlar (ELF) dir; 10⁶-10¹⁰ Hz frekans aralığındaki dalgalar radyo dalgaları (RF), 10¹⁰-10¹² Hz frekans aralığındaki dalgalar mikro dalgalar (MW), 10¹²-10¹⁵ Hz frekans aralığındaki dalgalar infrared, görünen ışık ve ultraviyole ve 10¹⁷ Hz frekansının üzerindeki dalgalar da x-ışını ve gama ışınlarıdır (Şekil 2.2)(25).



Şekil 2.2 Elektromanyetik spektrum ve görünür ışık spektrumu (anonim,2017).

Elektromanyetik spektrumda yer alan elektromanyetik radyasyon türleri Çizelge 2.1.'de sunulmuştur.

Elektromanyetik dalgalar foton denilen küçük enerji paketlerinden oluşmaktadır. Fotondaki enerji frekans ile doğru orantılıdır: Frekans arttıkça fotondaki enerji miktarı da artmaktadır. Elektromanyetik dalganın biyolojik sistemlere olan etkisi elektromanyetik alanın gücü ve fotonun enerjisi belirler. Düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar "Elektromanyetik Alanlar" ,yüksek frekanslı dalgalar ise "Elektromanyetik Radyasyon" olarak adlandırılır. Ayrıca elektromanyetik dalgalar frekans ve enerjilerine göre " İyonize Radyasyon" (Nükleer Radyasyon) veya "İyonize Olmayan Radyasyon" (Elektromanyetik Radyasyon) olarak da adlandırılırlar (25-29).

Çizelge 2.1 Frekans aralıklarına göre elektromanyetik dalgalar ve genel özellikleri.

Frekans Aralığı	İsimlendirme	Genel Bilgiler
0 Hz – 300 Hz	Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanlar	Elektrik şebekesinden ve elektrikle çalışan her türlü aletten çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar yayılır.
300 Hz – 100 KHz	Orta Frekanslı Elektromanyetik	Yaygın kullanım alanları yoktur. Atmosferin iyonosfer tabakası tarafından yansıtılırlar ve yeryüzünde geniş alanlara kolaylıkla yayılabilirler, büyük dalga boyları özellikleri ile kalın duvarların arkasına kolaylıkla nüfus edebilirler. Bu özelliklerinden dolayı haberleşmede yaygın olarak kullanılırlar. Radyo, televizyon yayınları ve radarlar radyo dalgaları ile çalışır.
100 KHz – 300 MHz	Radyo Dalgaları (Radyo Frekansı)	
300 MHz–300 GHz	Mikrodalgalar	Günlük hayatımızda kullanılan mikrodalga fırınları, cep telefonu, baz istasyonu, kablosuz internet ağları, güvenlik sistemleri gibi uygulamalarda kullanılır
300 GHz–400 THz	Kızılötesi Işınlardan Isı yayan	Termal kameralar (gece görüşü), kızıl ötesi detektörlerinde kullanılır. Bazı piton ve boğa yılanı türlerinde kızılötesi ışınları algılayan termoreseptif organları bulunur
400 –790 THz	Görülebilir Işık	İnsan gözü tarafından algılanabilen ışınlardır, çok sıcak cisimlerden yayılırlar.
$7 \times 10^{14} - 7 \times 10^{16}$ Hz	Mor Ötesi Radyasyon	En önemli kaynağı güneştir fakat güneş kaynaklı mor ötesi radyasyonun büyük bir bölümü yeryüzüne ulaşmadan stratosfer tarafından soğurulur.
$3 \times 10^{16} - 3 \times 10^{19}$ Hz.	X-Işınları	X-Işınları çok yüksek enerjili elektromanyetik dalgalardır. Röntgen ışınları olarak da bilinirler. Nötron yıldızları ve kara delikler gibi doğal cisimler X-ışınları yayırlar. Yapay olarak elde edilebilen X ışınları tıpta radyoloji alanında kullanılır.
$3 \times 10^{19} - 3 \times 10^{23}$ Hz	Gama Işınları	Radyoaktif maddelerin çekirdek reaksiyonlarında, çekirdeğin yeniden yapılanması sırasında parçacıkların etkileşimleri sırasında oluşurlar. Gama ışınları spektrumun en yüksek frekanslı ve enerjili ışınlarıdır.

İyonize Radyasyon: İyonlaştıran radyasyon yüksek frekanslı, enerjisi oldukça yüksek olan ve iyonizasyon (yani pozitif veya negatif elektrik yüklü atom veya molekül parçacıklarının oluşturulması) meydana getiren radyasyondur (X-ışını-gama ışını). Bu ışınlar, atomlar arasındaki bağları kopararak hücrelerdeki moleküllerin parçalanmasına neden olurlar. Atomlar arasındaki bağların kopması için bir minimum kuantum enerjisine ihtiyaç vardır. Bu kuantum enerjisi 12 eV- 35 eV olmalıdır. En yüksek RF frekansı 300 GHz'dir ve 10^{-3} m dalga boyundadır. Diğer taraftan 300 GHz'in 0,00125 eV enerjiye karşılık geldiği ve iyonlaşmaya neden olmadığı görülür. Yani foton enerjisi düşüktür ve atom bağlarını koparamaz. Sadece H^+ bağlarını koparabilirler. Örnek olarak Ultraviyole ışınları (UV), görünür ışık, kızıl ötesi ışınlar, yüksek frekanslı (HF) ve mikrodalga alanlar, çok düşük frekanslı alanlar (ELF), statik, elektrik ve manyetik alanları verebiliriz. Yüksek şiddetteki elektromanyetik radyasyonlar biyolojik sistemlerde herhangi bir iyonizasyona neden olmamaktadır. Fakat elektromanyetik radyasyonların sıcaklığı arttırarak, kimyasal reaksiyonları değiştirdiği veya elektriksel akımı indükleyerek biyolojik etkiler oluşturduğu hakkında çalışmalar mevcuttur (30,31).

İyonize Olmayan Radyasyon: İyonlaştıran radyasyona karşı, iyonlaştırmayan radyasyonun biyolojik sistemlere olan etkisinin olup olmadığı belli değildir. Bu nedenle son yıllarda iyonlaştırmayan radyasyon üzerine çalışmalar hız kazanmıştır. İyonlaştırmayan radyasyon 0-300 GHz frekansında statik ve zamansal değişimli elektrik ve manyetik alanları, statik (0 Hz), ekstrem alçak frekans alanları (ELF > 0-300 Hz) ve yüksek frekans alanları (HF, 300 Hz - 300 GHz) kapsamaktadır. İyonlaştırmayan radyasyonun biyolojik etki mekanizması iki farklı dalda araştırılmaktadır;

1) Termal Olmayan Etki: Elektromanyetik alanın şiddeti yeterince küçükse ısı oluşmaz.

2) Termal Etki: Elektromanyetik alan herhangi bir cisimle etkileştiği zaman, artan moleküler hareket ve sürtünmeden dolayı sistemde ısı artışı ortaya çıkar ("termal etki").

2.1.3. Elektromanyetik Alanların Büyüklüğü ve Birimleri

Elektrik alan; birim metre başına düşen potansiyel farkıdır(V; gerim (Volt/metre) Manyetik alan manyetik akı yoğunluğu (B) olarak ölçülür ve birimi “Tesla”dır Yaygın olarak manyetik alan birimi olarak Gauss kavramı kullanılır. 1 Tesla (T) = 10^4 Gauss (G) dur). Manyetik alan ortamın manyetik geçirgenliği (μ) ve şiddeti (H; A/m) çarpımı ile hesaplanır ($B = \mu H$). (Boş uzayda, havada ve canlı dokularda $\mu = 4\pi 10^{-7}$ [Henry/m] olarak alınır. Boş alanda ince uzun akım taşıyan (amper) iletkenin (metre) uzaklıkta olan manyetik akı yoğunluk vektörünün büyüklüğü aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$B = 2 \times 10^{-7} \frac{I}{r} \text{ (Tesla)} = \frac{2I}{r} \text{ (mili gauss)} \quad (1.2)$$

Ayrıca $1 \text{ mT} = 10^{-3} \text{ T}$ ve $1 \mu\text{T} = 10^{-6} \text{ T}$ birimleri de kullanılmaktadır.

Uluslararası Birim Sisteminde (SI) manyetik alan birimi olarak “Gauss” kullanılmaktadır (Çizelge 2.2). EM büyüklükleri ve birimleri de Çizelge 2.3’ gösterilmiştir (22).

Çizelge 2.2 SI ve Gauss birimlerinin karşılaştırılması.

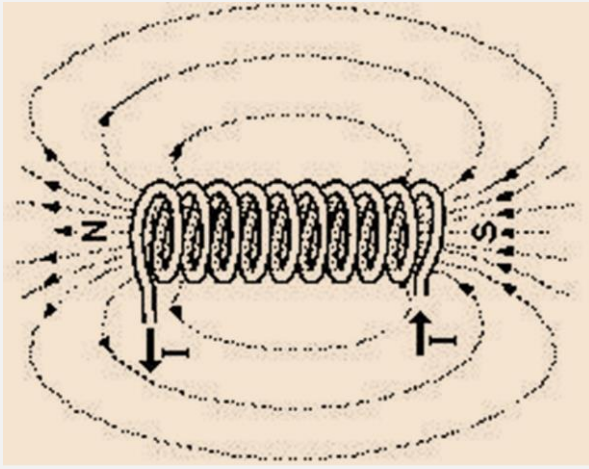
Nicelik	Sembol	SI birimi	Gauss birimi
H	Manyetik alan şiddeti	1 Amper/metre	$4\pi \times 10^{-3}$ Oersted
ϕ	Manyetik akı	1 Weber	10^8 Maxwell
B	Manyetik akı yoğunluğu	1 Weber/metre ² = 1 Tesla	10^4 Gauss
μ_0	Boşluğun geçirgenliği	$4\pi \times 10^{-7}$ Henry/metre	1 Gauss/Oersted

Çizelge 2.3 EM büyüklükler ve birimleri.

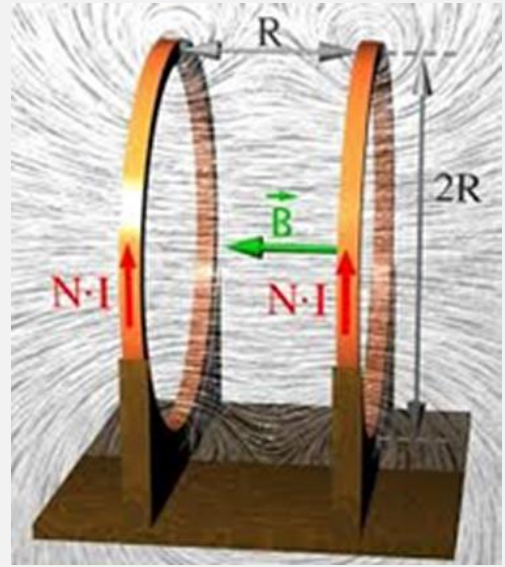
Sembol	Büyükük	Birim
E	Elektrik alan	Volt/m
H	Manyetik alan	Amper/m
J	Yüzeysel akım yoğunluğu	Amper/m ²
ρ	Hacimsel yük yoğunluğu	Coulomb/m ³
ϵ	Dielektrik katsayısı	Farad/m
σ	İletkenlik	Siemens/m
μ	Manyetik geçirgenlik	Henry/m

2.2. Manyetik Alanların Yapay Olarak Elde Edilmesi

Manyetik alanlar sabit mıknatıslar kullanılarak veya içinden elektrik akımı akan sarımlar aracılığıyla elde edilebilir. Sabit mıknatıslardan oluşan manyetik alanlarda sıcaklığın artması, manyetik akı yönünün düzgün olmaması nedeniyle sarımlardan geçen elektrik akımının oluşturduğu manyetik alanlar tercih edilmektedir.



Şekil 2.3 Selenoid (anonim,2017).



Şekil 2.4 Helmholtz halkaları (anonim,2017).

Elektromanyetik alanların biyolojik etkilerini araştırabilmek için kullanılan manyetik alan kaynağının doğru, kararlı ve tekrar edilebilen sonuçlar elde etmek için düzgün (uniform) elektromanyetik alan üretilebilmesi gereklidir. Belirli bir alan içerisinde düzgün elektromanyetik alan oluşturan, gerekli durumlarda oluşan elektromanyetik alanın şiddeti ve frekansı değiştirile bilinen selenoid sistemlerini örnek olarak verebiliriz (Şekil 2.3). Sistemde oluşan manyetik alan şiddeti (B),

$$B = \mu n I \quad (1.3)$$

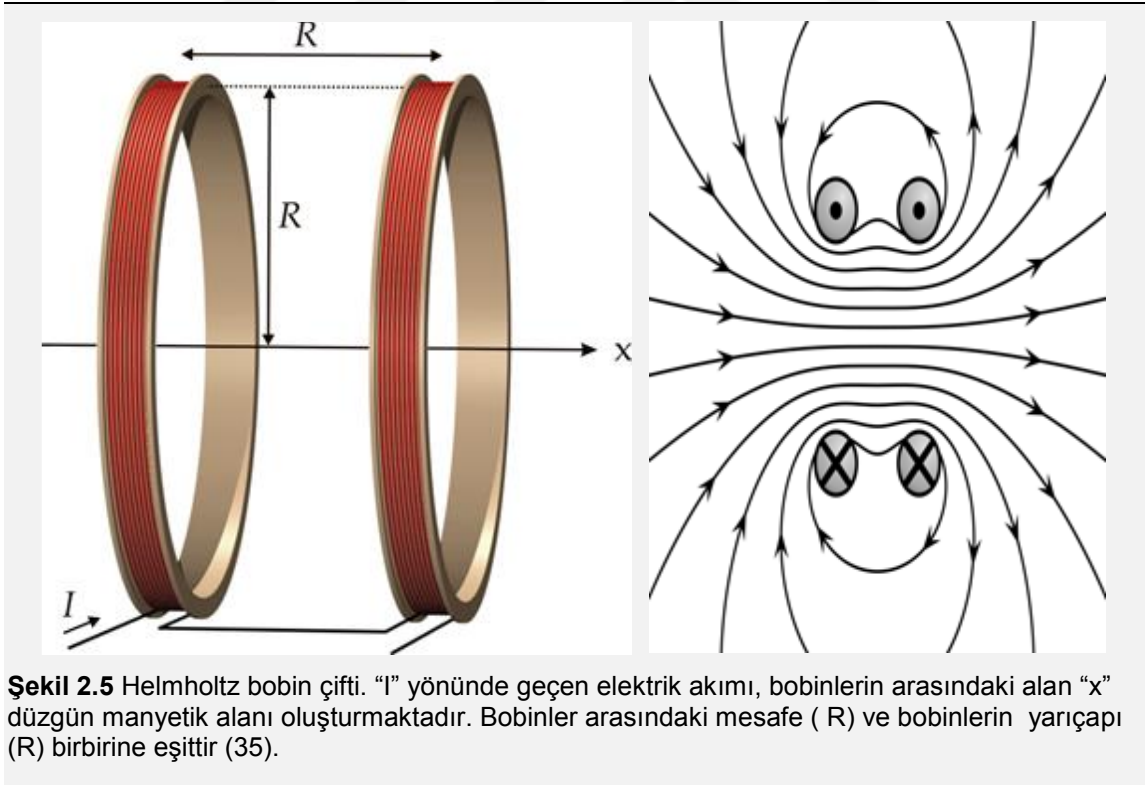
formülüyle hesaplanır. $\mu = k\mu_0$ ($\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$ T/amp.m), k: Rölatif geçirgenlik, n: Sarım sayısı

$$n = \frac{N}{L} \quad (1.4)$$

N; sarım sayısı, L; selenoidin uzunluğu (metre), I ise akımdır (Amper). SI birim sisteminde manyetik alan şiddetinin birimi Tesla (T) dır (32). Diğer bir manyetik alan kaynağı olarak da Helmholtz bobin çifti sistemi vardır. Helmholtz bobinlerinden oluşan manyetik alan kaynağı biyolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Şekil 2.4).

2.2.1. Helmholtz Bobin Çifti

Helmholtz bobin çifti iki adet özdeş dairesel bobinden oluşur. Bobinler birbirine paraleldir ve bobinlerin dairesel merkezleri de aynı eksen üzerindedir. Bobinlerin birbirlerine uzaklığı ise dairelerin yarıçapına eşittir (Şekil 2.5). İki bobinden de aynı miktarda akımın aynı yönde geçirilmesi ile bobinlerin arasında kalan alanda, daire merkezlerinden geçen eksen üzerinde silindirik bir bölgede düzgün bir manyetik alan oluşur (33,34).



İki bobin arasında oluşan manyetik alan “x” eksenine paralel ve alanın yönü geçen akımın yönüne göre pozitif veya negatiftir. Helmholtz bobin çiftinde oluşan manyetik akı yoğunluğu ise formül kullanılarak hesaplanır.

$$B = \left(\frac{4}{5}\right)^{\frac{2}{3}} \frac{\mu_0 n I}{R} \quad (1.5)$$

formülü ile hesaplanır. Formüldeki μ_0 : Boşluğun manyetik geçirgenliğini ($1,26 \times 10^{-6}$ T.m/A), B : Manyetik akı yoğunluğunu (T), n : Bobinin sarım sayısını, I : İletkenden geçen akım şiddetini (A), R : Bobinin yarıçapı (m) göstermektedir.

2.3. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

Dünya üzerindeki tüm canlılar yaşamları boyunca doğal elektromanyetik alanlara maruz kalmışlardır. Özellikle güneşten gelen elektromanyetik radyasyon dünyada yaşamı oluşturan tek enerji kaynağı olmuştur. Canlıların evriminde de rol oynayan elektromanyetik dalgalardan iyonizan etki gösteren elektromanyetik dalgalar mutasyon olasılığını arttırarak, genetik farklılaşmanın hızlanmasına yardımcı olmuştur. Canlılar özellikle görünür ışık ile yoğun bir etkileşim içindedirler (görsel algı, fotosentez gibi). Ayrıca bazı yılan türlerinde kızılötesi dalgalara duyarlı termoreseptörlerin olduğu, köpek balıklarının bazı türlerinin düşük şiddetli manyetik alanları algılayarak avlarının yerini tespit etmek için kullandıkları (prey sense), göçmen kuşların ise dünyanın manyetik alanını yön tayininde kullandığı bilinmektedir [35]. Gelişen teknoloji ile birlikte tüm canlıların yaşamları boyunca elektromanyetik alanlara maruz kalmaları bilimsel çalışmaları hızlandırmıştır. Yapılan birçok bilimsel çalışmada elektromanyetik alanların canlıların organ sistemlerini, hücreleri, hücre membranlarını hatta enzimleri üzerine etkilerinin olduğu gösterilmiştir (36).

İnsanlarda tedavi amaçlı kullanılan düşük frekanslı alternatif malan ağırlıkları $284,4 \pm 12,6$ g arasında değişen 35 adet sıçana 10 Hz frekansında, 1,8-3,8 mT şiddetinde dikdörtgen dalga formunda manyetik alan etkisine ve 35 adet sıçan 40 Hz frekansında 1,3-2,7 mT şiddetinde sinüzoidal dalga formunda manyetik alan etkisine günde 30 dakika 1,3,6,9 ve 14 gün bırakıldığında, dikdörtgen biçimli 10 Hz frekansında, 1,8-3,8 mT şiddetindeki manyetik alanın

endoplazmik retikulumun ve golgi cisimciğinin genişlemesine, β hücrelerinin histolojik kesitlerinde de değişikliklere sebep olduğu gözlemlenmiştir (37). Ayrıca golgi cisimciğinin ve endoplazmik retikulumun önemli derecede genişlemesi, küçük veziküller halinde insülinin proinsülin olarak depolanması ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür (38).

15 Hz frekansında, 1,6 mT şiddetinde haftada 6 gün, günde 8 saat 7 hafta boyunca sağlıklı ve diyabetik periferik nöropatili sıçanlar Helmholtz halkalarından oluşan manyetik alanın etkisine bırakıldığında kan glukoz değerlerinde ve ağırlıklarında anlamlı değişiklikler görülmemiştir. Fakat mekanik eşik kuvveti ve termal latans ölçülerde anlamlı değişiklikler gözlenmiştir (21).

Diğer bir çalışmada 10^{-3} ve 10^{-2} T şiddetindeki düzgün manyetik alan etkisine 10 gün boyunca günde 1 saat bırakılan sıçanlarda kan plazma glukoz seviyesinin belirgin derecede azaldığı ve insülin salınımının arttığı gözlenmiştir (39). 6 mT şiddetinde pulslu elektromanyetik alanın etkisine (PMA) günde 180 dakika 6 ay boyunca bırakılan sıçanlar da ise karaciğerin ağırlığının vücut kitle indeksine göre arttığı, kan plazma glukoz, serum kolesterol ve trigliserit seviyelerinin de düştüğü gözlenmiştir (40,41). Bulunan ve gözlenen bu sonuçlara benzer diğer sonuçlarda yapılan diğer bilimsel çalışmalarda gösterilmiştir [42-44].

Ağırlıkları 150-200 g arasında değişen sıçanlara intravenöz (i.v.) olarak 60 mg/kg STZ verilerek deneysel diyabet oluşturulan sıçanların vücut ağırlıkları 12 hafta sonra ölçüldüğünde sıçanların vücut ağırlığının 599 ± 13 g'dan 341 ± 9 g'a düştüğü, kan plazma glukoz değerinin 191 ± 15 mg/dl'den 468 ± 17 mg/dl'ye yükseldiği, serum kolesterol değerinin 66 ± 5 mg/dl' den 109 ± 10 mg/dl'ye yükseldiği, serum trigliserit değerinin de 62 ± 9 mg/dl'den 209 ± 32 mg/dl'e yükseldiği bulunmuştur (45). Diğer yapılan bilimsel çalışmalar bu değerleri desteklemektedir (39-44).

Gordon ve arkadaşları ise PEMA'nın etkisiyle oluşan sıcaklığın ateroskleroz tedavisinde kullanılabilecek yeni bir tedavi yönü olduğunu savunmuşlardır(148). Fakat mekanizma henüz açık değildir. Ayrıca PEMA terapide romatizmal ağrı ve hastalıklarda, fibromiyaljielerde, bel ve boyun fıtıklarında, burst, tendinitler, omuz, diz ayak bileği ağrılarında, nevrit ve

nevraljilerde, kronik ağrılar, stres, uykusuzluk, disoryantasyon, konsantrasyon bozukluğu, kronik yorgunluk, migren ve diğer baş ağrılarında başarılı bir şekilde de kullanılmaktadır (46-52).

Farklı şiddet, süre ve frekanslı manyetik alanlara maruz kalan deney hayvanlarında biyolojik etkilerin farklı olduğu gözlenmiştir. Uzun süreli 10 Hz frekansında, 8 mT şiddetinde ve 50 Hz frekansında 20-50 mT şiddetinde alternatif manyetik alan deney hayvanlarının serumlarında glukoz konsantrasyonunu azalttığı; 13,3 Hz frekansında, 2,7 mT şiddetinde alternatif manyetik alanın ise geçici olarak deney hayvanların serumlarında glukoz artışına ve pankreatik adacıklarının β hücrelerinden insulin salınımının baskılandığı bulunmuştur (39).

Klinikte düşük şiddetli ve düşük frekanslı manyetik alan uygulamalarının diyabetin geç ortaya çıkan komplikasyonların (diyabetik retinopati, diyabetik anjiyopati periferel nöropati gibi) tedavisinde kullanılmıştır (53). Manyetik alan tedavisi gören hastaların büyük çoğunluğunda intestinal motor aktivite şikayetleri, ağrının ortadan kalkması ve hastalığın laboratuvar markerlerinin normale döndüğü gözlenmiş ve düşük şiddetli, düşük frekanslı manyetik alan uygulamalarının uygulama süresi dikkate alınarak juvenil diyabette tedavi amaçlı kullanılabileceği belirtilmiştir (54-57).

2.4. Manyetik Alan Tedavisi

Magnetoterapi, manyetik alan etkileşimine dayanan girişimsel olmayan fiziksel bir tedavi metodudur. Tıpta tanı ve pek çok hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (57-61).

Kuantum fiziği göre manyetik alan; hem taşıyıcı ve hem de tedavi olarak işlev görmektedir (62). Manyetik alan tedavisinde, biyoelektrik dalgalar nöral dokuları stimüle ederek depolarizasyona yol açar. Geddes bunu "elektrotsuz elektriksel stimülasyon" olarak tanımlamıştır. Ancak uygulanan manyetik alan tedavisinde manyetik alan, pulsatif veya alternatif olmalıdır. Çünkü statik manyetik alan nöral dokuda depolarizasyona yol açmaz (58-60). Etki mekanizması olarak, Dr. Warnke ve arkadaşları, manyetik alanın, organizma, organ, doku, hücre hatta molekül ile rezonansa girdiğini ve pH dengelerini

etkilediğini iddia etmiş ve düşük frekanslı manyetik alanların hücre membranı etkilediğini göstermiştir. Warnke ve ark. düşük şiddetli pulsatif manyetik alanın ağrı üzerine etkilerini, sekonder kan damarlarının çapında aktif genişleme, terminal dokularda parsiyel oksijen basıncında artış ve kapiller kan akış hızında değişikliklerle açıklamıştır (58).

Literatürlerde manyetik alan tedavisi farklı mekanizmalar üzerinden açıklanmaya çalışılmakla beraber, klinik çalışmalarda pulsatif manyetik alanın başta lokomotor sistem olmak üzere antienflamatuar, antiödem ve analjezik pek çok hastalıkta tedavi edici etkileri gösterilmiştir. Ayrıca iyileşmeyi hızlandırıcı, spazm çözücü, vejetatif sinir sistemi, perfüzyon, hormonal ve enzimatik süreçleri düzenlediği, hücre zarlarında kalsiyum kanallarını aktive ettiği de savunulmuştur (58-65).

Ayrıca manyetik alan tedavisi ile ilgili literatürler değerlendirildiğinde; birçok yoldan etkili olan manyetik alanların lizozomların uyarılması, hormon sekresyonu, enzimatik aktivitelerin düzenlenmesi, DNA ve kollajen sentezinin artışı, kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi, reseptör modifikasyonu ve membran geçirgenliği, adenil siklaz, cAMP, protein kinaz gibi maddeler üzerinde düzenleyici etkisi de rapor edilmiştir (58,59,60,64).

Farklı manyetik alan tedavisi protokolleri uygulanan Osteoartritli hastalarda uygulanan manyetik alanın süresi, şiddeti ve frekansına göre farklı sonuçlar elde edilmiştir. En belirgin farklılıklar düşük frekanslı manyetik alan tedavisi alan hastalarda görülmüştür (66,67). 1966-1998 yılları arasında uygulanan manyetik alan tedavisi kemik iyileşmesi, osteoartrit, kas iskelet sisteminin enflamatuar hastalıkları, ağrı, ekstremitte ülseri ve spastisite gibi hastalıklarda etkileri bulunurken diğer hastalıkların tedavisinde çelişkili bulgular elde edilmiştir. Bu nedenle manyetik alan tedavisinde etkili şiddet, süre ve frekansın belirlenmesi yönünde bilimsel çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (67). Ludwig ve ark. Farklı hastalıklarda hangi frekans, şiddet ve sürenin veya hangi parametrenin daha etkili olduğunu araştırmıştır. Ludwig'e göre antienflamatuar etki için etkili olan frekans 1,2 Hz' iken analjezik etki için 10 Hz' olarak belirlemiştir (68).

Manyetik alan tedavisinin herhangi bir yan etkisi olmamasına rağmen gebeliğin ilk trimesterında, vücudunun herhangi bir yerinde metalik implant (kulak işitme cihazı, kalp pili vb) bulunan kişilerde sorunların oluşabileceği de bilimsel çalışmalarda belirtilmiştir (58,60).

Geniş bir uygulama alanı ve yan etkisi olmayan manyetik alan tedavisi kolay uygulanabilirliği bir avantajdır. Ancak etkin olarak tedavide kullanılabilmesi için yeterli sayıda etkin ve kanıt olabilecek çalışma yoktur. Bu nedenle manyetik alan tedavisinin uygulanması için etkin ve kanıt olabilecek bilimsel çalışmalara ihtiyaç vardır (58,59,64,66,67).

2.5. Diyabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) insülin eksikliği veya dokuların insüline karşı dirençli olması sonucu organların uzun süre hiperglisemiye maruz kalındığı metabolik otoimmün bir hastalıktır (69). Diyabette gelişen hiperglisemi, pankreatik beta hücrelerinin haraplanması sonucu salınan insülin hormonunun azlığı veya insülin reseptörlerinin yetersizliği sonucu meydana gelir (70). Hiperglisemi gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları gibi birçok organlarda hasarlara neden olmaktadır (71).

2.5.1. Tarihçe

Diyabet (“idrara geçen” ya da “sifon”) kelimesi ilk kez M.S. 81-138 yılları arasında yaşamış olan Aretaeus tarafından kullanılmıştır. Aretaeus diyabet ile ilgili vücudun eriyerek idrara geçtiğini ifade eden bir tanım ortaya koymuştur. 1000 yıllarında İbn-i Sina, diyabetiklerde ilk kez kangreni tanımlamıştır. 1674 yılında Thomas Willis diyabetik hastaların idrarlarının tatlı olduğunu söylemiş, 1777’de Pool ise diyabetik hastaların idrarlarındaki şeker varlığını kimyasal yöntemlerle kanıtlamıştır. İdrarın çok ve tadının tatlı olması nedeniyle hastalığa Diabetes Mellitus (Mellitus=Bal) adını vermiştir. 19. Yüzyıl sonlarında Opie, diyabet nedeni ile ölen insanlarda, adacıklarda beta hücrelerinin hasara uğradığını kanıtlamıştır. İnsülinin 1921 yılında keşfedilmesi, M.Ö. var olduğu bilinen ve henüz kesin tedavisi bulunmayan hastalığa farklı bir boyut kazandırmıştır (72).

2.5.2. Diabetes mellitus' un sınıflandırılması

Diabetes mellitus (DM) insülinin tamamen veya kısmi eksikliğine bağlı olarak gelişerek, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile ortaya çıkan ve toplumda gün geçtikçe artarak görülen otoimmün bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç diyabetin gelişiminde rol oynayarak karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasını etkilemektedir (73).

Diyabet açlık hiperglisemisi ile karakterize olmasına rağmen; klinik olarak belirgin olmayan evrelerde glikoz intoleransının olduğu dönemde teşhis edilebilir. Diyabet susama, çok idrara çıkma, görmede bulanıklık, kilo kaybı, çok yemek yeme gibi karakteristik olan semptomlar sergiler. Bu semptomların dışında stupor, koma ve ölüm ile sonuçlanabilen ketoasidoz ve nonketotik hiperozmolarite ile de teşhis edilebilir (74).

Diabetes mellitus' un tanımlanması ve sınıflandırılması ilk olarak 1979 yılında National Diabetes Data Group (NDDG) tarafından yapılmıştır [69]. American Diabetes Association (ADA) işbirliği ile 2003 yılında tekrar gözden geçirilmiş ve son halini almıştır (75). DM 4 grupta sınıflandırılmıştır.

2.5.3. Tip 1 Diabetes Mellitus (T1D)

Tip 1 diabetes mellitus insüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM) ya da juvenil diyabet olarak bilinir. Toplumda bireylerin yaklaşık %5-10'u tip 1 diyabetlidir. Tip 1 diyabetli bireylerde genellikle akut olarak poliüri, polidipsi ve hızlı kilo kaybı gibi semptomlar görülür. Tip 1 diyabetli bireylerde pankreas langerhans adacıklarının beta hücrelerinin haraplanması sonucu insülin yetersizliği mevcuttur. Bireyler yaşamlarını sürdürebilmek ve ketozu önlemek için insüline bağımlıdırlar. Bu hastalık çocuklarda ve genç erişkinlikte görülür. Tip 1 diyabetlilerin yaklaşık olarak %75 i 30 yaşının altındadır ve ömür boyu insülin tedavisi almak zorundadırlar (76).

Ayrıca Tip 1 diyabette β -hücre yıkımına yol açan otoimmün süreci gösteren anti-GAD, anti-adacık antikor ve anti-insülin antikorları da mevcuttur. Bu antikorlardan bir veya birden fazlasına sahip olan kişiler tip 1A (immun

aracılı tip 1 diyabet), bu antikora sahip olmayan kişiler ise tip1B (idiyopatik tip1 diyabet) olarak sınıflandırılmaktadır (77).

2.5.4. Tip 2 Diabetes Mellitus

Dünyada en sık rastlanılan diyabet tipidir. İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus (NIDDM) tip II ya da erişkin başlangıçlı diabet olarak bilinmektedir. Tüm diyabetlilerin yaklaşık %90'ı Tip 2 diyabetlidir (76). Genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıkan, yaş arttıkça görülme sıklığı artan, diyabet belirtilerinin hafif olduğu, bazen de hiç olmadığı, kronik komplikasyonların sık görüldüğü ve özellikle başlangıç dönemlerinde insüline ihtiyaç duyulmayan, diyet ve oral antidiyabetik ajanlarla kontrol altına alınabilen diyabet tipidir. İnsülin eksikliğinden çok obezite, dokularda insülinin kullanılamaması (insülin direnci) ve insülin sekresyon bozukluğu ile karakterizedir (75,78).

Tip 2 diyabetli hastalarda genellikle insülin yetmezliğinden ziyade göreceli olarak insülin fazlalığı ve insülin direnci mevcuttur. Tip 2 diyabet teşhisi konulduğunda ve sonrasında hastalarda glisemi kontrolü yapılması gerekse de hayatlarını devam ettirmek veya hayatta kalmak için insülin tedavisine gereksinim duyulmayabilir. Ayrıca Tip 2 diyabet hastalığının süresindeki artışla beta-hücre yetmezliği ile de karakterizedir (79).

Tip 2 diyabetle birlikte oluşan hiperglisemi kademeli olarak ortaya çıkması ve yıllar boyunca klinik olarak bulgu vermemesi hastalığın teşhisini zorlaştırmıştır. Geç teşhis edilmesi mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların gelişim riskini de arttırmaktadır. İnsülin direncinden dolayı kişilerde insülin seviyesi ve kan şekeri seviyeleri normal sınırlarda tutulamamaktadır ve bu hastalar göreceli olarak insülinopeniktirler. İnsülin direnci, kan şekeri ve kilo kaybı farmakolojik ajanlar yardımıyla düzeltilebilir (74).

2.5.5. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gebelik sırasında ilk kez ortaya çıkan DM türü olarak bilinir. Gebelikte karbonhidrat metabolizmasına etki eden birçok faktör tarafından ortaya çıktığı düşünülmektedir. Tüm gebeliklerin yaklaşık %5-6'sında görülür (75,78).

2.5.6. Diğer grup

Diyabetle sonuçlanan pek çok klinik durumu kapsamaktadır. İnsülin etki yollarındaki genetik sorunlar, enzimsel pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, kimyasal etkenlerin yarattığı β hücre hasarları ve infeksiyonlar gibi durumlardan kaynaklanmaktadır (75).

2.6. Diyabetik Nöropati

Diyabetin uzun sürede ortaya çıkan ve en sık görülen komplikasyonlarından biri olan diyabetik nöropati; çeşitli klinik belirtilerle ortaya çıkan ve sinir sisteminin farklı bölümlerini etkileyen bir grup hastalıdır. Nöropatiler, periferik sinir sisteminin her iki temel bölümünü etkileyebilen sinir liflerinin kaybı ile karakterizedir. Kabul edilen en yaygın tanıma göre, diyabetli bireylerde periferik sinir disfonksiyon semptomlarının ve bulgularının varlığı olarak tanımlanır (80).

DM prevalansı %5 ile %60 arasında farklılık göstermektedir. Bu farklar, diyabetik nöropati teşhisinin zorluklarına ve vakaların yaşlarına göre oluşmaktadır (81). En sık görülen diyabetik nöropati distal duysal ve otonomik yani polinöropatidir. Mononöropatilerden en sık görüleni karpal tünel sendromudur (82). 20 yıldan daha uzun süreli diyabetlilerde veya diyabet kontrolü yapılmayan diyabetlilerde diyabetik nöropati riski iki kat daha fazladır (83).

Diyabetik nöropati sensorimotor nöropati ve otonomik nöropati olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.4) (80).

2.7. Diyabetik Polinöropati

Diyabetik periferik polinöropati başlangıçta distal alt ekstremiteleri etkileyen primer olarak simetrik bir duysal polinöropatidir. Hastalığın ilerlemesi ile birlikte duyu kaybı proksimale ilerler ve ellerin tutulumu gözlenir. Böylece 'eldiven-çorap' tarzı duyu kaybı oluşmuş olur. Motor defisit ise daha ciddi vakalarda gelişmektedir. Diyabetik polinöropatinin en erken belirtileri hem büyük hem de küçük myelinize ve myelinize olmayan sinir liflerinin bütünlüğünün

kademeli olarak kaybını yansıtmaktadır. Büyük sinir liflerinin kaybı ile vibrasyon duyusunda kayıp ve propriosepsiyon duyusunda değişiklik, küçük sinir liflerinin kaybı ile de ağrı, ısı ve hafif dokunmada bozulmalar olmaktadır.

Çizelge 2.4 Diyabetik nöropati sınıflandırması (80,84,85)

<p>Sensoriomotor Nöropati</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Distal Simetrik Polinöropati • Fokal Nöropati • Diyabetik mononöropati (Kranial, torakal ve periferik sinirler) • Mononöropati multipleks • Diyabetik amyotrofi 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensoriomotor nöropati de dokunma hissinde azalma ve ağrı ortaya çıkmaktadır. [80,84,85] • Tip 2 diyabetli bireylerin 60 yaş ve üzeri olanların %50'sinden fazlasında periferik nöropati görülmektedir. Literatürdeki veriler periferik nöropatinin yaşlılar arasında sık olduğunu ve düşme riskini arttırdığını desteklemektedir. Kas zayıflıkları, denge problemleri, uyuşukluk, gece düşmeleri gibi duyuşsal semptomlar Sensoriomotor nöropatinin semptomları arasında yer almaktadır. [80] • Distal simetrik polinöropati 25 yıl ve daha uzun süreli diyabet hastaların yaklaşık %40'ını etkileyen diyabetik nöropati en sık görülen formudur. (80)
<p>Otonomik Nöropati</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hipoglisemik Farkındasızlık • Anormal pupiller fonksiyon • Kardiyovasküler otonomik nöropati • Vasomotor nöropati • Sodomotor nöropati • Gastrointestinal otonomik nöropati • Gastrik atoni • Diyabetik daire veya konstipasyon • Fekal inkontinas • Genitoüriner otonomik nöropati • Mesane disfonksiyonu • Seksüel disfonksiyon 	<ul style="list-style-type: none"> • Otonomik nöropati, hem Tip 1 hem de Tip2 diyabetli hastalarda gelişebilir. Otonomik nöropati diyabet herhangi bir aşamasında ortaya çıkabilir ancak genelde kötü glisemik kontrol ile 20 yıl veya daha fazla hastalık geçirmiş bireylerde görülmektedir. [80,85]

Diyabetin erken evrelerinde ayak bileği refleksinin azalması veya kaybı gözlenirken diyabetin ilerleyen evrelerinde daha büyük refleks kayıpları ve motor kuvvetsizlik gözlenmektedir. Gözlenen semptomlar iki tiptir: Negatif semptomlar, nöronal hipofonksiyon ile gelişir, Taktil ve diğer mekanoreseptör duyularda kayıp, duyu ataksi, termal ve ağrı duyuları kaybı, erkeklerde empotans, gastroparezi, sudomotor kayıp gibi otonomik bozukluklar ve atrofidir. Pozitif semptomlar ise nöronal hiperfonksiyon nedeniyle oluşur. Karıncalanma, sıkıca bastırılma duygusu, parmak ve ayakların altında pamuk varmış hissi veya ağrıdır (86).

Periferik nöropati tanısı temelde fizik muayene ve sinir ileti çalışmalarıyla konulmaktadır. Elektronöromiyografi (ENMG) ve sinir ileti hızı (NCV) çalışmaları daha çok fokal nöropati, radikülopati ve tuzak nöropatilerin ayırıcı tanılarında kullanılmaktadır (87,88). Ayrıca diyabetik hastaların yaklaşık %10'unda vitamin dengesizliği, hipotiroidizm ve malnütrisyon gibi başka nedenlerle açıklanabilen nöropati tipleri de mevcuttur (89-91). Kronik ağırlı diyabetik nöropati uzun dönemli diyabetin bir komplikasyonudur. Diyabetle birlikte gelişen nöropati, hastalarda sinir iletim hızının azalmasına, alt ekstremitelerde ampütasyonlarına, hospitalizasyonlara ve nöropatik ayak ülserlerinin gelişimine sebep olmaktadır (91,92).

2.8. Deneysel Diyabet

Diyabetin etiyopatogenezinin ve uzun süreli komplikasyonlarının araştırılmasında diyabetik hayvan modelleri kullanılmaktadır. Deneysel diyabet modelleri, diyet, egzersiz, ilaçlar, toksinler ve enfekte edici ajanlar gibi çevresel faktörlerin incelenmesine izin verir. Hayvan modelleri kullanılarak diyabet etiyolojisi ve diyabetin oluşturduğu komplikasyonların mekanizması kolaylıkla araştırılabilmektedir. İnsülin salınımının azalması, insülin direncinin gelişmesi veya insülinle alakalı her iki bozukluk hepatic glukoneogenezin ve hepatic ketogenezin artmasına sebep olur. Oluşan hiperglisemi sonucu hücrelerin glukoz kullanımını azalır, hepatic glikojenolizis artar, hiperketonemi ve osmotik diüresis oluşur, H₂O, K⁺, Na⁺ ve Cl⁻ 'un aşırı derecede kaybı dehidratasyon meydana gelir. Deneysel oluşturulan diyabet modellerinde de diyabetli

hastalarda görülen bu semptomlar görülmektedir. Ancak, oluşturulan diyabet modellerinin hiçbiri insanlarda görülen diyabetin oluşturduğu semptomlarla birebir örtüşmez (93-95).

2.8.1. Deneysel Diyabet Modelleri

Biyomedikal çalışmalarda en sık kullanılan deneysel diyabet modelleri aşağıdaki gibidir.

1) Kimyasal Ajanla Oluşturulan Diyabet Modeli: Streptozotosin (STZ) veya Alloksan (ALL) denilen kimyasal ajan ile oluşturulur. Bu kimyasal ajanlar deney hayvanlarına intraperitoneal (i.p) veya intravenöz (i.v) olarak enjekte edilerek insanlarda görülen Tip 1'e benzer deneysel diyabet modelidir.

2) Spontan Diyabet (Genetik) Modeli: BB (BioBreed), Obez fare, Zucker türü sıçanlar gibi mutant hayvanlar deneysel diyabet modelidir.

3) Viral Diyabet Modeli: Pankreası tahrip eden virüslerle (Encephalomyocarditis virüsü, Rubellakızamıkçık, Reovirüs, Coxsackie virüs) yapılan deneysel diyabet modelidir.

4) Cerrahi diyabet: Pankreasın cerrahi yöntemle çıkarılarak oluşturulan deneysel diyabet modelidir. (93-95).

2.9. Diyabetik Nöropatinin Değerlendirilmesi

Periferik diyabetik nöropatide, küçük ve büyük çaplı duyu liflerinde kayıp nedeniyle duyu problemler görülür. Küçük çaplı lif kaybı ağrı ve sıcaklık duyusunda azalmaya neden olarak ayak ülserlerine yol açabilir. Büyük çaplı lif kaybı ise, vibrasyon duyusu ve derin duyuda azalmaya ve sinir iletim hızında yavaşlamaya sebep olur. Plantar testlerle ile yapılan geri çekme refleks ölçümleri nöropatide oluşan küçük ve büyük çaplı duyu liflerindeki kayıp, bozulmayı, dejenerasyonu ve tedavi sonrası iyileşme veya rejenerasyon süreçlerini değerlendirmek için kullanılan oldukça etkili ve anlamlı yöntemdir. İki farklı plantar test kullanılır.

1. Termal Plantar Test

2. Mekanik Plantar Test

Her iki plantar testte sıçanların arka pençelerine bir hasar oluşturmadan ağrı hissi oluşturan mekanik ve termal bir uyarı verilir ve verilen mekanik ve termal uyarı sonrasında hayvanın (refleks yanıtı) pençesini uyarandan geri



Şekil 2.6 Termal Plantar Test Sistemi

çekme süresi ölçülür.

2.9.1. Termal Plantar Test

Termal plantar test ölçümü, Hargreaves metodu kullanılarak termal latans ölçümleri yapılır. Hargreaves metodu, sıçanların arka ayak pençelerinin plantar yüzeylerinin ortasına aşağıdan radyan ısı (kızılötesi ışık kaynağı), odaklanmış ışık demeti şeklinde uygulanarak yapılır. Termal latans ölçümleri plantar test unit (MAY PWAM0903) cihazı ile yapılır. Deneylere başlamadan önce sıçanların ortama uyum sağlamaları yaklaşık 10 dakika, sıcaklığı 30 °C'ye ayarlanmış ve sabitlenmiş pürüzsüz cam zemin üzerine plastik bölmeli odacıklara yerleştirilir (15x15x15 cm). Cam tabakanın altında bulunan hareketli radyan ısı kaynağı (8 V - 50 W halojen ampul) probu sıçanın arka pençesinin plantar bölgesinin orta kısmına termal olarak (bir kızılötesi ışık kaynağı) ile uyarılır. Sıçan ağrıyı hissedip ayağını çektiğinde, bir fotosel yansıyan ışık

demetindeki kesintiye dedekte ederek I.R. jeneratörü otomatik olarak kapar ve zaman sayacının durdurarak gecikme zamanı (Latans) belirlenir. Maksimum uyarım süresi (cut off time) sıçanın pençesinde bir hasara yol açmaması için ayarlanır (25 s). Ardışık ölçümler en az 2 dakika aralıklarla alınır. Alınan verilerin ortalama \pm standart hataları hesaplanır (Şekil 2.6).

2.9.2. Mekanik Plantar Test (Aesthesiometer)

Mekanik plantar test sıçanın arka pençesine yapılacak dokunmaya hayvanın duyarlılığının belirlenmesi için yapılır. Mekanik plantar testler Dinamik



Şekil 2.7 Mekanik Plantar Test Sistemi.

Aesthesiometer kullanılarak yapılır (Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 UGO BASILE-ITALY). Dynamic plantar aesthesiometer, Von Frey filamentlerinin çalışma prensiplerine dayanarak dokunmaya bağlı hassasiyet ölçümü yapılır. Sıçanlar gözenekli temiz metal bir zemin üzerinde plastik odacıklara yerleştirilir. Daha sonra paslanmaz çelikten 0,5 mm kalınlığındaki filamentli uyarıcı proba sıçanın arka pençenin plantar yüzüne gelecek şekilde kuvvet uygulaması yapılır. Sıçan pençesini çektiğinde, mekanik uyarım otomatik olarak durur ve kuvvet kaydedilir(Mekanik Eşik). Bu geri çekme yanıtları en az 2 dakikalık aralıklarla ve 3 defa tekrarlanır. Sıçanlar arka pençelerinin tabanında bir hasara yol açmaması için maksimum kuvvet olarak belirlenir (cut off time; 50 gr). Alınan verilerin ortalama \pm standart hataları hesaplanır (Şekil 2.7).

2.10. Diyabet ve Sitokinler

Sitokinler, uyarılmış lenfositler, monositler, makrofajlar ve vücuttaki diğer hücreler tarafından salgılanabilen, glikoprotein yapıdaki maddelerdir. Molekül ağırlığı 8-40.000 Da (dalton) arasında değişir. Hücreler arası etkileşimlerde mesaj iletici olarak görev yaparlar (96). Ayrıca hücre çoğalması, büyümesi, aktive edilmesi, iltihap, immünite ve tamir gibi durumlarda düzenleyici etkileri de vardır (97).

Hücre sitokini salgılayan hücrenin kendisi (otokrin etki) veya komşu hücre olabilir (parakrin etki) veya diğer gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (endokrin etki). Monositler/makrofajlar tarafından salınan sitokinlere “monokin”, lenfositler tarafından salınan sitokinlere “lenfokin”, lenfokinlere etki edenlere “interlökin” denilmektedir (98).

Diyabete bağlı dejeneratif değişikliklerin gelişmesinde, konak savunma sistemi hücreleri tarafından mikroorganizmalar ve diğer antijenlere karşı üretilen proenflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinleri önemlidir. Çünkü sitokinler diyabete bağlı nörolojik ve damarsal problemlerin gelişmesinde rol oynayan önemli immun düzenleyicilerdir. Enflamatuvar sitokinlerinin mekanizmaları tip 1 ve tip 2 diyabet gelişiminde anahtar rol oynadıkları belirtilmiştir (99-101).

İnterlökin-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-12 ve IL-18 gibi sitokinlerin serum konsantrasyonlarının diyabetik bireylerde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek düzeylerde bulunduğu ve nöropati, retinopati, nefropati gibi problemlerin oluşmasında etkin oldukları saptanmıştır (102-105).

Diyabetle birlikte ortaya çıkan hiperglisemi sistemik inflamasyonu tetikler ve bu süreçte proinflamatuvar sitokinlerden interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) kilit rol oynar. IL-6 aracılı reaksiyonlar inflamatuvar yanıtın kronikleşmesinde görev aldığı gibi monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) sekresyonunu stimüle ederek mononükleer hücre infiltrasyonuna sağlar (106). Ayrıca IL-6'nın hepatositlerde ve adipoz dokuda insülin direnci açısından provokatör etkisi ortaya konulmuştur. TNF- α , IL-6 seviyesi arttırması da ayrı bir önem taşımaktadır (107,108). Yapılan bilimsel çalışmalarda diyabetiklerde

proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-6 ve IL-8'in seviyeleri arttığı gözlenmiştir (109-112). Diğer bir çalışmada da insülin direncinin oluşumunda TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin rol oynayabileceği rapor edilmiştir (112-114).

Eğer diyabet tedavi ile kontrol altına alınırsa serum HbA1c, CRP, IL-6 seviyeleri azalmıştır (115). Diyabetli sıçanlara uygulanan IL-4 gen terapisinin Tip 1 diyabet olgusunun oluşumuna karşı koruma sağlandığı rapor edilmiştir (116). Ancak, farklı dokularda yapılan araştırmalarda çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Mezenşimal hücrelerden salınan IL-6 miktarının yüksek glikoz konsantrasyonunda düştüğü (117) ve İnterlökin-6'nın insülin sinyalini bozduğu ve damar endotelinde NO üretimini arttırdığı belirtilmiştir (118).

2.10.1. İnterlökn-2 (IL-2)

T hücresi büyüme faktörü de denilen (TCGF) interlökin-2, T lenfositlerinin hücre siklusunun G1 fazından S fazına ilerlemesinden sorumlu olan sitokindir. IL-2, CD4⁺T hücreleri tarafından üretilir daha az olarak da CD8⁺T hücreleri tarafından üretilir. IL-2, kendisini üreten hücrelere etki edip kendi oluşumunu sağlar, bu onun otokrin büyüme faktörü işlevini gösterir. Ayrıca parakrin büyüme faktörü olarak da etkisi mevcuttur IL-2 insanların 4. kromozomunda bulunan tek genle kodlanan 14-17 kDa'luk glikoproteindir. IL-2'nin temel etkisi lenfositler üzerinedir (119-121).

Tüm bağışıklık sistemini pozitif yönde etkiler. Antijen uyarımı ile işlevsel IL-2 reseptörlerinin yanıtı artar. Antijen sunumunda T lenfositleri tarafından salgılanan IL-2, antijene özel hücrelerin çoğalmasından sorumludur. Diğer bağışıklık sistemi hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını da artırır (122,123).

2.10.2. İnterlökn-6 (IL-6)

İnterlökin-6 (IL-6) yaklaşık 26 kDa'luk sitokin olup, mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreler ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentez edilirler. IL-6'nın reseptörü 60 kDa'luk bağlayıcı bir protein ve 130 kDa'luk sinyal ileten alt birimden oluşur. (120,124). IL-1 ve TNF- α 'nın etkisi ile salgılanır ve bu sitokinlerle sinerjistik etkilere sahiptir. IL-6'nın en

iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olup, akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur (120).

IL-6, B lenfositlerinin immunglobulin salınımı için bir kofaktör olarak rol oynar. Yani B lenfositlerinin ayrışım sıralamasının geç dönemlerinde B lenfositleri için büyüme faktörü olarak rol oynar. Benzer şekilde malign plazma hücreleri için de (plasmositoma ya da myelom) büyüme hücresi rolü oynar ve kendi kendine büyüyen plazmasitom hücreleri otokrin büyüme faktörü olarak IL-6'yı salgılar. Ayrıca yapılan in vitro çalışmalarda, IL-6'nın T hücreleri ve timositlerin ko-stimulatörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir. IL-6 diğer sitokinlerle birlikte kemik iliği hemopoetik ana hücreleri için erken dönemde büyüme ko-faktörü olarak da etki gösterir (125,126).

Tuttle ve ark. (2004) tip 2 DM kadın kardiyovasküler hastalarda, sağlıklı bireylere göre anlamlı şekilde IL-6 seviyelerinin arttığını gözlemlemişler ve tip 2 DM kadın kardiyovasküler hastalarda IL-6 seviyesindeki artışı, diyabetogenezin bir yansıması olabileceğini ve hatta bu durumun ateroskleroz için ek bir risk faktörü olacağını bildirmişlerdir (127).

2.10.3. Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)

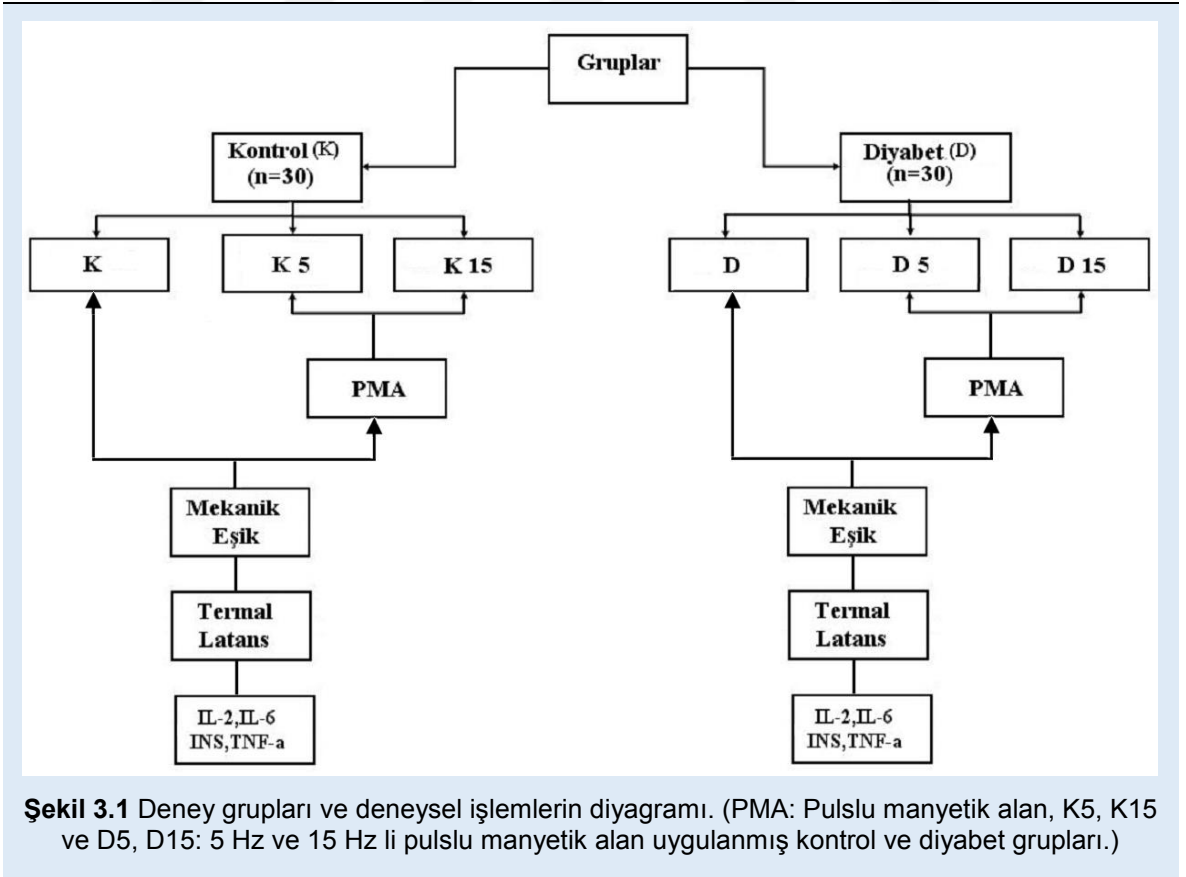
Ev sahibi hücrelerin gram (-) bakterilere karşı ve diğer enfeksiyöz ajanlara karşı gelişen akut inflamatuvar yanıtın esas mediatörüdür. Diğer enfeksiyöz organizmalara karşı yanıtta da rol oynar. TNF- α nin hücresel kaynağı lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. Akut inflamasyonda önemli bir aracıdır. Endotel hücrelerinin adezyon moleküllerini üretmek üzere uyararak ve sitokinler için kemotaktik olan kemokinleri üreterek enfeksiyon bölgelerine nötrofil ve makrofajların yapışmasına aracılık eder. TNF- α , aynı zamanda, ateş oluşumu için hipotalamusa etki eder ve akut faz protein üretimini kolaylaştırır. İki çeşit TNF vardır; Aktif makrofajlardan salınan TNF- α (Kaşektin) ve Aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin) dir (98,119,123,124).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylere başlamadan önce Çukurova Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (DETAUM) Etik kurul raporu alındı. DETAUM'dan tarafından üretilen ve ağırlıkları 240-300 g arasında değişen Albino Wistar türü 60 adet sıçan kullanıldı.

3.1. Sıçanların Temin Edilmesi

Çukurova Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (DETAUM)'dan alınan sıçanlar Biyofizik Anabilim Dalında, sıcaklığı 22-24 °C ve rölatif nemi %40-60 olan laboratuvarda her kafeste 5 veya 6 sıçan olacak biçimde yerleştirildi. Deney süresi boyunca kafeslerde bulunan sıçanlara ad libitumlu pelet yem ve içme suyu verildi. Laboratuvar, sirkadiyen ritmine uygun olarak 12/12 saat gece-gündüz olacak şekilde ayarlandı. Ayrıca laboratuvar klima ve aspiratör sistemi ile havalandırıldı.



3.2. Deney Grupları

Çukurova Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (DETAUM)'dan alınan sıçanlar ortama adaptasyon döneminden sonra kontrol (n=30) ve diyabetik (n=30) gruplar olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Diyabetik grupta bulunan sıçanlara geri dönüşümsüz deneysel diyabet oluşturmak için serum fizyolojik içerisinde çözünmüş tek doz 45 mg/kg streptozotosin (STZ) intravenöz (IV) olarak kuyruk venlerinden verildi. Kontrol grubunda bulunan sıçanlara ise kuyruk venlerinden 45 mg/kg serum fizyolojik (SF) enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası sıçanlar sıcaklığı 22-25 °C, rölatif nemi %40-60 olan laboratuvardaki kafeslere yerleştirildi. STZ enjeksiyondan 48 saat sonra sıçanların kuyruklarından alınan kan örneklerinden kan plazma glukoz seviyeleri ölçüldü. Kan plazma glukoz değerleri 350 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar diyabetik sıçan olarak kabul edildi.

Sıçanlar önce 10 ar sıçandan oluşan üç kontrol (K) ve üç diyabetik (D) olmak üzere altı gruba ayrıldı. Bir kontrol ve bir diyabetik grubuna 5 Hz li, diğer kontrol ve diyabet grubuna 15 Hz li pulslu manyetik alan (PMA) uygulandı. Kontrol grupları K, K5, K15 ve diyabet grupları D, D5, D15 grupları olarak adlandırıldı (Şekil 3.1).

Pulslu manyetik alan grubunda bulunan sıçanlar, her gün günde 1 saat 5 Hz veya 15 Hz frekansında 1,5 mT şiddetinde manyetik alan etkisine 8 hafta boyunca bırakıldılar. Ayrıca haftada iki defa tüm gruplarda bulunan sıçanların mekanik eşik ve termal latans ölçümleri kayıtları.

Deney protokolüne göre 8 hafta sonunda sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile öldürüldükten sonra sıçanların kalplerinden kanları alındı. Alınan bu kanlardan IL-2, IL-6, insulin ve TNF-alfa ölçümü için -80 °C saklandı.

3.3. Serum Fizyolojik ve Streptozotosin İnjesiyonu

Sıçanlara serum fizyolojik (SF) ve streptozotosin (STZ) kuyruk veninden enjekte edildi. STZ injesiyonundan 48 saat sonra idrar striplerinde glukoz pozitif değerleri gözlemlendi. Plazma kan glukoz değerleri 350 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlar diyabetli olarak kabul edildi. Sonra kontrol ve diyabetli sıçanlar 5 Hz

veya 15 Hz frekansında 1,5 mT şiddetinde manyetik alana 8 hafta boyunca her gün aynı saatlerde (09:00-13:00 saatleri arasında) günde 1 saat pulslu manyetik alan etkisine bırakıldılar. Sıçanlar sıcaklığı 22-24 °C, rölatif nem oranı %40-60 olan laboratuvarında deney süresi boyunca yaşatıldı.



Şekil 3.2 Kuyruk veninden serum fizyolojik (SF) veya streptozotosin (STZ) injeksiyonu.

3.4. Diyabet Testi

Kuyruk veninden streptozotosin enjekte edilen sıçanların idrarları, enjeksiyondan 48 saat sonra, diyabet olgusunun gelişip gelişmediği glukoz idrar stripleriyle kontrol edildi (Glucose, Roche) Glukoz pozitif olan sıçanlarda, kan glukoz ölçümleri yapıldı ve kan glukoz değeri 350 mg/dl (16,7 mmol/L) ve üstü olan sıçanlarda diyabet olgusunun geliştiği kabul edildi.



Şekil 3.3 Deney hayvanları sıcaklık ve nemi kontrol edilen koşullarda ad libidum olarak palet yemle beslendiler ve çeşme suyu içtiler.

3.5. Sıçanların Bakımı

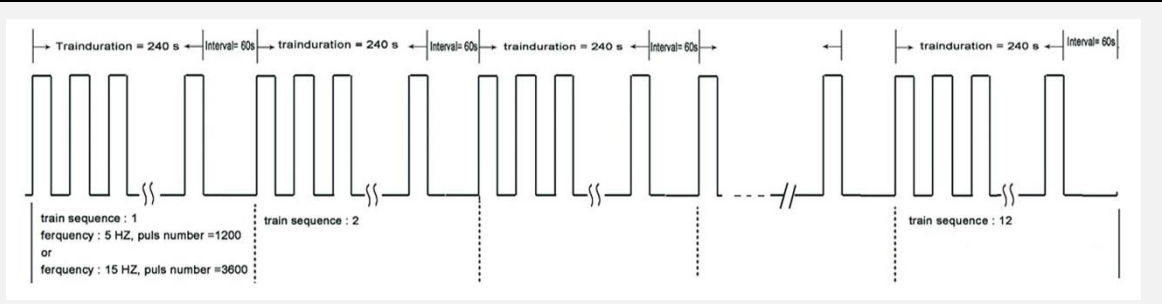
Deney süresi boyunca (8 hafta) sıçanların bulunduğu kafesler her gün temizlendi. Sıçanların bulunduğu laboratuvarın sıcaklığının 22-24 °C olmasına, sirkadiyen ritme uygun olarak laboratuvarın aydınlatılmasına, sıçanların ad libitum olarak pelet yem ile beslenmesine ve çeşme suyu verilmesine dikkat edildi. Ayrıca sıçanların sağlıklı olup olmadıkları, saldırgan tavırları kontrol edildi. Gelişen durumlara göre sıçanlar ayrı kafeslere yerleştirildi.

3.6. Pulsu Manyetik Alan Sistemi

Pulsu manyetik alan (PMA) uygulama sisteminde, düzgün manyetik alan oluşturabilmek için modifiye Helmholtz bobinleri kullanıldı (Şekil 3.4). Aralarında 228 mm uzaklık bulunan, 60 cm çapındaki çift katlı Helmholtz bobinleri, boyutları 100x100x50 cm olan Faraday kafesine yerleştirildi ve manyetik alanın düzgün ve yeryüzüne dik olduğu bobinler arasındaki orta bölgeye 30x30x15 cm boyutlarında pleksiglas bir kutu içine sıçanlar yerleştirildi. Daha sonra, bobinler, dikdörtgen puls üreten frekansı ve şiddeti ayarlanabilir bir güç kaynağına bağlandı (Bobinler, 1,5 mT şiddetinde, 5 Hz ve 15 Hz frekansında pulslu manyetik alan oluşturacak şekilde tasarlandı) (Şekil 3.5.)



Şekil 3.4 Manyetik alan uygulama sistemi.(21)



Şekil 3.5 Pulsu manyetik alanın biçim ve süreleri.

3.7. Pulsu Manyetik Alan Uygulanması

Pulsu manyetik alan (PMA) grubunda bulunan sıçanlar her gün aynı saatlerde, (09:00-13:00) günde 1 saat Helmtoltz bobinleri arasında oluşan



Şekil 3.6 Pulsu Manyetik alan sabit ve düzgün manyetik alanın oluşturulduğu üç bobinli bir sistem aracılığı ile uygulandı. Dışardan gelecek manyetik alanlar Faraday kafesi ile engellendi.

düzgün manyetik alan içine yerleştirildiler. PMA uygulanacak sıçanlar 3 mm kalınlığında şeffaf pleksiglattan yapılmış ve her biri 5-6 adet sıçan alabilen özel kafeslere yerleştirilen sıçanlar, sekiz hafta boyunca 5 Hz ve 15 Hz frekanslı 1,5 mT şiddetinde pulsu manyetik alan etkisine bırakıldılar (Şekil 3.6).

3.8. Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi

Sekiz hafta boyunca haftada bir kez sıçanların ağırlıkları dijital terazi ile ölçüldü (Şekil 3.7). Sekiz hafta boyunca sıçanların kilo değişimleri kayıtlandı. Ortalama ve standart hataları hesaplandı. K ve D grubunda bulunan sıçanların ağırlıkları K5, K15 ve D5, D15 grubundaki sıçanların ağırlıkları ile karşılaştırıldı.



Şekil 3.7 Sıçanların ağırlıklarının ölçülmesi.

3.9. Sıçanların Kan Plazma Glukoz Seviyelerinin Ölçülmesi

Sekiz hafta boyunca haftada bir kez tüm gruplarda bulunan sıçanların kuyruklarından alınan kan örneklerinden kan glukoz seviyeleri ölçüldü (plusmed). Sekiz haftanın sonunda K ve D grubunda bulunan sıçanların kan glukoz seviyeleri K5, K15 ve D5, D15 grubundaki sıçanların kan glukoz seviyeleri ile karşılaştırıldı (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Kan plazma glukoz seviyesinin ölçülmesi.

3.10. Geri-Çekme Refleksinin Ölçülmesi

Geri çekme refleksinin ölçülmesi plantar testlerle yapılır. Bu testler oluşan patojen etki sonrası yapı bozulması veya dejenerasyon, iyileşme veya rejenerasyon süreçlerini değerlendirmek için kullanılır. İki farklı plantar test kullanıldı.

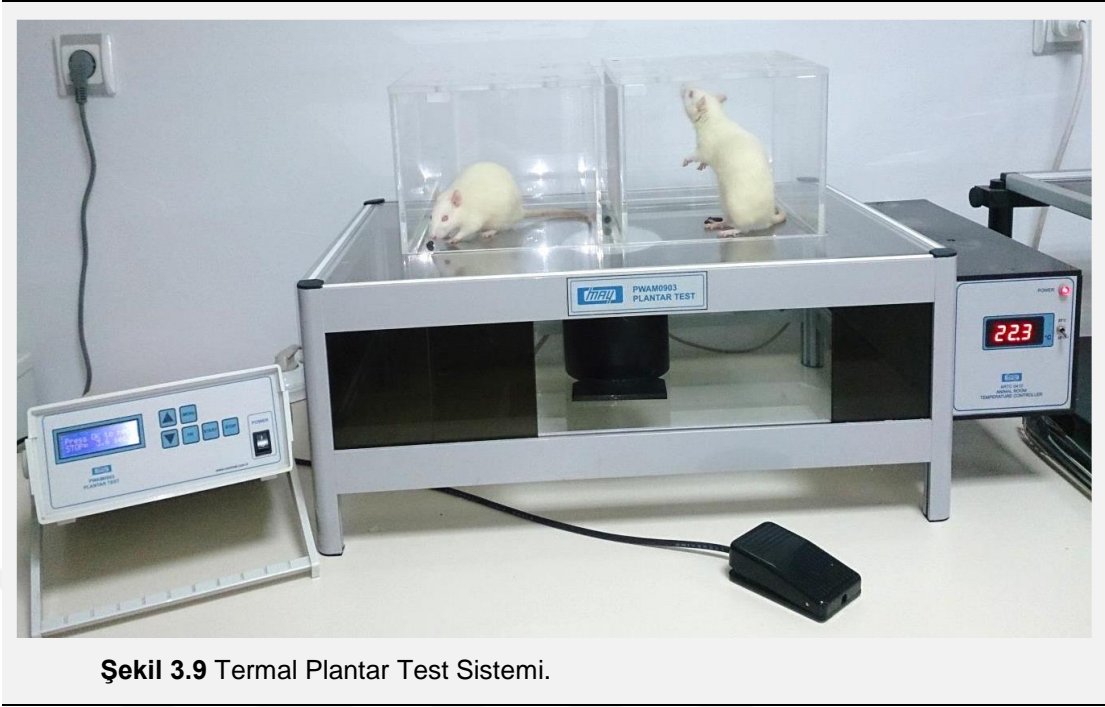
- 1- Termal Plantar Test
- 2- Mekanik Plantar Test

Her iki plantar testte sıçanların arka pençelerine bir hasar oluşturmadan ağrı hissi oluşturan mekanik ve termal bir uyarı verilir ve verilen mekanik ve termal uyarı sonrasında hayvanın (refleks yanıt) pençesini uyarandan geri çekme süresi ölçülür.

3.10.1. Termal Plantar Test

Hargreaves metodu kullanılarak termal latans ölçümleri yapılır. Hargreaves metodu, sıçanların arka ayak pençelerinin plantar yüzeylerinin ortasına aşağıdan radyan ısı, odaklanmış ışık demeti şeklinde uygulanarak yapılır. Termal latans ölçümleri, "plantar test unit MAY PWAM0903 cihazı" ile yapıldı. Deneylere başlamadan önce ortama uyum sağlamaları için sıçanlar yaklaşık 10 dakika, sıcaklığı 30 °C'ye ayarlanmış ve sabitlenmiş pürüzsüz cam zemin üzerine plastik bölmeli odacıklarda (10x20x24 cm) bekletildi.

Cam tabakanın altında bulunan hareketli radyan ısı kaynağı (8 V- 50 W halojen ampul) probu ile sıçanın arka pençesinin plantar bölgesinin orta kısmı termal olarak (bir kızılötesi ışık demeti ile) uyarıldı. Sıçan ağrıyı hissedip ayağını çektiğinde, bir fotosel yansıyan ışık demetindeki kesintiyi dedekte ederek I.R. jeneratörün otomatik olarak kapanmasını sağlar ve zaman sayacı durdurularak gecikme zamanı (latans) belirlenir. Maksimum uyarım süresi (cut off time) sıçanın pençesinde bir hasara yol açmaması için 25 s olarak tutuldu. Ölçümler en az 3 defa tekrarlandı ve ardışık kayıtlar arasında da 2 dakika beklenildi. Deney protokolüne göre deney gruplarında bulunan sıçanlardan 8 hafta boyunca haftada 2 kez ölçüm alındı ve alınan verilerin ortalama \pm standart hataları hesaplandı (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 Termal Plantar Test Sistemi.

3.10.2. Mekanik Plantar Test

Mekanik plantar test sıçanın arka pençesine yapılacak dokunmaya hayvanın duyarlılığının belirlenmesi için yapılır. Mekanik plantar test için Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 UGO BASILE-ITALY kullanıldı. Dynamic plantar aesthesiometer Von Frey filamentlerinin çalışma prensiplerine dayanarak dokunmaya bağlı hassasiyet ölçümü yapılmaktadır. Deneylere başlamadan önce sıçanların ortama uyum sağlamaları için yaklaşık 15 dakika gözenekli temiz metal bir zemin üzerinde plastik odacıklarda bekletildi. Daha sonra paslanmaz çelikten 0,5 mm kalınlığındaki filamentli uyarıcı proba sıçanın arka pençenin plantar yüzüne gelecek şekilde kuvvet uygulaması yapıldı. Sıçan pençesini çektiğinde, mekanik uyarım otomatik olarak durdu ve kuvvet kaydedildi. Bu geri çekme yanıtları en az 2 dakikalık aralıklarla ve 3 defa tekrarlandı. Sıçanların arka pençelerinin tabanında bir hasara yol açmaması için maksimum kuvvet 50 gram olarak belirlendi (cut off time). Deney protokolüne göre deney gruplarında bulunan sıçanlardan 8 hafta boyunca haftada 2 kez ölçüm alındı (Şekil 3.10) ve alınan verilerin ortalama \pm standart hataları hesaplandı.



Şekil 3.10 Mekanik Plantar Test Sistemi.

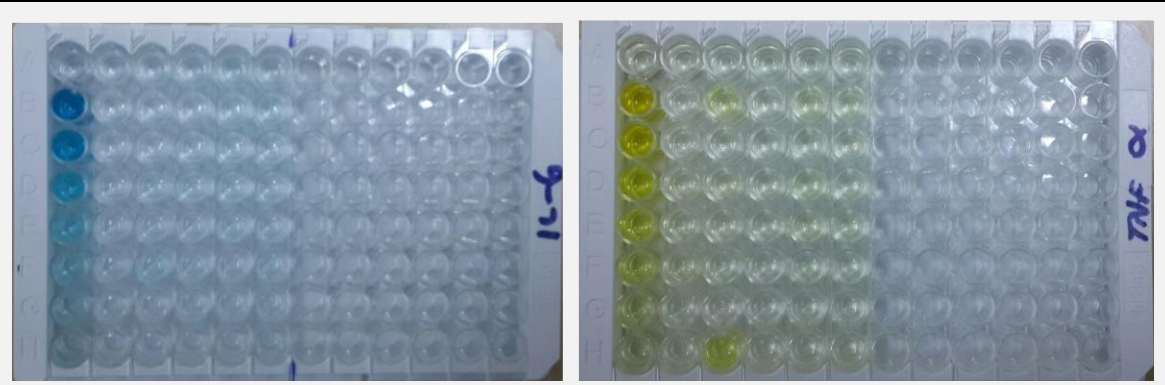
3.11. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yönteminin Uygulanması

Deney gruplarının serum örneklerinde insülin, TNF- α , IL-2 ve IL-6 sitokinlerinin düzeyleri ELISA yöntemiyle araştırıldı. Bunun için;

- 1-Insulin seviyesi için Rat İNS (İnsulin) ELISA Kit, Lot (AK0016JUN08051), Catalog No: E-EL-R2466
- 2- IL-2 seviyesi için IL-2 plantinum ELISA, LOT(123796019), REF(BMS634)
- 3- IL-6 seviyesi için IL-6 plantinum ELISA, LOT(127152034), REF(BMS625)
- 4- TNF-alpha seviyesi için TNF-alpha plantinum ELISA LOT(113641042), REF(BMS622) kitleri kullanıldı.

Çalışma ve değerlendirme esnasında üretici firmanın yönergelerine uygun hareket edildi ve sonuçlar yine kullanım kılavuzu dikkate alınarak değerlendirildi. Serum örnekleri ve kit içerikleri bütün çalışmalarda çalışmaya başlanmadan 30 dakika önce soğutucudan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmeleri için bekletildi. Derin dondurucudaki (-80 °C) üst sıvı örnekleri çıkarılarak İnsulin ve TNF- α , IL-2, IL-6 sitokinleri ELISA yöntemi ile firmanın önerileri doğrultusunda kit içerisindeki talimatlara uygun şekilde belirlendi (Biosource). Üst sıvı örnekleri ve sitokinlere ait standartlar 96 kuyucuklu mikropklarda uygun kuyucuklara yerleştirildikten sonra inkübasyon tamponu ile inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara Biotin konjugat konulup, plaklar oda

sıcaklığında tekrar inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kuyucuklar yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve Streptavidin Peroxidase (HRP) solüsyonu eklendi. Oda sıcaklığında inkübasyonu takiben, plaklar tekrar yıkama solüsyonu ile yıkandı. Son aşamada kuyucuklara Kromojen solüsyonu konulup, plaklar oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklarda oluşan reaksiyon Stop solusyonu ile durduruldu. Kuyucuklarda oluşan absorbans değerleri, ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutularak değerlendirildi (BioTek). Standart eğri, her plak için uygun olan sitokin standartları ile oluşturuldu. Örneklere ait sitokin düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek, kan serumuna ait sitokin düzeyleri pg/ml cinsinden belirlendi.



Şekil 3.11 TNF- α ve IL-6 sitokinlerinin ELISA yöntemi ile belirlenmesi.

3.12. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Deney gruplarında bulunan sıçanların ağırlıkları gram olarak ölçüldü ve sonuçlar ortalama \pm standart hata (SEM) olarak gösterildi. Sekiz haftanın sonunda her grupta bulunan sıçanların aldıkları veya verdikleri kilolar, deney başlangıcındaki ağırlıkları ile karşılaştırıldı.

Sıçanların kan plazma glukoz seviyeleri mg/dL cinsinden ölçüldü. Ölçülen sonuçlar ortalama \pm standart hata (SEM) olarak gösterildi. Pulsu manyetik alan gruplarında bulunan sıçanlardan ölçülen kan plazma glukoz seviyeleri K ve DM gruplarındaki sıçanlardan ölçülen kan plazma glukoz seviyeleri ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarında bulunan sıçanların arka ayak pençelerinden ölçülen termal refleks ölçümlerinde termal latans değerleri saniye (s) olarak gösterildi. Mekanik refleks ölçümlerinde ise mekanik eşik değeri gram (g) olarak gösterildi.

Pulsu manyetik alan gruplarında bulunan sıçanlardan ölçülen termal latans ve mekanik eşik değerleri K ve DM gruplarında bulunan sıçanlardan ölçülen termal latans ve mekanik eşik değerleri ile karşılaştırıldı.

Sıçanların insülin seviyesi ng/ml, IL-2 , IL-6 ve TNF- α sitokin düzeyleri pg/ml olarak belirlendi. Pulsu manyetik alan gruplarında bulunan sıçanlardan belirlenen insülin, IL-2, IL-6 ve TNF- α değerleri K ve DM gruplarında bulunan sıçanların insülin, IL-2, IL-6 ve TNF- α değerleri ile karşılaştırıldı.

İlkin ölçülen parametrelerdeki veri dağılımının normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Sonra değişkenleri etkileyen faktör 3 veya 2'ye göre Univariate multifaktöriyel ANOVA veya 2-way ANOVA veya Repeated measure of ANOVA testlerinden biri ile ve gruplar arası ikili karşılaştırmalarda da Post-Hoc Tukey testi kullanıldı ($p < 0,05$).

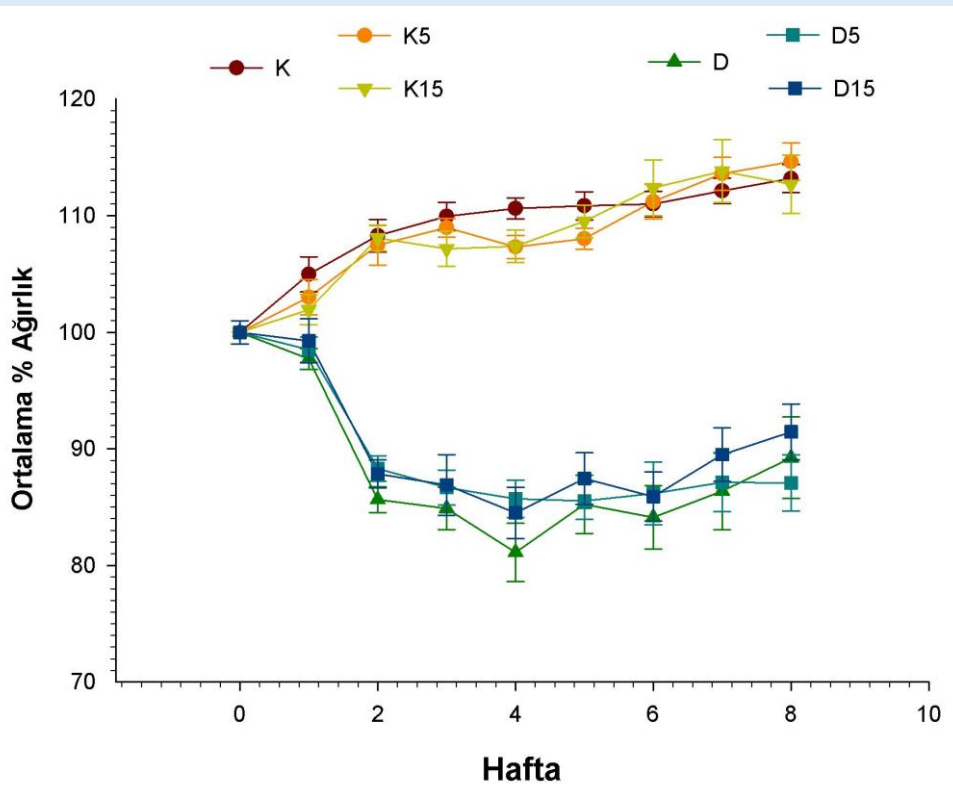
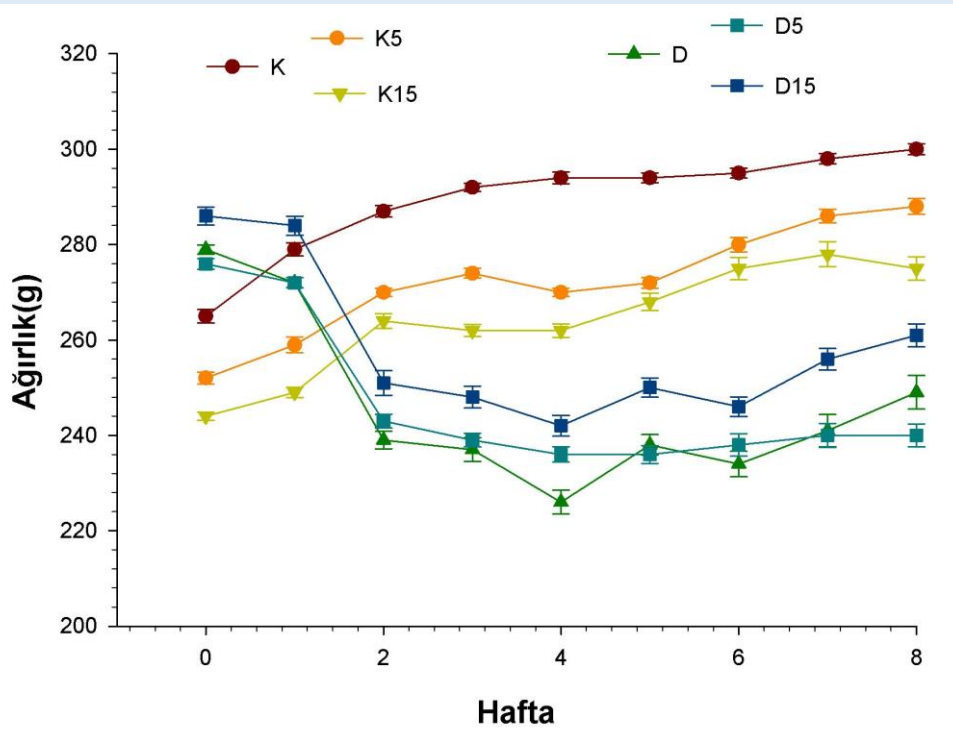
4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçümleri

Denekler kontrol (K), diabetes mellitus (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan (PMA) uygulanmış kontrol grupları (K5, K15) ve diyabet grupları (D5, D15) olmak üzere 6 gruba ayrıldılar. Her gruptaki sıçanların ağırlıkları haftada bir kez ölçüldü. K, K5 ve K15 gruplarında bulunan sıçanların ağırlıklarının 8 hafta sonunda deney başlangıcındaki ilk ağırlık değerlerine göre sırasıyla %13,2, %14,3 ve %13,9 oranında arttığı görüldü. D ve D-PMA gruplarında bulunan sıçanların aynı sürede kilo kayıpları ise sırasıyla %10,7, %13,0 ve %8,7 oranında oldu. Sonuçlar ortalama \pm standart hata (SEM) olarak verildi. (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15 ve D5, D15) bulunan sıçanların 8 hafta boyunca haftada bir kez ölçülen **ağırlıklarının** ortalama \pm SEM değerleri.

Ağırlık (g)									
Deney Grupları	Hafta								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
K (%13,2)	265 $\pm 1,5$	279 $\pm 1,4$	287 $\pm 1,2$	292 $\pm 0,9$	294 $\pm 1,2$	294 $\pm 1,1$	295 $\pm 1,1$	298 $\pm 1,1$	300 $\pm 1,2$
K5 (%14,3)	252 $\pm 1,5$	259 $\pm 1,7$	270 $\pm 0,8$	274 $\pm 1,0$	270 $\pm 0,9$	272 $\pm 1,1$	280 $\pm 1,5$	286 $\pm 1,4$	288 $\pm 1,6$
K15 (%13,9)	244 $\pm 1,3$	249 $\pm 1,1$	264 $\pm 1,5$	262 $\pm 1,3$	262 $\pm 1,4$	268 $\pm 1,8$	275 $\pm 2,4$	278 $\pm 2,7$	278 $\pm 2,5$
D -(%10,7)	279 $\pm 0,9$	272 $\pm 1,1$	239 $\pm 1,8$	237 $\pm 2,5$	226 $\pm 2,5$	238 $\pm 2,1$	234 \pm 2,7	241 $\pm 3,3$	249 $\pm 3,5$
D5 -(%13,0)	276 $\pm 1,1$	272 $\pm 1,1$	243 $\pm 1,5$	239 $\pm 1,4$	236 $\pm 1,6$	236 $\pm 1,9$	238 $\pm 2,3$	240 $\pm 2,5$	240 $\pm 2,4$
D15 -(%8,7)	286 $\pm 1,9$	284 $\pm 1,2$	251 $\pm 2,6$	248 $\pm 2,3$	242 $\pm 2,2$	250 $\pm 2,1$	256 $\pm 2,1$	256 $\pm 2,3$	261 $\pm 2,4$



Şekil 4.1 Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların zaman içinde **haftalık ağırlık değişimleri** (*üst*). Aynı büyüklüklerin % değişimleri ise (*altta*) yeniden çizildi. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir.

Kontrol, diyabetli, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan etkisinde kalan kontrol ve diyabetli sıçanların haftalık ağırlık kazançları ve kilo kayıplarının zamanla değişimleri Şekil 4.1 de çizildi. K ve D gruplarına PMA'nın etkisi one-Way ANOVA ve çoklu karşılaştırmalarla kontrol edildi. Çizelge 4.2 ve 4.3 te PMA'nın ağırlık kazanç ve kayıplarını anlamlı olarak değiştirmediği görülmektedir.

Çizelge 4.2 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık ağırlık kazançlarına PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Kontrol

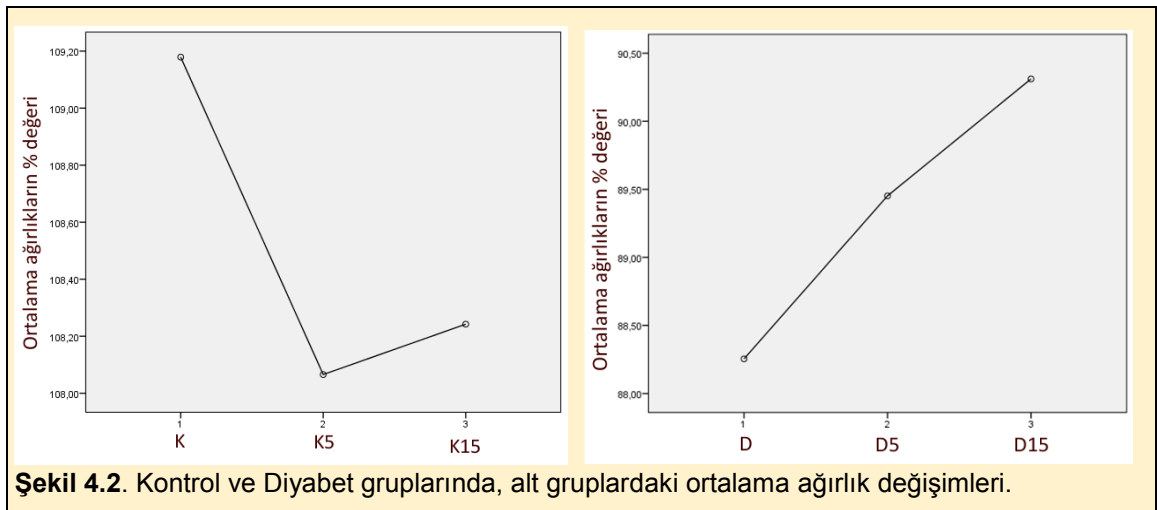
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,444	2	3,222	,156	,856
Within Groups (494,456	24	20,602		
Total	500,901	26			

Çizelge 4.3 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık ağırlık kayıplarına PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19,207	2	9,603	,276	,761
Within Groups	835,881	24	34,828		
Total	855,087	26			



PMA kontrol alt gruplarında ağırlık kaybına, diyabet alt gruplarında ise ağırlık kazançlarına neden olmakta (Şekil 4.2), fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Çizelge 4.4. PMA'nın K ve D gruplarının frekansa bağlı etkileri. PMA K ve D alt gruplarında etkili değil (grup içi), fakat K ve D grupları birbirinde farklı iki gruptur (gruplar arası), $p < 0,05$.

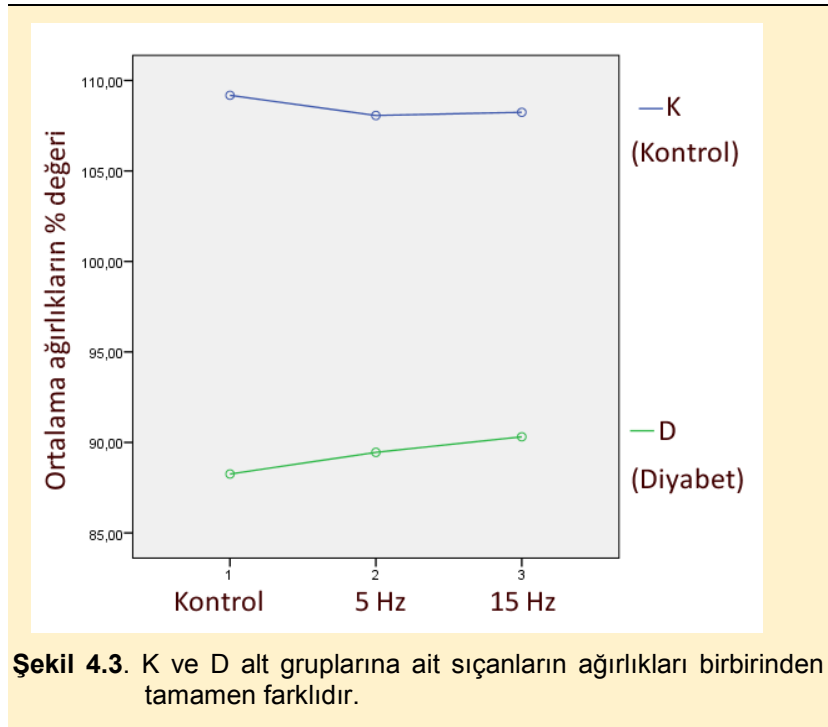
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VAR00009

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4979,661 ^a	5	995,932	35,934	,000
	528371,288	1	528371,288	19064,207	,000
VAR00008 (Grup içi)	3,501	2	1,750	,063	,939
VAR00007 (gruplar arası)	4954,010	1	4954,010	178,746	,000
VAR00008 * VAR00007	22,150	2	11,075	,400	,673
Error	1330,337	48	27,715		
Total	534681,286	54			
Corrected Total	6309,998	53			

a. R Squared = ,789 (Adjusted R Squared = ,767)

Şekil 4.1 den K ve D gruplarının birbirlerinden farklı gruplar oldukları görülmektedir. Bunu Two-Way ANOVA ile de kontrol ettik. Çizelge 4.4 te PMA'nın K ve D gruplarındaki sıçanların ağırlık kazanç ve



kayıplarını değiştirmediği (grup içi) fakat K ve D gruplarının tamamen farklı gruplar olduklarını (gruplar arası), $p < 0,05$ göstermektedir. K ve D altgruplarına ait ortalama ağırlıklar da Şekil 4.3 te gösterilmektedir.

4.2. Sıçanların Kan Plazma Glukoz Seviyeleri

Sekiz hafta sonunda kontrol (K) ve diyabet (D) altgruplarında bulunan sıçanların kan plazma glukoz seviyelerinin ortalamaları izelge 4.5 te verildi. K, K5 ve K15 gruplarındaki sıçanların kan plazma glukoz seviyeleri 8 hafta sonunda başlangıç değerine göre sırasıyla %17,8, %11,9 ve %10,2 oranlarında azaldı. Aynı sürede kan plazma glukoz seviyeleri D, D5 ve D15 gruplarında sırasıyla %0,04, %17,5 ve %17,0 oranlarında azalmaktadır (izelge 4.5).

Çizelge 4.5. K, K5, K15, D, D5, D15 gruplarındaki sıçanların kan plazma glukoz seviyelerinin ortalama değerleri ve standart hataları ($ort \pm SEM$) (Kan plazma glukoz; G).

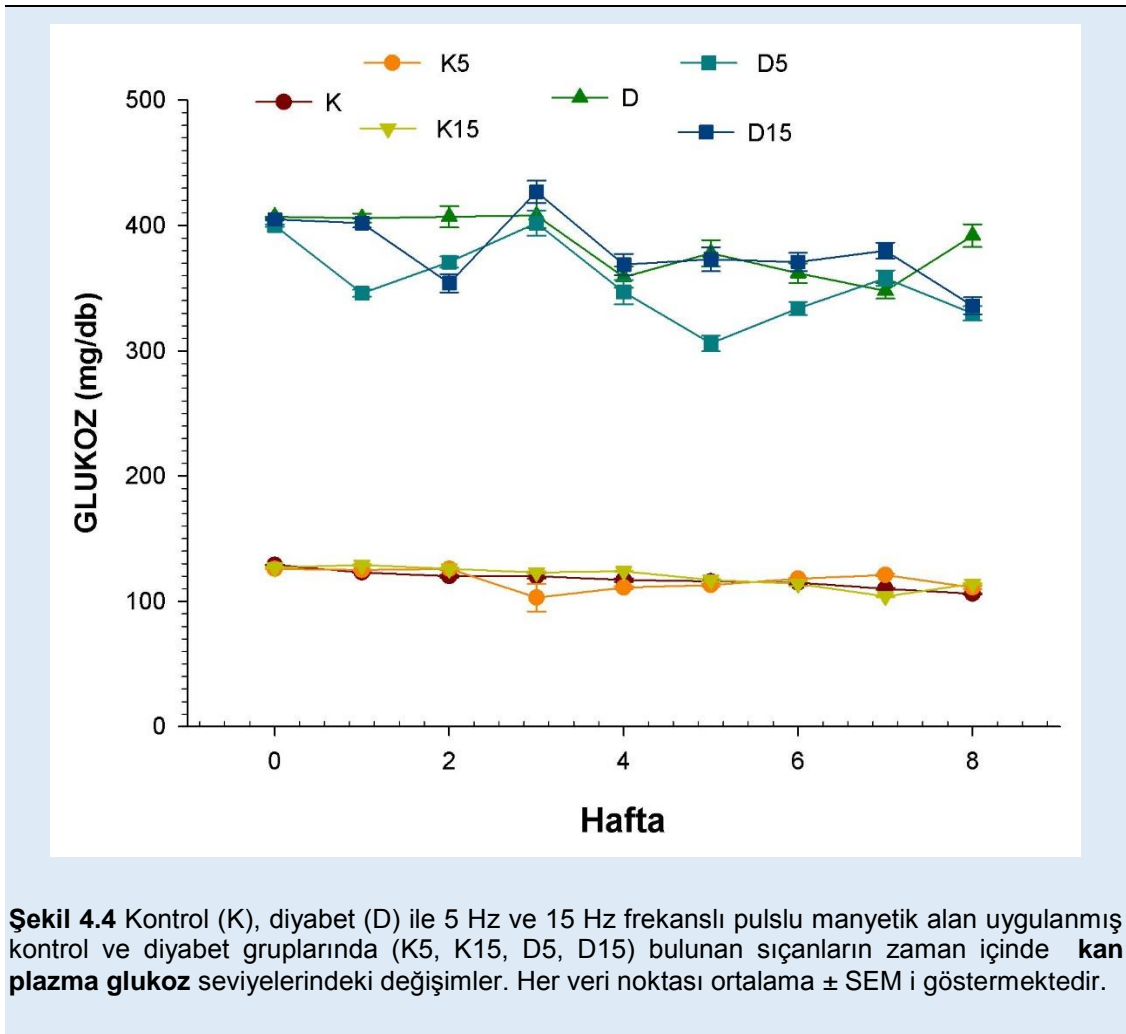
Deney Grupları (n=6)	Kan Plazma Glukoz (mg/dl)									
	Haftalar									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
K -(%17,8)	129 $\pm 0,3$	123 $\pm 0,2$	120 $\pm 1,1$	120 $\pm 1,8$	117 $\pm 1,5$	116 $\pm 0,9$	115 $\pm 0,6$	110 $\pm 0,6$	106 $\pm 1,4$	
K5 -(%11,9)	126 $\pm 0,4$	125 $\pm 0,4$	126 $\pm 0,9$	103 ± 11	111 $\pm 1,2$	113 $\pm 1,1$	118 $\pm 0,9$	121 $\pm 0,9$	111 $\pm 1,1$	
K15 -(%10,2)	127 $\pm 0,5$	129 \pm 0,6	126 $\pm 0,3$	123 $\pm 0,9$	124 $\pm 0,5$	117 $\pm 0,9$	114 $\pm 1,8$	104 $\pm 0,6$	114 $\pm 0,7$	
D -(%0,04)	407 $\pm 0,3$	406 $\pm 3,6$	407 $\pm 8,6$	408 $\pm 9,9$	359 $\pm 8,5$	378 $\pm 10,4$	362 $\pm 7,9$	348 $\pm 6,3$	392 $\pm 9,2$	
D5 -(%17,5)	400 $\pm 0,8$	346 $\pm 2,9$	371 $\pm 4,5$	402 ± 10	347 $\pm 9,6$	306 $\pm 6,3$	334 $\pm 5,2$	358 $\pm 6,1$	330 $\pm 5,7$	
D15 -(%17,0)	405 $\pm 0,6$	402 $\pm 3,6$	354 $\pm 7,4$	427 $\pm 8,8$	369 $\pm 8,6$	373 $\pm 9,6$	371 $\pm 7,2$	380 $\pm 6,4$	336 $\pm 6,9$	

K: kontrol, D: diyabetes mellitus ve K5, K15, D5, D15 sırasıyla 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabetli grupları göstermektedir.

* $p < 0,05$ K ve D gruplarında bulunan sıçanların kan plazma glukoz seviyelerinin 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan gruplarındaki sıçanların kan plazma glukoz seviyeleri ile karşılaştırılması.

Çizelge 4.5'den 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alanların K ve D gruplarındaki sıçanların kan plazma glukoz seviyelerini değiştirdiği, fakat D5 ve D15 arasında bir etkileşimin olmadığı görülmektedir. Başka bir deyişle, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı PMA'nın diyabetli grupların kan plazma glukoz seviyelerini aynı oranda değiştirmektedir. Şekil.4.4'de görüldüğü gibi, K ve D gruplarının kan plazma glukoz seviyeleri arasında büyük farklar var, fakat PMA K ve D gruplarının kan plazma glukoz seviyeleri aynı oranlarda düşürmektedir.

K ve D alt gruplarındaki sıçanların haftalara göre ortalama kan glukoz seviyeleri Şekil 4.4 te gösterildi.



Çizelge 4.6 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık kan glukoz seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar.

ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39,407	2	19,704	,332	,721
Within Groups	1426,444	24	59,435		
Total	1465,852	26			

Kan glukoz; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	,222	3,634	,998	-8,85	9,30
	K15	-2,444	3,634	,781	-11,52	6,63
K5	K	-,222	3,634	,998	-9,30	8,85
	K15	-2,667	3,634	,746	-11,74	6,41
K15	K	2,444	3,634	,781	-6,63	11,52
	K5	2,667	3,634	,746	-6,41	11,74

Çizelge 4.7 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık kan plazma glukoz seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Diyabet

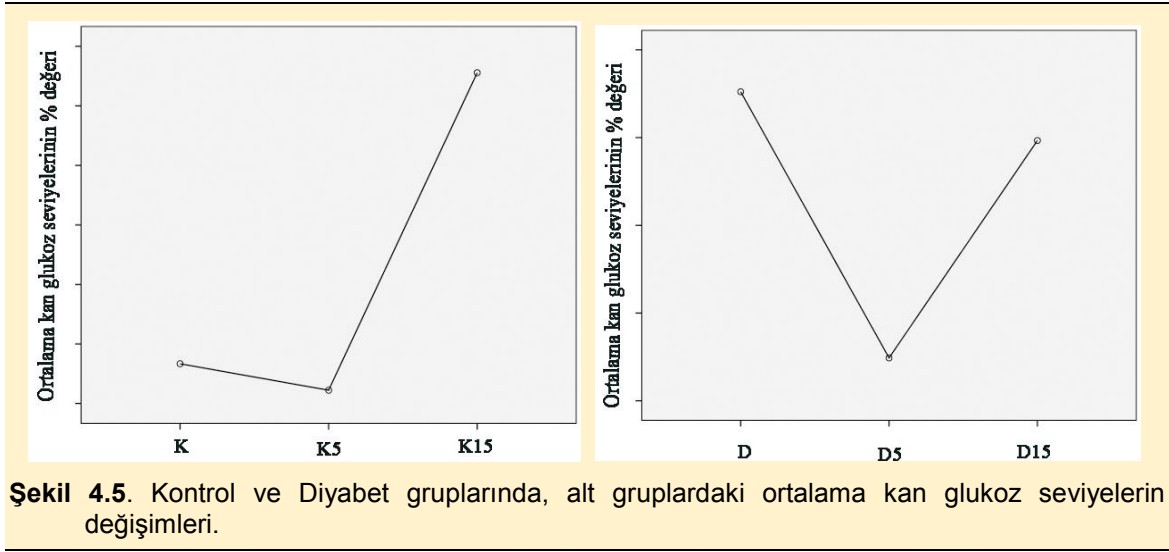
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4694,741	2	2347,370	2,981	,070
Within Groups	18900,444	24	787,519		
Total	23595,185	26			

Kan glukoz; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diyabet

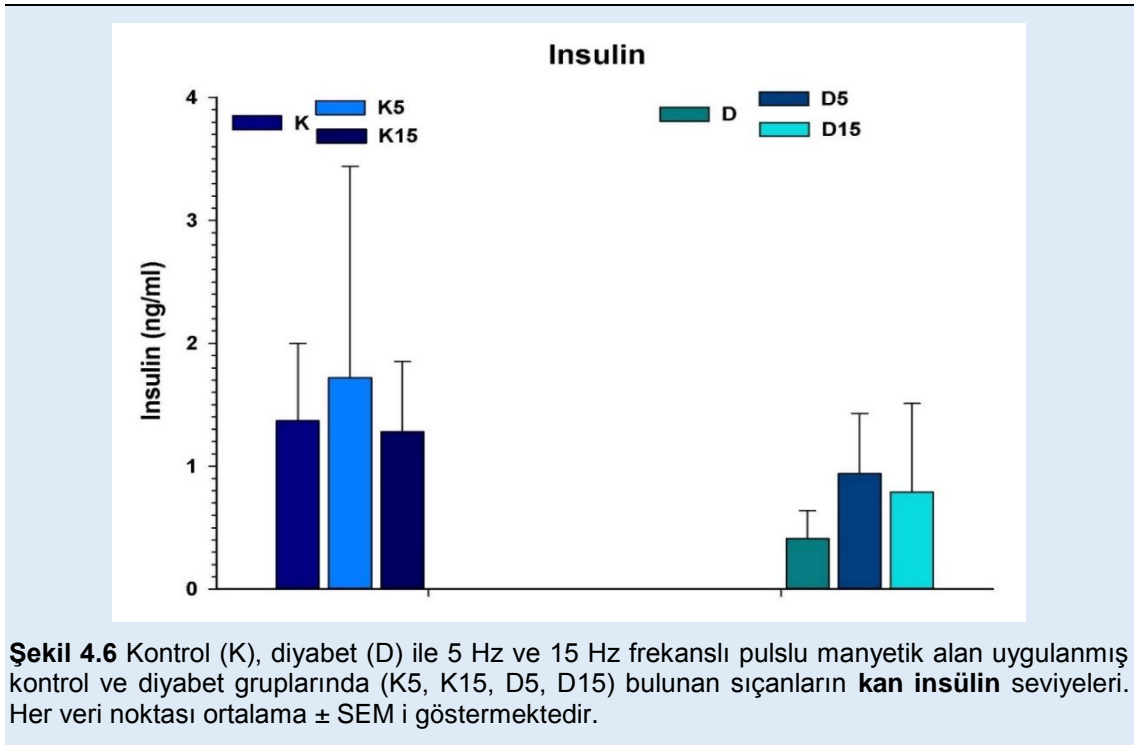
Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	30,333	13,229	,076	-2,70	63,37
	D15	5,556	13,229	,908	-27,48	38,59
D5	D	-30,333	13,229	,076	-63,37	2,70
	D15	-24,778	13,229	,168	-57,81	8,26
D15	D	-5,556	13,229	,908	-38,59	27,48
	D5	24,778	13,229	,168	-8,26	57,81



Kan plazma glukoz seviyelerini PMA kontrol alt gruplarında bir miktar artırırken, D alt gruplarında ise biraz düşürmektedir (Çizelge 4.5). Fakat kan glukoz seviyelerindeki bu değişimler istatistiksel olarak anlamsızdır (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7). Bu gruplardaki ortalama değerler Şekil 4.5 te çizilmiştir.

4.3. Sıçanların Kan İnsülin Seviyeleri



Çizelge 4.8 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık kan insulin seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,448	2	,224	,039	,962
Within Groups	63,870	11	5,806		
Total	64,318	13			

INS ; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	-,34284	1,61644	,976	-4,7086	4,0229
	K15	,08839	1,52400	,998	-4,0277	4,2045
K5	K	,34284	1,61644	,976	-4,0229	4,7086
	K15	,43123	1,61644	,962	-3,9345	4,7970
K15	K	-,08839	1,52400	,998	-4,2045	4,0277
	K5	-,43123	1,61644	,962	-4,7970	3,9345

Çizelge 4.9 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık kan insulin seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,099	2	1,049	1,144	,351
Within Groups	11,004	12	,917		
Total	13,103	14			

INS ; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diyabet

Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	-,53605	,60022	,655	-2,1373	1,0652
	D15	,34158	,67713	,871	-1,4649	2,1481
D5	D	,53605	,60022	,655	-1,0652	2,1373
	D15	,87762	,60022	,342	-,7237	2,4789
D15	D	-,34158	,67713	,871	-2,1481	1,4649
	D5	-,87762	,60022	,342	-2,4789	,7237

Sekiz hafta sonunda tüm gruplarda bulunan sıçanlardan kan örnekleri alındı. Kan insülin seviyeleri ng/ml cinsinden ölçüldü (Çizelge 4.10). İnsülin seviyelerinde dalgalanmalar çok büyüktür (Şekil 4.6). D grubunda insülin seviyesi K grubuna göre düşük. Fakat anlamlı farklar saptanamadı. PMA insülin seviyesini biraz yükseltse bile SEMlerin büyük olması nedeniyle farklar istatistiksel olarak anlamsızdır (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9).

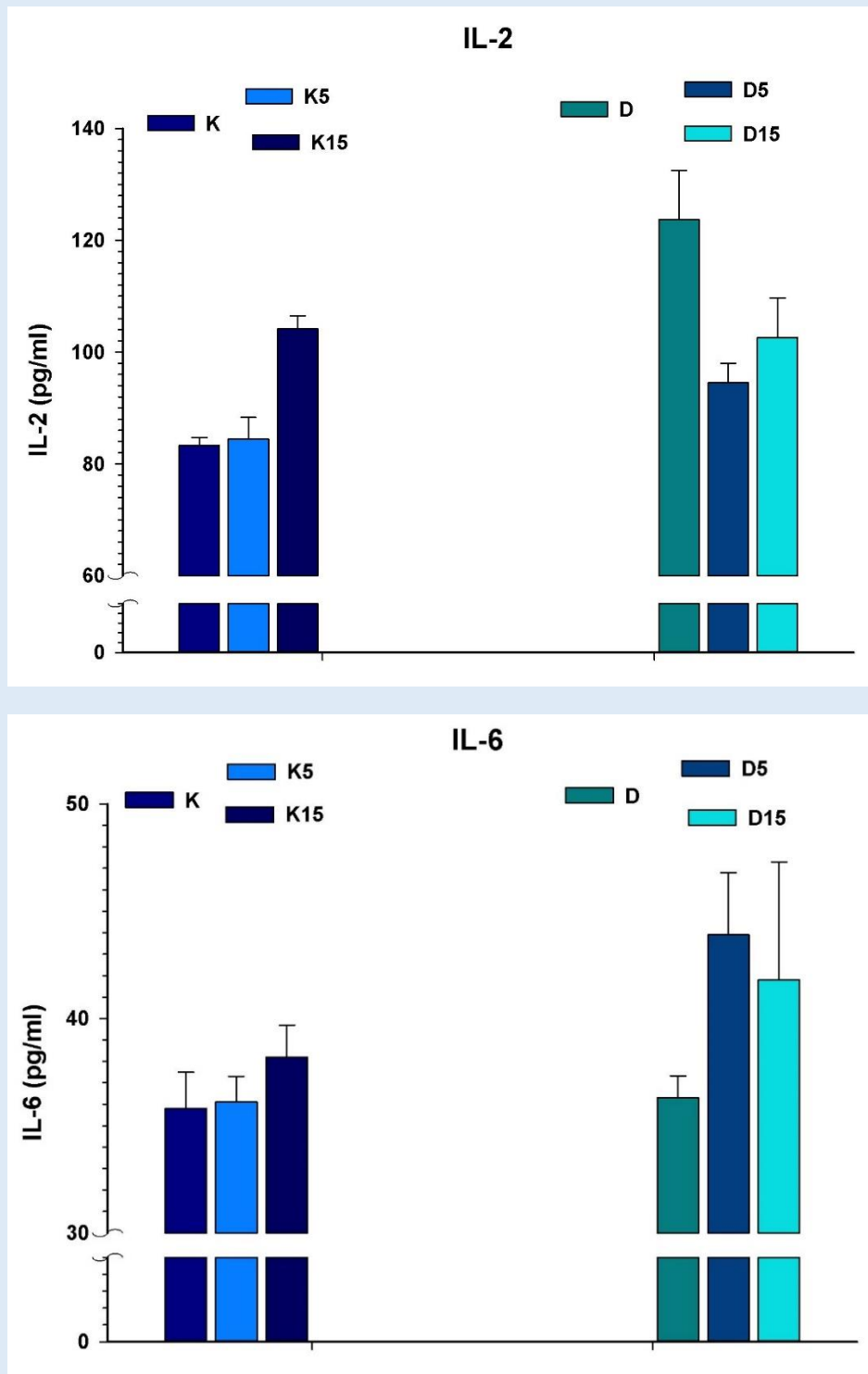
4.4. Sıçanların Kan Sitokin (IL-2 ve IL-6) Seviyeleri

Sekiz hafta sonunda tüm gruplarda bulunan sıçanlardan kan örnekleri alındı. Kan sitokin seviyelerinden IL-2 ve IL-6 pg/ml cinsinden ölçüldü (Çizelge 4.10). PMA, IL-2 ve IL-6 seviyelerini K gruplarında yükseltti. D Grupların PMA etkisiyle IL-2 düşerken, IL-6 yükselmektedir (Şekil 4.7).

Çizelge 4.10. K5, K15, D, D5 ve D15 gruplarında bulunan sıçanların **kan sitokin IL-2, IL-6, insülin ve TNF- α** seviyelerinin ortalama değerleri ve standart hataları (ort \pm SEM).

Deney Grupları (n=6)	IL-2 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	Insülin (ng/ml)	TNF- α (pg/mL)
K	83,3 \pm 1,4	35,8 \pm 1,7	1,37 \pm 0,63	41,7 \pm 5,5
K5	84,4 \pm 3,9	36,1 \pm 1,2	1,72 \pm 1,72	41,1 \pm 10,9
K15	104,2 \pm 2,3	38,2 \pm 1,5	1,28 \pm 0,57	43,7 \pm 8,1
D	123,7 \pm 8,8	36,3 \pm 1,0	0,41 \pm 0,23	42,8 \pm 2,8
D5	94,5 \pm 3,5	43,9 \pm 2,9	0,94 \pm 0,49	55,0 \pm 4,3
D15	102,6 \pm 7,1	41,8 \pm 5,5	0,79 \pm 0,72	46,7 \pm 3,1

* p<0,05 K ve K5,K15 ve D ve D5, D15 gruplarının karşılaştırılması.



Şekil 4.7 Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların kan sitokin IL-2 ve IL-6 seviyeleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir.

Çizelge 4.11 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık IL-2 seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1338,007	2	669,004	2,131	,165
Within Groups	3453,099	11	313,918		
Total	4791,106	13			

IL-2; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	-1,08034	11,88542	,995	-33,1812	31,0205
	K15	-20,86304	11,20568	,196	-51,1280	9,4019
K5	K	1,08034	11,88542	,995	-31,0205	33,1812
	K15	-19,78269	11,88542	,261	-51,8835	12,3181
K15	K	20,86304	11,20568	,196	-9,4019	51,1280
	K5	19,78269	11,88542	,261	-12,3181	51,8835

Çizelge 4.12 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık IL-2 seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3168,804	2	1584,402	2,129	,148
Within Groups	13396,580	18	744,254		
Total	16565,384	20			

IL-2; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diyabet

Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	29,14007	14,58232	,141	-8,0764	66,3565
	D15	21,06400	14,58232	,340	-16,1525	58,2805
D5	D	-29,14007	14,58232	,141	-66,3565	8,0764
	D15	-8,07607	14,58232	,846	-45,2925	29,1404
D15	D	-21,06400	14,58232	,340	-58,2805	16,1525
	D5	8,07607	14,58232	,846	-29,1404	45,2925

Çizelge 4.13 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık IL-6 seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,443	2	1,721	,081	,923
Within Groups	234,074	11	21,279		
Total	237,517	13			

IL-6; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	-,35588	2,91750	,992	-8,2356	7,5239
	K15	-1,22397	3,09447	,918	-9,5817	7,1338
K5	K	,35588	2,91750	,992	-7,5239	8,2356
	K15	-,86809	3,09447	,958	-9,2258	7,4896
K15	K	1,22397	3,09447	,918	-7,1338	9,5817
	K5	,86809	3,09447	,958	-7,4896	9,2258

Çizelge 4.14 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık IL-6 seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	250,092	2	125,046	1,184	,326
Within Groups	2217,874	21	105,613		
Total	2467,966	23			

IL-6; Multiple Comparisons

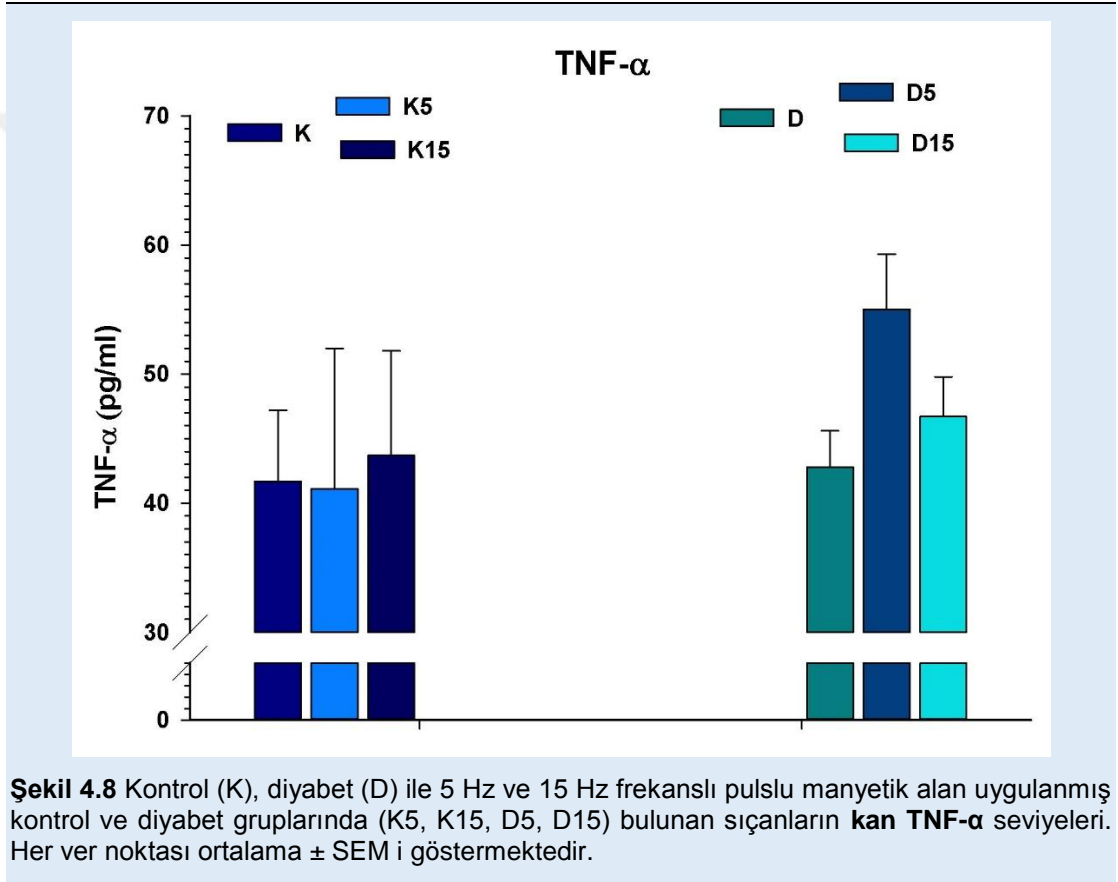
Dependent Variable: Diyabet

Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	-7,68023	5,13841	,314	-20,6320	5,2715
	D15	-5,46883	5,13841	,546	-18,4206	7,4829
D5	D	7,68023	5,13841	,314	-5,2715	20,6320
	D15	2,21140	5,13841	,903	-10,7403	15,1631
D15	D	5,46883	5,13841	,546	-7,4829	18,4206
	D5	-2,21140	5,13841	,903	-15,1631	10,7403

IL-2 ve IL-6 seviyelerinde dalgalanmalar çok büyüktür (Şekil 4.7). K ve D alt gruplarında seviyeler PMA ile bir miktar artmaktadır, fakat dalgalanma, yani SEM ler çok yüksek olduğundan bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Çizelge 4.11, 4.12 ve Çizelge 4.13, 4.14).

4.5. Sıçanların Sitokin (TNF- α) Seviyeleri



Sekiz hafta sonunda tüm gruplarda bulunan sıçanlardan kan örnekleri alındı. Kan TNF- α seviyeleri pg/ml cinsinden ölçüldü (Çizelge 4.10). PMA, K alt gruplarında TNF- α seviyesini değiştirmedii fakat D alt gruplarında biraz yükseltti (Şekil 4.8). SEM değerleri çok yüksek olduklarından alt gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16).

Çizelge 4.15 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık TNF- α seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	46,252	2	23,126	,074	,929
Within Groups	3436,796	11	312,436		
Total	3483,048	13			

TNF- α ; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	4,56137	11,85733	,922	-27,4636	36,5863
	K15	1,95505	11,17919	,983	-28,2384	32,1484
K5	K	-4,56137	11,85733	,922	-36,5863	27,4636
	K15	-2,60632	11,85733	,974	-34,6313	29,4186
K15	K	-1,95505	11,17919	,983	-32,1484	28,2384
	K5	2,60632	11,85733	,974	-29,4186	34,6313

Çizelge 4.16 8 Hafta boyunca kontrol-diyabet, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık TNF- α seviyelerinde PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar

ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	820,970	2	410,485	1,495	,249
Within Groups	5215,468	19	274,498		
Total	6036,438	21			

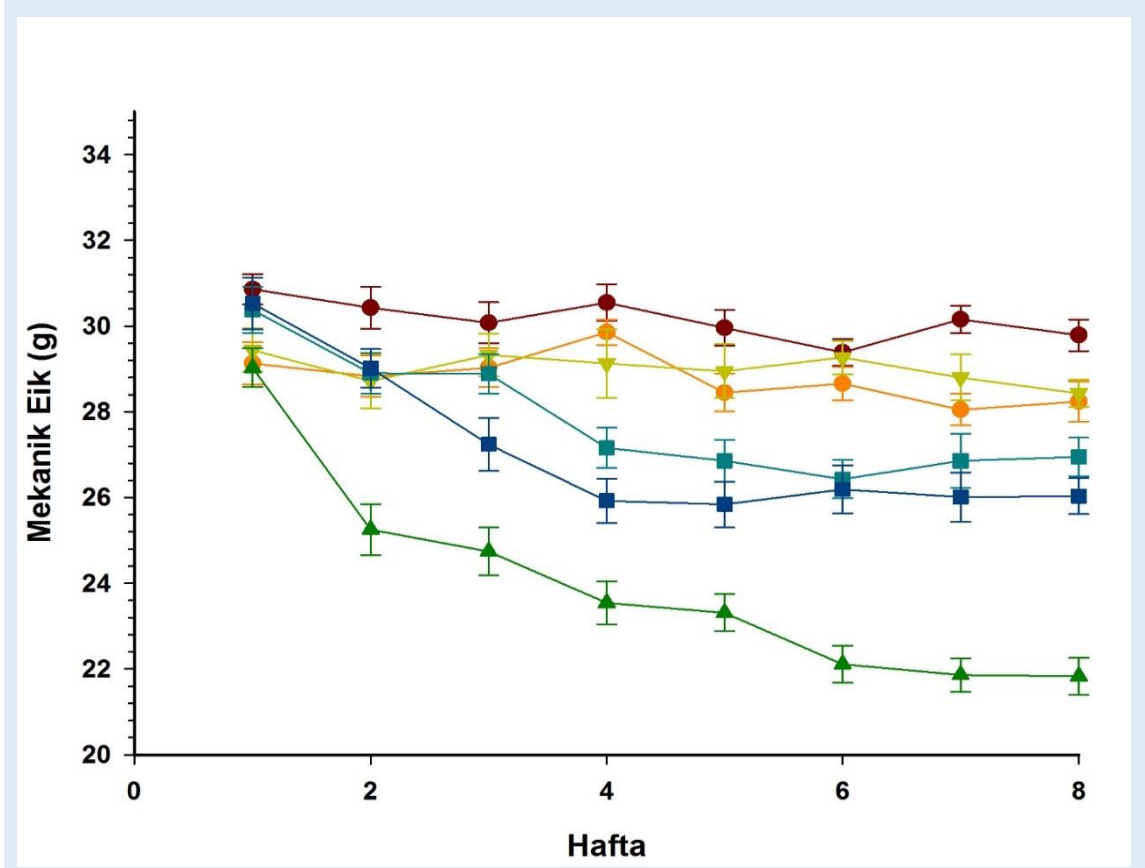
TNF- α ; Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diyabet

Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	-14,82772	8,57475	,220	-36,6114	6,9560
	D15	-8,08803	8,85596	,639	-30,5862	14,4101
D5	D	14,82772	8,57475	,220	-6,9560	36,6114
	D15	6,73969	8,57475	,716	-15,0440	28,5234
D15	D	8,08803	8,85596	,639	-14,4101	30,5862
	D5	-6,73969	8,57475	,716	-28,5234	15,0440

4.6 Sıçanların Mekanik Eşik Değerleri



Şekil 4.9 Kontrol (K), diyabet (D) ile 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış kontrol ve diyabet gruplarında (K5, K15, D5, D15) bulunan sıçanların **mekanik eşik** değerleri. Her veri noktası ortalama \pm SEM i göstermektedir.

Kontrol ve diyabet sınıfları ve bunların alt gruplarına ait mekanik eşik değerlerinin 8 hafta boyunca değişimleri (Şekil 4.9) da çizilmiştir. Ayrıca PMA'nın hem K hem de D gruplarında etkileri istatistiksel olarak One-Way ANOVA ve Two-way ANOVA ile araştırıldı. İstatistik sonuçları Çizelge 4.17, 4.18 ve Çizelge 4.19, 4.20 de verildi. Ayrıca alt gruplara ait mekanik eşik değerlerinin ortalamaları Şekil 4.10 ve Şekil 4.11 de çizildi.

Çizelge 4.17 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık mekanik eşik değerlerine PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar
ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23,572	2	11,786	17,594	,000
Within Groups	14,067	21	,670		
Total	37,639	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	-1,82250*	,40923	,001	-2,8540	-,7910
	K15	-2,30000*	,40923	,000	-3,3315	-1,2685
K5	K	1,82250*	,40923	,001	,7910	2,8540
	K15	-,47750	,40923	,485	-1,5090	,5540
K15	K	2,30000*	,40923	,000	1,2685	3,3315
	K15	,47750	,40923	,485	-,5540	1,5090

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Çizelge 4.18 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık mekanik eşik değerlerine PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar
ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87,860	2	43,930	16,212	,000
Within Groups	56,903	21	2,710		
Total	144,763	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diyabet

Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	3,27750*	,82305	,002	1,2029	5,3521
	D15	4,54000*	,82305	,000	2,4654	6,6146
D5	D	-3,27750*	,82305	,002	-5,3521	-1,2029
	D15	1,26250	,82305	,296	-,8121	3,3371
D15	D	-4,54000*	,82305	,000	-6,6146	-2,4654
	D5	-1,26250	,82305	,296	-3,3371	,8121

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Çizelge 4.19 K ve D gruplarında mekanik eşik değerlerine PMA nın etkisine ait two-way ANOVA sonuçları

Tests of Between-Subjects Effects

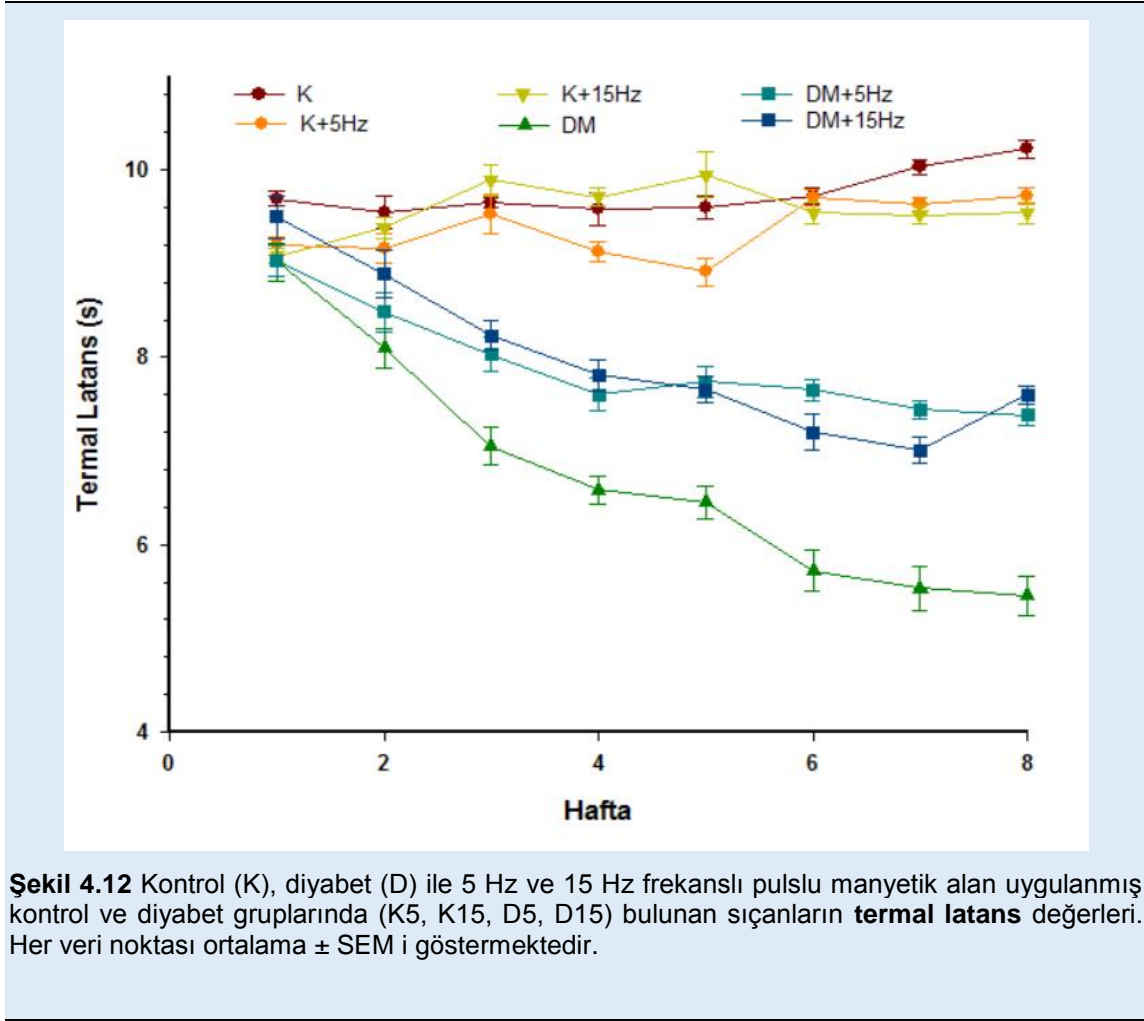
Dependent Variable: Mekanik eşik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	337,506 ^a	6	56,251	32,578	,000
	29770,281	1	29770,281	17241,497	,000
Sınıf	,177	1	,177	,102	,751
Alt gruplar	182,131	5	36,426	21,096	,000
Sınıf * PulsuMA	,000	0	.	.	.
Error	70,793	41	1,727		
Total	30714,577	48			
Corrected Total	408,299	47			

a. R Squared = ,827 (Adjusted R Squared = ,801)

PMA nın K ve D alt gruplarında mekanik eşik değerlerine etkisine ait istatistiksel sonuçlar incelendiğinde şu sonuçlara varılır: 1- PMA, K alt gruplarında mekanik eşik değerini değiştirdir, K5 ve K15 alt gruplarının ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır, 2- PMA, D alt gruplarında mekanik eşik değerlerini artırmaktadır, 3- D5 ve D15 alt gruplarının ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır.

4.7 Sıçanların Termal Latans Değerleri



Kontrol ve diyabet sınıfları ve bunların alt gruplarına ait termal latans değerlerinin 8 hafta boyunca değişimleri Şekil 4.12 de çizildi. K ve D gruplarına PMA'nın etkilerine ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 4.21, 4.22 ve Çizelge 4.23, 4.24 te verilmektedir. K ve D gruplarına ait termal latans değerlerinin ortalamaları Şekil 4.13 ve Şekil 4.14 te çizildi.

PMA'nın K ve D alt gruplarında termal latans değerlerine etkisine ait istatistiksel sonuçlar incelendiğinde şu sonuçlara varılır: 1- PMA, K alt gruplarında termal latans değerini değiştirmemektedir, 2- PMA, D alt gruplarında termal latans değerlerini artırmaktadır, 3- D5 ve D15 alt gruplarının ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır.

Çizelge 4.21 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **kontrol** grubunda bulunan sıçanların **haftalık termal latans değerlerine PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar
ANOVA

Kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,028	2	,014	,162	,852
Within Groups	1,816	21	,086		
Total	1,844	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kontrol

Tukey HSD

(I) KGruplar	(J) KGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K5	,01875	,14703	,991	-,3518	,3893
	K15	-,06125	,14703	,909	-,4318	,3093
K5	K	-,01875	,14703	,991	-,3893	,3518
	K15	-,08000	,14703	,851	-,4506	,2906
K15	K	,06125	,14703	,909	-,3093	,4318
	K5	,08000	,14703	,851	-,2906	,4506

Çizelge 4.22 8 Hafta boyunca kontrol, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı pulslu manyetik alan uygulanmış **diyabet** grubunda bulunan sıçanların **haftalık termal latans değerlerine PMA'nın etkisini** gösteren istatistik sonuçlar
ANOVA

Diyabet

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18,583	2	9,292	14,691	,000
Within Groups	12,649	20	,632		
Total	31,233	22			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diyabet

Tukey HSD

(I) DGruplar	(J) DGruplar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
D	D5	1,72000*	,39764	,001	,7140	2,7260
	D15	2,03732*	,41160	,000	,9960	3,0787
D5	D	-1,72000*	,39764	,001	-2,7260	-,7140
	D15	,31732	,41160	,725	-,7240	1,3587
D15	D	-2,03732*	,41160	,000	-3,0787	-,9960
	D5	-,31732	,41160	,725	-1,3587	,7240

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Çizelge 4.23. K ve D gruplarında termal latans değerlerine PMA'nın etkisine ait two-way ANOVA sonuçları

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Termal latans

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	30,242 ^a	6	5,040	21,443	,000
	3071,877	1	3071,877	13068,492	,000
Sınıf	,049	1	,049	,207	,652
PulsluMA	21,329	5	4,266	18,148	,000
Sınıf * PulsluMA	,000	0	.	.	.
Error	9,637	41	,235		
Total	3172,011	48			
Corrected Total	39,879	47			

a. R Squared = ,758 (Adjusted R Squared = ,723)

5. TARTIŞMA

Tüm dünyada ve aynı zamanda ülkemizde hızla artan otoimmün hastalık olan diyabetin tedavisi araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Klinikte diyabet ve diyabetin neden olduğu periferel diyabetik nöropati ağrı tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlar ve cerrahi işlemler sınırlıdır. Bu nedenle farklı alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi son derece önemlidir. İnvaziv olarak uygulanan pulslu manyetik alan alanlar teşhis ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1966-1998 yıllarında çeşitli hastalıkların tedavisinde (kemik iyileşmesi, osteoartrit, kas iskelet sisteminin inflamatuvar hastalıkları, ağrı, ekstremitte ülseri ve spastisite) kullanılan manyetik alan uygulamalarında kemik iyileşmesi ve ağrı üzerinde manyetik alan tedavi edici etkisi bulunmuştur (67). 1966'dan 2013 yılına kadar osteoartrit tedavisinde farklı şiddet, yön ve frekanslı manyetik alan uygulamaları kullanılmıştır (66,67). Ludwig yaptığı çalışmalarla, farklı hastalık tabloları için manyetik alanın hangi frekansın ve hangi sürenin daha etkili olduğunu araştırmıştır.

Manyetik alanlar uygulamalarının nöron ateşlenmesi, kalsiyum iyon hareketi, membran potansiyelleri, endorfin düzeyleri, nitrik oksit, dopamin düzeyleri, akupunktur etkilerini ve sinir rejenerasyonunu direkt etkilerken, dolaşım, kas, doku oksijenlenmesi, inflamasyon, iyileşme, hücre metabolizması ve hücre enerji düzeylerini indirekt olarak etkilemektedir. Yapılan diğer çalışmalarda da ardışık düşük frekanslı manyetik alanın sağlıklı sıçanlarda anlamlı bir etkiye sebep olmadığı fakat streptozotosin indüklediği diyabetik nöropatili sıçanlarda iyileştirici etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir (21,135,136).

PMA biyolojik sistemleri, fizyolojik, yapısal ve fonksiyonel olarak etkileyebilir. Diyabetik koşullarda moleküler organizasyonda, sinyal mekanizmalarında, hücrelerin kimyasal süreçlerinde çeşitli yapısal ve fonksiyonel anormallikler ortaya çıkar. PMA uygulamaları, hücreleri yeniden düzenleyerek ve işlevleri geri yükleyerek sistemi optimize edebilir ve terapötik etkiler üretebilir (85,133,134).

Kuantum fiziği göre manyetik alan; hem taşıyıcı ve hem de tedavi olarak işlev görmektedir (62). Manyetik alan tedavisi ile vücudumuzun iletken dokularında oluşan biyoelektrik dalgalar, nöral dokularda depolarizasyona yol açar. Böylece nöral yapılar stimüle olur. Geddes ve ark. bunu “elektrotsuz elektriksel stimulasyon” olarak tanımlamıştır. Ancak bunun için uygulanan manyetik alan tedavisi pulsatif ve alternatif olmalıdır. Çünkü statik manyetik alan nöral dokuda depolarizasyona sebep olmaz (58-60). Etki mekanizması olarak, Dr. Warnke ve arkadaşları, manyetik alanın, organizma, organ, doku, hücre hatta molekül ile rezonansa girdiğini ve pH dengelerini etkilediğini iddia etmiştir. Düşük frekanslı manyetik alanlar, etkilerini hücrenin membran seviyesi olduğunu belirtmiştir. Warnke ve ark. düşük amplitüdü pulsatif manyetik alanın ağrı üzerine yararlı etkilerini, otonom (vejetatif) sinir aktivitesinde değişiklikleri, sekonder kan damarlarının çapında aktif genişlemeyi, terminal dokularda parsiyel oksijen basıncında artışı ve kapiller kan akış hızında ve lokal perfüzyonda değişiklikleri yaparak gösterdiğini savunmuşlardır (58).

Bu çalışma 5 ve 15 Hz frekanslardan oluşan pulslu manyetik alanların, streptozosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde diyabetik nöropatili sıçanlarda tedavi edici etkilerini araştırmak hipotezi üzerine planlanmıştır.

5.1. Ağırlık ve Glukoz

Çalışmamızda, K, K5 ve K15 gruplarında bulunan sıçanların ağırlıklarının 8 hafta sonunda deney başlangıcındaki ilk ağırlık değerlerine göre sırasıyla %13,2, %14,3 ve %13,9 oranında arttığı görüldü. D ve D-PMA gruplarında bulunan sıçanların aynı sürede kilo kayıpları ise sırasıyla %10,7, %13,0 ve %8,7 oranında oldu. K ve D gruplarında PMA'nın etkisi ağırlık kazanç ve kayıplarını anlamlı olarak değiştirmedeği görüldü. PMA gruplarında bulunan sıçanların vücut ağırlık kayıplarında gözlenen bu azalmalar kilo kayıp hızını önemli ölçüde engellemediği bulundu. Bu sonuçlar diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (21,130). Ayrıca Hilton ve arkadaşları 4 ay boyunca Sprague-Dawley sıçanlara ve Swiss-Webster farelere 60 Hz elektrik alanı uyguladıklarında 4 ay sonra sıçanların ve farelerin ağırlıklarını

karşılaştırıldığında fark gözlememişlerdir (128). Vücut ağırlık kayıplarındaki bu azalma muhtemelen ozmotik diürez ve diyabetik hiperglisemi ile indüklenen dehidrasyon ile ilişkilidir (21,130,131).

Sıçanlarda deneysel olarak STZ ile oluşturulan diyabette, 5 Hz ve 15 Hz frekanslı PMA'nın K ve D gruplarındaki sıçanların kan plazma glukoz seviyelerini değiştirdiği, fakat D5 ve D15 arasında bir etkileşimin olmadığı görülmektedir. K ve D gruplarının kan plazma glukoz seviyeleri arasında büyük farklar var, ama PMA K ve D gruplarının kan plazma glukoz seviyeleri aynı oranlarda düşürmektedir ve bu değişimler istatistiksel olarak anlamsızdır. Bu sonuçlar Lei ve ark. bulduğu sonuçlarla uyumludur(21). düşük frekanslı PMA'nın diyabetik sıçanlarda anti-hiperglisemi etkinliğe sebep olduğunu ama PMA uygulamasının hiperglisemiyi önemli ölçüde değiştirmediğini göstermişlerdir (21). Mert ve ark. da yaptıkları araştırmada düşük frekanslı PMA'nın kısmen diyabete bağlı artan kan glukoz seviyesini azalttığını bulmuşlardır (10,130).

15 Hz frekansında, 1,6 mT şiddetinde haftada 6 gün günde 8 saat 7 hafta boyunca sağlıklı ve diyabetik periferik nöropatili sıçanlar Helmholtz halkalarından oluşan manyetik alanın etkisine bırakıldığında ise kan glukoz değerlerinde ve ağırlıklarında anlamlı değişiklik görülmemiş ama mekanik eşik ve termal latans değerlerinde anlamlı değişiklikler görülmüştür (21).

Düzenli sabit 10^{-3} ve 10^{-2} T şiddetindeki manyetik alanın etkisine 10 gün boyunca günde 1 saat bırakılan sıçanların kan plazma glukoz seviyesinin belirgin derecede azaldığı ve insulin salınımının arttığı gözlenmiştir (39). 6 mT şiddetinde pulslu elektromanyetik alanın (PMA) etkisine günde 180 dakika 6 ay boyunca bırakılan sıçanların karaciğerin vücut kitle indeksine göre arttığı, kan plazma glukoz, serum kolesterol ve trigliserit seviyelerinin de düştüğü çalışmalarda gösterilmiştir (40,41). Bu bulgulara benzer sonuçlar da diğer araştırmacılar tarafından gözlenmiştir (42-44).

Uzun süreli 10 Hz frekansında, 8 mT şiddetinde ve 50 Hz frekansında 20-50 mT şiddetinde alternatif manyetik alanın deney hayvanlarının serumlarında glukoz konsantrasyonunu azalttığı; 13,3 Hz frekansında, 2,7 mT şiddetinde alternatif manyetik alanın ise geçici olarak deney hayvanların

serumlarında glukoz artışına ve pankreatik adacıklarının β hücrelerinden insulin salınımının baskılandığı gözlenmiştir (39).

STZ verilerek deneysel diyabet oluşturulan sıçanların 12 hafta sonra vücut ağırlığının düştüğü; kan plazma glukoz değerinin yükseldiği; serum kolesterol değerinin yükseldiği; serum trigliserit değerinin de yükseldiği bulunmuştur (45). Yapılan diğer çalışmalarda da araştırmacılar bu sonuçlara benzer sonuçlar gözlemişlerdir (46-52).

Deneysel diyabetik sıçanlarda düşük frekanslı PMA'nın hiperglisemi üzerine farklı etkilerinin olması uygulanan PMA, farklı frekans, şiddet, süre ve yöne bağlı olabilir (132). Diyabetik sıçanlarda, PMF'nin anti hiperglisemik etkisinin temel mekanizması dokuların hücre membranlarındaki PMF kaynaklı değişikliklerle dokulardaki glikoz alımının modülasyonu olabilir. (10).

Bu arada, STZ enjeksiyonundan hemen sonra kan şekeri seviyesi yükseldi, ilk haftada oldukça yüksek bir seviyeye ulaştı ve sonra yaklaşık olarak dengeli bir değerde kaldı. Bu çalışmanın sonuçları, STZ uygulaması sonrası diyabetik sıçanlarda kan glikoz düzeyinin yükseldiği ve vücut ağırlığının düştüğüne ilişkin önceki bulguları doğrulamıştır(149-150).

5.2. Mekanik Eşik ve Termal Latans

Diyabetik nöropatide duyuşal işlev bozukluğuna bağlı olarak ağırlı ve ağrısız uyaranlara karşı duyarlılık değişir (81,140,141). Diyabet hiperglisemiye bağlı olarak duyuşal sinir yapılarında ve işlevlerinde bozulmalara; mekanik allodini ve termal hiperaljezi gibi anormal duyu belirtileri oluşturur. Mekanik allodinide miyelinli A-alfa ve beta liflerin büyük dorsal kök ganglion hücreleri ve miyelinli ince A-delta lifleri, termal hiperaljezide ise myelinsiz C lifleri rol oynar (10,137-139).

mekanikal uyarıcı ile arka pençe çekme eşiği (Mekanik allodini) ve ısı uyaranlarına karşı arka pençe çekme gecikmesini (termal hiperaljezi) içeren nöropatik ağrının davranışsal deneyleri kullanılarak hipersensitivite dikkate alınarak etkinlik değerlendirildi. yaptığımız deneylerde STZ enjeksiyonundan sonra, diyabet olan sıçanlarda mekanik allodini ve termal hiperaljezi gelişti; daha önceki çalışmalarla olduğu gibi, DPN genellikle değişmiş hassasiyetle,

alodini ve hiperaljezi üreterek, hem streptozotosinle indüklenen diyabetik Hayvan modellerinde ve hem de diyabetik hastalarda ortaya çıkar.(140,141,151)

Çalışmamızda, PMA'nın K ve D alt gruplarında mekanik eşik değerlerine etkisine ait istatistiksel sonuçlar incelendiğinde şu sonuçlara varıldı, PMA, K alt gruplarında mekanik eşik değerini değiştirmemektedir, PMA, D alt gruplarında mekanik eşik değerlerini artırmaktadır, D5 ve D15 alt gruplarının ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır.

Çalışmamızda, PMA'nın K ve D alt gruplarında termal latans değerlerine etkisine ait istatistiksel sonuçlar incelendiğinde şu sonuçlara varıldı, PMA, K alt gruplarında mekanik eşik değerini değiştirmemektedir, PMA, D alt gruplarında mekanik eşik değerlerini artırmaktadır, D5 ve D15 alt gruplarının ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır.

Kısaca, termal latans ve mekanik eşik değerlerinde, PMA uyarımı, diyabetik sıçanlarda mekanik ve zararlı termal uyaranlara karşı hipersensitivite gelişimini önemli ölçüde engelleidi.

Mert ve ark. 2010 yılında, Streptozotosin (STZ) ile indüklenen akut ve kronik diyabetik sıçanlarda, PMA'nın termal latans ve mekanik eşik değerlerde anlamlı değişikliklere sebep olduğunu bulmuşlar ve PMA'nın diyabette terapötik etkinliğe sahip olabileceğini göstermişlerdir (130). Lei ve ark. Çalışmalarında ise diyabetik sıçanlarda 15 Hz PEMA'nin periferik nöropatik semptomlarını hafiflettiği ve mekanik ve ağrılı termal uyaranlara karşı hipersensitivite gelişimini önemli ölçüde engellediğini gözlemişlerdir (21). PMA uygulamalarının ağrılı diyabetik periferik nöropatili (DPN) hayvan modellerinde yapılan diğer bilimsel araştırmalarda PMA'nın diyabetin sebep olduğu duyuşal anormalliklerin gelişimini önleyebileceği ve tersine döndürebileceği gözlenmiştir (10,21,130).

Manyetik alan tedavisi gören hastaların büyük çoğunluğunda intestinal motor aktivite şikayetleri, ağrının ortadan kalkması ve hastalığın laboratuvar markerlarının normale döndüğü gözlenmiştir ve manyetik alanın juvenil diyabette tedavi amaçlı kullanılabileceği belirtilmiştir (54-57).

5.3. Sitokinler (IL-2, IL-6, TNF- α)

Diyabete bağlı dejeneratif değişikliklerin gelişmesinde konak savunma sistemi hücreleri tarafından mikroorganizmalar ve diğer antijenlere karşı üretilen proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin önemi üzerinde durulmaktadır. Sitokinler, diyabete bağlı nörolojik ve damarsal problemlerin gelişmesinde rol oynayan önemli immun düzenleyicilerdir. Bu inflamatuvar mekanizmaların tip 1 ve tip 2 diyabet gelişiminde anahtar rol oynadıkları belirtilmiştir (99-101). İnterlökin-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-12 ve IL-18 gibi sitokinlerin serum konsantrasyonlarının diyabetik bireylerde sağlıklı bireylere göre daha yüksek düzeylerde bulunduğu ve nöropati, retinopati, nefropati gibi problemlerin oluşmasında etkin rol oynadıkları saptanmıştır (100,103-105). Aktive edilmiş makrofajlar, sinir dokularına nüfuz edebilir ve TNF-alfa, IL-1 β ve IL-6 gibi nöropoetik sitokinler üretebilir ve endotel ve sinir lif hasarına neden olabilir. (144-146). Bu faktörler, mekanik allodini ve termal hiperaljezi gibi duyuşsal anormalliklerin başlatılmasına ve ilerlemesine katkıda bulunurlar. Daha önceki çalışmalarda diyabetik hayvanların omurilik ve siyatik sinirlerinde TNF-alfa ve IL-6 seviyeleri belirgin şekilde artmıştır (143,147).

Çalışmamızda 5 Hz ve 15 Hz frekanslı PMA uygulanan K ve D grubunda bulunan sıçanların Kan sitokin seviyelerinden IL-2 ve IL-6 pg/ml cinsinden ölçüldü ve PMA, IL-2 ve IL-6 seviyelerini K gruplarında yükseltti. D Grupların PMA etkisiyle IL-2 düşerken, IL-6 yükselmektedir. PMA, K alt gruplarında TNF- α seviyesini değiştirmede fakat D alt gruplarında biraz yükseltti. Ama tüm bu sonuçlarda SEM değerleri çok yüksek olduklarından alt gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulundu.

Düşük frekanslı PMA'nın proinflamatuvar / anti-inflamatuvar sitokin oranındaki azalmaya etkisi, düşük frekanslı PMA'nın anti-inflamatuvar ve antinosiseptif etkilerini gösterebilir. Monosit ve makrofajlar tarafından üretilen IL-10 güçlü bir anti-inflamatuvar sitokindir ve aktive makrofajlar ile proinflamatuvar sitokinlerin sentezini engeller. Birçok çalışmada, spinal kord proinflamatuvar sitokin aktivitelerinin inhibisyonu ve anti-inflamatuvar sitokinlerin artışının ağrı modellerinde hiperaljeziyi azalttığı gösterilmiştir (10,142,143).

PMA, bağışıklık sistemi hücrelerinden salınan opioidler, immün sistemi

ve diğer hücrelerinden sitokinlerin salınmasını modüle edebilir. Ayrıca, daha önceki çalışmalar, zamana bağlı olarak değişen manyetik alanların endojen opioid sistemini modüle edebildiğini ve ağrıdan kurtulma etkilerinin endojen opioid sisteminin aktivasyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (10). Proinflamatuvar sitokin üretimi ve salınması bir opioid aracılı azaltılması, PMA'ile indüklenmiş terapötik etkiye katkıda bulunabilir.

Diyabetle birlikte ortaya çıkan hiperglisemi sistemik inflamasyonu tetikler ve bu süreçte proinflamatuvar sitokinlerden interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör- α 'nın (TNF- α) kilit rolü vardır. IL-6 aracılı reaksiyonlar inflamatuvar yanıtın kronikleşmesinde görev aldığı gibi monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) sekresyonunu stimüle ederek mononükleer hücre infiltrasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (106). Ayrıca IL-6 ve TNF- α sitokinlerin hepatositlerde ve adipoz dokuda insülin direnci açısından provokatör rol oynamaktadır. Bu nedenle diyabetle birlikte artan proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-6 ve IL-8 büyük önem taşımaktadır (107-112).

IL-2 üretimi, IL-2 reseptör ekspresyonu ve IL-2'ye yanıt içeren IL-2 sistemi, otoimmün olaylarla ilişkilidir. Otoimmün olaylar da dahil olmak üzere immünolojik anormalliklerin T1D patogenezine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. T1D 'de IL-2 sistemi içinde CD4-pozitif T lenfositleri tarafından IL-2 üretimi seçici olarak bozuk olduğu düşünülmektedir (152). T1D 'de yetersiz IL-2 üretimi bildirilmiştir ancak nedeni aydınlatılmamıştır. T lenfositleri, T1D patogenezinde rol oynar (153, 154).

IL-2, TH1 lenfositinden türetilen sitokin, şu anda T1D etyopatogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. IL-2 reseptörlerini eksprese eden aktive T lenfositleri, prediyabetik dönemde, teşhiste ve hastalığın başlangıcından birkaç ay sonra periferik kanda artmış seviyelerde bulunur, ancak hastalığın patogenezindeki rolü bilinmemektedir (155). Değişken sonuçlu daha önceki çalışmalarda, T1D'li hastalarda IL-2 düzeylerinin arttığı, azaldığı veya değişmediği bulundu (152,156,157). Bu farklılıklar, farklı metabolik durumun ve / veya otoimmün prosesin farklı bir aşamasının bir sonucu olabilir (158).

IL-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine

olup, akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur (120,122,123).

IL-6, B lenfositlerinin immünglobulin salınımı için bir kofaktör olarak rol oynar. Yani B lenfositlerinin ayrışım sıralamasının geç dönemlerinde B lenfositleri için büyüme faktörü olarak rol oynar. Benzer şekilde malign plazma hücreleri için de (plasmositoma ya da myelom) büyüme hücresi rolü oynar ve kendi kendine büyüyen plazmasitom hücreleri otokrin büyüme faktörü olarak IL-6'yı salgılar. İn-vitro çalışmalarda, IL-6'nın T hücreleri ve timositlerin ko-stimulatörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir. IL-6 diğer sitokinlerle birlikte kemik iliği hemopoetik ana hücreleri için erken dönemde büyüme ko-faktörü olarak etki göstermektedir (125,126) Tuttle ve ark. (2004) kardiyovasküler hastalıklı Tip 2 diyabetli kadınlarda, sağlıklı kadınlara göre anlamlı şekilde IL-6 seviyelerinin arttığını gözlemlemişler ve kardiyovasküler hastalıklı Tip 2 diyabetli kadınlarda IL-6 seviyesindeki artışın, diyabetogenezin bir yansıması olabileceğini ve bu durumun ateroskleroz için risk faktörü olacağı rapor edilmiştir (127). T lenfositlerin hücresel kaynağı, lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. Antijen ile uyarılmış T lenfosit, natürel killer (NK) ve mast hücreleri tarafından da sentezlenir. T ve NK hücreleri de interferon- γ (IFN- γ) sentezleyerek TNF- α salınımını artırır. İki farklı TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (orijinal olarak kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin) dir (98,119,123,124).

5.4. İnsulin

Otoimmün diyabet olarak da bilinen Tip 1 diyabet, pankreasın langerhans adacıklarının β hücrelerinin haraplanması sonucu yetersiz insülin üretiminden kaynaklanmaktadır. Hastalık, adacıklarda inflamatuvar infiltratlarla birlikte kan glikozu homeostazı kaybı ile de karakterizedir.

Çalışmamızda 5 Hz ve 15 Hz frekanslı PMA uygulanan K ve D grubunda bulunan sıçanların kan serum İnsülin seviyelerinde dalgalanmalar çok büyüktür. D grubunda insülin seviyesi K grubuna göre düşük. Fakat anlamlı farklar saptanamadı. PMA insülin seviyesini biraz yükseltse bile SEMlerin

büyük olması nedeniyle farklar istatistiksel olarak anlamsızdır.

İnsanlarda tedavi amaçlı kullanılan 10 Hz frekanslı, 1,8-3,8 mT şiddetinde, dikdörtgen dalga formunda manyetik alan etkisine günde 30 dakika 1,3,6,9 ve 14 gün bırakılan sıçanlarda, endoplazmik retikulumun ve golgi cisimciğinin genişlediği, β hücrelerinin histolojik kesitlerinde de değişiklikler meydana geldiği bulunmuştur. Proinsülinin insüline transformasyonundan sonra veziküller sitoplazmaya taşınır ve karakteristik insülin granülleri oluşur. Granüllerin etrafında “özel granül” adı verilen veziküllerin, manyetik alanın etkisinde kalan β hücrelerinde büyük miktarda insülin birikmesinden kaynaklanmış olabileceğini belirtilmiştir (37). Ayrıca golgi cisimciğinin ve endoplazmik retikulumun önemli derecede genişlemesi, küçük veziküller halinde insülinin proinsülin olarak depolanması ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür (38).

Pankreas β hücrelerinde görülen, elektron içermeyen bu veziküllerin insülin granüllerinin salınımından sonra hormon salınımının yoğunlaştığına işaret edebileceği savunulmuştur (37,38). Sonuç olarak manyetik alan parametrelerine bağlı olarak (şiddet, süre, biçim) pankreatik adacıkların β hücrelerinde geri dönüşümlü olarak yapısal değişikliklere, insülinin salınımında ve sentezinde artışa sebep olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca uzun süre elektromanyetik alanın etkisine bırakılan sıçanların kanlarında, manyetik alanın alfa amilaz ve lipaz aktivitesinde önemli değişikliklere sebep olmadan asiner hücrelerin mitokondrilerinde ve düzgün olmayan endoplazmik retikulumunda geri dönüşümlü olarak yapısal değişikliklere sebep olduğu da gözlenmiştir (37,38).

Elektromanyetik alanın karbohidrat metabolizması üzerine etkisi ve pankreatik hormonların salınımı ve pankreasın hormonal aktivitesini stimüle eden en önemli faktörlerden biri olan vegetatif sinir sisteminin parasempatik bölümün aktivasyonu ile indirekt ilgili olabileceğini de savunmuşlardır (37). İnsülin salınımını etkilediği düşünülen diğer mekanizma ise manyetik alanın sellüler transmitter sistemini (cAMP, albumin kinazlar ve Ca^{2+} iyonları) etkilemesidir (92-95).

Deneysel diyabetik sıçanlarda düşük frekanslı PMA'nın hiperglisemi üzerine farklı etkilerinin olması uygulanan PMA farklı frekans, şiddet, süre ve yöne bağlı olabilir (132).

Çalışmamızda 5 ve 15 Hz PMA uygulamalarının kilo kaybı hızının ve kan glukoz seviyesinin azalmasında etkili olacağı görülmedi ,ama diyabetik nöropatinin sebep olduğu duyuşsal anormalliklerin gelişimini zayıflattığını (mekanik eşik,termal latans) gözlemledik , TNF-alfa inhibe ettiğı, IL-6 ve insülin düzeylerini arttırdığını gösterilmiştir. İnvaziv olarak uygulanan bu düşük frekanslı PMA uygulamalarının diyabetin sebep olduğu fizyolojik ve nöropatik anomalilere (mekanik allodini ve termal hiperaljezi gibi) pozitif etkileri hiperglisemi ve nöral dokuya bağışıklık kazandıran proteinlerle ilişkili olabilir.

Özetle, bugünkü çalışmamızın sonuçları, PMA ile yapılan tedavinin DPN için hayvan modellerinde gözlenen anormalliklerin gelişmesini engelleyebileceğini göstermektedir ve PMA'nin doğrudan düzeltici etkileri olabileceğı düşünölmektedir, DPN'nin tedavisi için non-invaziv bir terapötik araç olabilir. Fakat PMA'nın etki mekanizması hala belirsizdir. Fakat PMA'nın etki mekanizması hala belirsizdir. PMA 'nın tedavi edici etkilerini onaylamak için DPN üzerinde daha fazla araştırma gerekmektedir.

Bununla birlikte, PMA 'nin DPN üzerindeki spesifik mekanizmalarını aydınlatmak ve PMA 'nin klinik uygulama için uygulanabilirliğini teyit etmek için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKÇA

1. **Imperatore G, Knowler WC, Pettitt DJ, Kobes S, Bennett PH, et al.** Segregation analysis of diabetic nephropathy in Pima Indians. *Diabetes*, 2000; 49: 1049–1056.
2. **Raine AE**, Epidemiology, development and treatment of end-stage renal failure in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients in Europe. *Diabetologia*, **1993**; 36: 1099–1104.
3. **Sima AA, Kamiya H**, Diabetic neuropathy differs in type 1 and type 2 diabetes. *Ann N Y Acad Sci*, **2006**;1084: 235–249.
4. **Jensen TS, Backonja MM, Hernandez JS, Tesfaye S, Valensi P, et al.** New perspectives on the management of diabetic peripheral neuropathic pain. *Diab Vasc Dis Res*, **2006**; 3: 108–119.
5. **Rondon LJ, Privat AM, Daulhac L, Davin N, Mazur A, et al.** Magnesium attenuates chronic hypersensitivity and spinal cord NMDA receptor phosphorylation in a rat model of diabetic neuropathic pain. *J Physiol*, **2010**; 588: 4205–4215.
6. **Sator-Katzenschlager SM, Schiesser AW, Kozek-Langenecker SA, Benetka G, Langer G, et al.** Does pain relief improve pain behavior and mood in chronic pain patients? *Anesth Analg*, **2003**; 97: 791–797.
7. **Schmader KE**. Epidemiology and impact on quality of life of postherpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy. *Clin J Pain*, **2002**; 18: 350–354.
8. **Price SA, Dent C, Duran-Jimenez B, Liang Y, Zhang L, et al.** Gene transfer of an engineered transcription factor promoting expression of VEGF-A protects against experimental diabetic neuropathy. *Diabetes*, **2006**; 55: 1847–1854.
9. **Ziegler D**. Treatment of diabetic neuropathy and neuropathic pain: how far have we come? *Diabetes Care*, **2008**; 31 Suppl 2: S255–261.
10. **Mert T, Gisi G, Celik A, Baran F, Uremis M.M, Gunay I**, Frequency-dependent effects of sequenced pulsed magnetic field on experimental diabetic neuropathy. *International Journal of Radiation Biology*, October **2015**; 91(10): 833 –842
11. **Farmer KL, Chengyuan L, Dobrowsky RT**. Diabetic peripheral neuropathy: Should a chaperone accompany our therapeutic approach? *Pharmacolog Rev*, **2012**; 64: 880 – 900.
12. **Gangadhar M, Mishra RK, Sriram D, Yogeewari P**. Future directions in the treatment of neuropathic pain: A review on various therapeutic targets. *CNS Neurolog Disorders – Drug Targets*, **2014**; 13 : 63 – 81
13. **Szyborska-Kajane A, Strzelczyk JK, Karasek D, Rawwash HA, Biniszkiewicz T, et al.** Impact of low-frequency pulsed magnetic fields on defensin and CRP concentrations in patients with painful diabetic polyneuropathy and in healthy subjects. *Electromagn Biol Med*, **2010**; 29: 19–25.
14. **Wrobel MP, Szyborska-Kajane A, Wystrychowski G, Biniszkiewicz T, Sieron-Stoltny K, et al.** Impact of low frequency pulsed magnetic fields on pain intensity, quality of life and sleep disturbances in patients with painful diabetic polyneuropathy. *Diabetes Metab*, **2008**; 34: 349–354.

15. Walker JL, Evans JM, Resig P, Guarnieri S, Meade P, et al. Enhancement of functional recovery following a crush lesion to the rat sciatic nerve by exposure to pulsed electromagnetic fields. *Exp Neurol*, **1994**; 125: 302–305.
16. Mert T, Gunay I, Gocmen C, Kaya M, Polat S. Regenerative effects of pulsed magnetic field on injured peripheral nerves. *Altern Ther Health Med*, 2006; 12: 42–49.
17. Macias MY, Battocletti JH, Sutton CH, Pintar FA, Maiman DJ. Directed and enhanced neurite growth with pulsed magnetic field stimulation. *Bioelectromagnetics*. **2000**; 21: 272–286.
18. Kim S, Im WS, Kang L, Lee ST, Chu K, et al. The application of magnets directs the orientation of neurite outgrowth in cultured human neuronal cells. *J Neurosci Methods*, **2008**; 174: 91–96.
19. Tasset I, Medina FJ, Jimena I, Aguera E, Gascon F, et al. Neuroprotective effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on a Huntington's disease rat model: effects on neurotrophic factors and neuronal density. *Neuroscience*, **2012**; 209: 54–63.
20. Brill V, England J, Franklin GM, Backonja M, Cohen J, et al. Evidencebased guideline: Treatment of painful diabetic neuropathy: report of the American Academy of Neurology, the American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology*, **2011**; 76: 1758–1765.
21. Lei T, Jing D, Xie K, Jiang M, Li F, et al. Therapeutic Effects of 15 Hz Pulsed Electromagnetic Field on Diabetic Peripheral Neuropathy in Streptozotocin-Treated Rats. *PLoS ONE*, **2013**; 8(4): e61414.
22. SEVGİ L. Çevremizdeki Elektrik ve Manyetik Alanlar. *Endüstriyel Otomasyon Dergisi*. Şubat **2005**.
23. Serway R. A, And Beichner R. J. Physics for Scientists and Engineers. *Kentucky: Thomson Learning*. (ed.) **2002**.)
24. Boutet E. Onda electromagnetica: una oscilacion junto al campo electrico y al campo magnetico para untar, vibrante modelo de dipolo. **2007**.
25. Serway R. A, V. Chris. College Physics, Brooks/Cole Pub Co. **2011**.
26. Knight J, Schlager N. Real-life physics, Detroit, MI [u.a.], Gale Group. **2002**.
27. Gorbunov V, Fuchigami N, Stone M, et al. Biological thermal detection: micromechanical and microthermal properties of biological infrared receptors. *Biomacromolecules*, **2002**; 3, 106-15.
28. Jones B. S, Lynn W. F, Stone M O. Thermal modeling of snake infrared reception: evidence for limited detection range. *J Theor Biol*. **2001**; 209, 201-11.
29. Halliday D, Resnick R, Walker J. Fundamentals of Physics Extended, John Wiley & Sons. **2010**.
30. Rhodes, Greece. *Proceedings. Biological Effects of EMFs*. 2nd International Workshop. Volume 1. **2002**.
31. Kos, Greece. *Proceedings. Biological Effects of EMFs*. 3rd International Workshop. Volume 1.2, **2004**.

32. **Ufuktepe Y, Bozdemir S.** Elektromanyetik Teori. Ç.Ü. Basımevi. Mart **1997**.
33. **Javor E. R, Anderson T.** (Year). Design of a Helmholtz coil for low frequency magnetic field susceptibility testing. In: Electromagnetic Compatibility. *1998 IEEE International Symposium on*, **1998**; 912- 917 vol.2.
34. **Yamazaki K, Fujinami H, Shigemitsu T, Nishimura I.** Low stray ELF magnetic field exposure system for in vitro study. *Bioelectromagnetics*, **2000**; 21, 75-83.
35. **Hellwig, A.** Helmholtz coils. In: HELMHOLTZ_COILS. PNG (ed.) Povray 3.5, Corel Draw 11 and The Gimp 2.2. Wikipedia. **2005**.
36. **Wiltschko R, Wiltschko W.** Magnetoreception. *Bioessays*, **2006**; 28, 157-68.
37. **Laiti-Kobierska A, Cieslar G, Sieron A and Grzybek H.** Influence of alternating extremely low frequency ELF magnetic field on structure and function of pancreas in rats. *Bioelectromagnetics*, **2002**; 23;49-58.
38. **Tartakoff A. M.** The Golgi complex: crossroads for vesicular traffic. *Int Rev Exp Pathol*, **1980**;22: 227-251.
39. **Gorczyńska E, Wegrzynowicz R.** Glucose homeostatis in rats exposed to magnetic fields. *Invest Radiol*, **1991**; 26: 1095-1100.
40. **Bellossi A, Pouvreau-Quillien V, Rocher C, Reulloux M.** Effect of pulsed magnetic fields o triglyceride and cholesterol levels in plasma of rats. *Panminerva Med*, **1998**; 40: 276-279.
41. **Bellossi A, Pauvreau-Quillien V, Rocher C, Ruelloux M.** Effect of pulsed magnetic fields on cholesterol and tryglyceride levels in rats study of field intensity and length of exposure. *Z. Naturforsch*, **1996**; 51 c:603-606.
42. **Cherysheva ON.** Effect of alternating magnetic field of industrial frequencey on the lipid composition of the rat liver. *Ukrainskii Biokhmicheskii Zhurnal*, **1987**; 59:91-4.
43. **Beisher DE, Grisett JD, Mitchell RE.** Exposure of man to magnetic fields alternating at extremely low frequency. *Naval Aerospace Medical Research Laboratory*, **1972**.
44. **Beisher DE, Brehl RJ.** Search for effects of 45 Hz magnetic field on liver triglycerides in mice. *Res Rep NU NAMRL*, **1975**;1197.
45. **Manas RL, Angulo J, Peiro C, Llargo JL, Ferrer AS, Doriga PL, Ferrer CFS.** Endothelial dysfunction and metabolic control in streptozotocin-induced ndiabetic rats. *Br J Pharmacol*, **1998**; 123:1495-1502
46. **Mayhan WG, Irvine SD, Sharpe GM.** Constrictor responses of resistance arterioles during diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **1999**; 44:147-156.
47. **Pieper GM, Langenstroer P, Siebeneich W.** Diabetic-induced endothelial dysfunction in rat aorta: role of hydroxyl radicals. *Cardiovasc Res*, **1997**; 24:145-156.
48. **Kobayashi T, Kamata K.** Effect of chronic insulin treatment on NO production and endotheliumdependent relaxation in aortea from established STZ-inducer diabetic rats. *Atherosclerosis*, **2001**; 155:313-321.

49. **Fahim M, Hussain T, Musatafa SJ.** Relaxation of rat aorta by adenosine in diabetes with and without hypertension: role of endothelium. *Eur J Pharmacol*, **2001**; 412:51-59.
50. **Manas RL, Angulo J, Peiro C, Llergo JL, Ferrer AS, Doriga PL, Ferrer CFS.** Endothelial dysfunction and metabolic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol*, **1998**; 123:1495-1502.
51. **Karasu Ç.** Time course of changes in endothelium-dependent and –independent relaxation of chronically diabetic aorta: role of reactive oxygen species. *Eur J Pharmacol*, **2000**; 392:163-173.
52. **Peregrin AT, Guy GR.** Recovery of microvascular responses during streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Pharmacol*, **2001**; 414:63-70.
53. **Bassett C.** Beneficial effects of electromagnetic fields. *Cell Biochem*, **1993**; 51(4):387-93.
54. **Tabrah F.** Bone density changes in osteoporosis-prone women exposed to pulsed electromagnetic fields (PEMF). *J Bone Miner Res*, **1990**; 5(5):437-442.
55. **Bassett C.** Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields (PEMFs). [Review] [330 refs]. *Crit Rev Biomed Eng* **1989**;17(5):451-529.
56. **Bassett C et al.** Treatment of therapeutically resistant non-unions with bone grafts and pulsing electromagnetic fields. *J Bone Joint Crawford AH* **1986** Neurofibromatosis in children. *Acta Orthop Scand Suppl* 218:1-60.
57. **Grünner O.** Contemporary views on the evaluation of the therapeutic action of magnetic fields. *Cœ as Lek Cœ esk*, **1987**; 126:405-09.
58. **Akgün K.** Manyetik alan tedavisi. Sarı H, Tüzün Ş, Akgün K (Eds): Hareket Sistemi Hastalıklarında Fiziksel Tıp Yöntemleri. *Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul*, **2002**; 65-72.
59. **Nazlıkul H.** Magnetoterapi (Manyetik alan tedavisi). Nazlıkul H (Eds): Detoksu keşfet. *Alfa basım yayım dağıtım, İstanbul*, **2012**; 291-294.
60. **Alper S. Akupunktur.** Lazer ve Magnetoterapi. Beyazova M, Kutsal YG (Eds): Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. *Güneş Kitabevi, Ankara*, **2000**; 820- 830.
61. **Birla S. G, et Hemin C.** Magnet-Therapie: Wirkungsweise und Anwendung von Heilmagneten Taschenbuch – 15. März **2005**.
62. Gesundheit und Magnetfeldtherapie Biomag. www.ams-ag.de.
63. **Hund F,** Materie als Feld, *Springer-Verlag*, **1954**.
64. **Nazlıkul H.** Tamamlayıcı tıbbi keşfet. Nazlıkul H. (Editör): Hayatı keşfet anti aging yaşam kılavuzu. *Alfa basım yayım dağıtım, İstanbul*, **2013**; 457-536.
65. **Navratil L, Hlavaty V, Laaandsingerova A:** Possible therapeutic applications of pulsed magnetic fields. *Cas. Lek. Cesk.* **1993** Oct 11; 132 (19):590-594 – 1.
66. **Li S et al.** Electromagnetic fields for treating osteoarthritis. *Cochrane Reviews*, **2013**; Issue 12.

67. **Quittan M, Schuhfrid O, Wiesinger GF, Fialka – Moser V.** Clinical effectiveness of magnetic field therapy-a review of the literature. *Acta Med Austriaca*. **2000**; 27(3):61-8.
68. **Ludwig W.** Influence of alternating magnetic fields. **1976**.
69. **National Diabetes Data Group:** Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes*, **1979**;18:1039-42.
70. **Yenigün M.** Her Yönü İle Diabetes Mellitus. *Haseki Hastanesi Vakfı Yayını* II. **1995**:15.
71. **Expert Committee.** Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **1997**; 20(7), 1183-1197.)
72. **Hatemi H.** Diabetes Mellitus Tarihçesi. *Aktüel Tıp Dergisi*, **1996**;7:497-499.
73. **HALİFEOĞLU İ, KARATAŞ F, ÇOLAK R, CANATAN H, TELO S.** Tip 2 Diyabetik Hastalarda tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. *Fırat Tıp Dergisi*, **2005**;10(3):117-12).
74. **KAHN CR, WEIR GC, KING GL, JACOBSON AM, MOSES AC, SMITH RJ.** Joslin's Diabetes Mellitus. 14th ed. Çeviri editörü: Prof. Dr. Volkan Yumuk, **2008**.
75. **American Diabetes Association.** Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care January*, **2003**; (suppl 1):26.
76. **Sacks D.** Karbonhidratlar. In: Burtis CA, Ashwood ER Tietz Fundamentals of clinical chemistry, Sacks D. Fifth edition.**2005**; p.427-462.
77. **TANAKA S, KOBAYASHI T, TOMURA H, OKUBO M, NAKANISHI K, TAKEDA J, MURASE T.** A novel dominant-negative mutation of the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in Japanese early-onset type 2 diabetes. *Horm Metab Res*. **2000**; Sep;32(9):373-7.
78. **American Diabetes Association, Alexandria, Virginia.** Originally approved 1997. Modified in 1999 based on the Proceedings of the Fourth International Workshop Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 21 **1998** ;(2):B1 167.
79. **TURNER RC, CULL CA, FRIGHI V, HOLMAN RR.** Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA*. Jun **1999**; 2;281(21):2005-12.
80. **Aring A.M, Jones D.E, Falko J.M.** Evaluation and prevention of diabetic neuropathy, *Am Fam Physician*, **2005**; 1;71, 2123-2128.
81. **Thomas P.K.** Classification, differential diagnosis and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes*, **1997**; 46, 54–57.
82. **Younger DS, Bronfin L.** Overview of Diabetic Neuropathy. *Seminers in Neurology*, **1996**; 16: 107–113.
83. **Said G.** Diabetic Neuropathy: on updata. *J Neurol*, **1996**; 243: 431–440.
84. **Bhadada S.K, Sahay R.K, Jyotsna V.P, Agrawal J.K.** Diabetic neuropathy: Current concepts, *J Indian Acad Clin Med*, **2001**; 2, 305-318.

85. **Said G.** Diabetic neuropathy-a review. *Nat Clin Pract Neurol*, **2007**; 3, 331-340.
86. **Vinik A.I, Erbas T.** Neuropathy. In: Ruderman N, editors. Handbook of Exercise in Diabetes. 2nd ed., Alexandria; *American Diabetes Association*, **2002**; 463-96).
87. **Shah S.J.** Rehabilitation in Diabetic Neuropathy. *Int J Diab Dev Countries* **2003**; 23:230-3.
88. **Conference Proceedings:** Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. *Neurology*, **1992**; 42:1823-39.
89. **Crespi L.J.** Diabetic peripheral neuropathic pain. New Consensus Treatment Guidelines Issued. *Pharmacy Today*, **2006**; 12:6-12.
90. **Boulton A.J.M, Malik R.A.** Prevention and treatment of diabetes and its complications: Diabetic neuropathy. *Med Clin N Am*, **1998**; 82:909-29.
91. **Ziegler D.** Polyneuropathy in the diabetic patient update on pathogenesis and management. *Nephrol Dial Transplant*, **2004**; 19:2170-5.
92. **Abbott C.A, Vileikyte L.** Williamson study of the incidence of and predictive risk factors for diabetic neuropathic foot ulceration. *Diabetes Care*, **1998**; 21:1071-5.
93. **Öztürk Y, Altan V.M. and Yıldızoğlu-Arı N.** Effect of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol*, **1996**. Rev., 48(1), 69-112.
94. **Öztürk Y, Altan V.M. and Arı N.** Diabetic complications in experimental models. *Tr.J. of Med. Sci.*, **1998**; 22, 331-341.
95. **Arulmozhi D.K, Veeranjanyulu A. And Bodhankar S.L.** Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian J. Pharmacol.* **2004**; 36(4), 217-221.
96. **Dinarello C.A.** Proinflammatory cytokines. *Chest*. **2000**; 118; 503-508.
97. **Wolf H.F, Rateitschak K.H.** Periodontoloji. Third edition, Ankara, *Palme yayıncılık*. **2007**: 47-50.
98. **Özbal Y.** Temel İmmünoloji. 2. baskı, İstanbul; *Nobel Tıp Kitabevleri*, **2000**.
99. **Foss-Freitas M.C, Foss N.T, Donaldi E.A, Foss M.C.** Effect of metabolic control on interferon- γ and interleukin-10 production by peripheral blood mononuclear cells from type 1 and type 2 diabetic patients. *Braz J Med Biol Res.* **2007**; 40: 671-677.
100. **Kristiansen O.P, Mandrup-Poulsen T.** Interleukin-6 and Diabetes The good, the bad, or the indifferent? *Diabetes*. **2005**; 54: 114-124.
101. **Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, Singh J, Alaveras A, Kalofoutis A.** inflammatory process in type 2 diabetes the role of cytokines. *Annals New York Academy of Science.* **2006**; 1084: 89-117.
102. **Kristiansen O.P, Mandrup-Poulsen T.** Interleukin-6 and Diabetes The good, the bad, or the indifferent? *Diabetes*. **2005**; 54: 114-124.
103. **Blazhev A, Nicoloff G, Petrova C, Jordanova-Laleva P.** Serum levels of interleukin 12 and interleukin 18 in diabetic children. *Diabetologia Croatica.* **2006**; 35: 3-6.

104. **Mironczuk K, Okruszko A, Wawrusiewicz-Kurylonek N, Kretowski A, Kinalska I, Górski M.** Interleukin 18 and sICAM-1 serum levels in families with type 1 diabetes mellitus. *Annales Academiae Medicae Bialostocensis.* **2005**; 50: 151-154.
105. **Fujita T, Ogiwara N, Kamura Y, Satomura A, Fuke Y, Shimizu C, Wada Y, Matsumoto K.** Interleukin-18 contributes more closely to the progression of diabetic nephropathy than other diabetic complications. *Acta Diabetol.* **2010**; 1007: 1-7.)
106. **Gabay C.** Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Research & Therapy.* **2006**;8 Suppl 2; S3.
107. **Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Mooney RA.** Interleukin-6 Induces Cellular Insulin Resistance in Hepatocytes. *Diabetes.* **2002**;51(12); 3391–3399.
108. **Rotter V, Nagaev I, Smith U.** Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor- α , overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *The Journal of Biological Chemistry.* **2003**;278(46); 45777–45784.
109. **Hotamisligil G.S, Spiegelman B.M.** Tumor necrosis factor- α : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes,* **1994**; 43, 1271–1278.
110. **Hotamisligil GS, Arner P, Caro J.F, Atkinson R.L. AND Spiegelman B.M.** Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **1995**; 95, 2409–2415.
111. **Roytblat L, Rachinsky M, Fisher A, Greemberg L, Shapira Y, Douvdevani A, Gelman S.** Raised interleukin-6 levels in obese patients. *Obes. Res.* **2000**; 8, 673–675.
112. **Strackowski M, Dzienis-Strackowska S, Stepień A, Kowalska I, Szelachowska M. And Kinalska I.** Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor- α system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2002**; 87, 4602–4606.
113. **Gwozdziejczová S, Lichnovská, Yahia RB, Chlup R, Hřebíček J.** TNF- α in the development of insulin resistance and other disorders in metabolic syndrome. *Biomed Papers.* **2005**; 149(1): 109-117.
114. **Kabayama K, Sato T, Kitamura F, Uemura S, Kang BW, Igarashi Y, Inokuchi J-İ.** TNF α -induced insulin resistance in adipocytes as a membrane microdomain disorder: *Involvement of ganglioside GM3 Glycobiology.* **2005**; 15: 21-29.
115. **Choudhary N, Ahlawat RS.** Interleukin-6 and C-Reactive protein in pathogenesis of diabetic nephropathy new evidence linking inflammation, glycemic control, and microalbuminuria. *IJKD.* **2008**; 2: 72-79.
116. **Zipris D, Karnieli E.** A single treatment with IL-4 via retrovirally transduced lymphocytes partially protects against diabetes in BioBreeding (BB) rats. *JOP J Pancreas.* **2002**; 3: 76-82.
117. **Ihm C-G, Park JK, Kim HJ, Lee TW, Cha DR.** Effects of high glucose on interleukin-6 production in human mesangial cells. *J Korean Med Sci.* **2002**; 17: 208-212.
118. **Andreozzi F, Laratta E, Procopio C, Hribal MA, Sciacqua A, Perticone M, Miele C, Perticone F, Sesti G.** Interleukin-6 impairs the insulin signaling pathway, promoting

production of nitric oxide in human umbilical vein endothelial cells. *Molecular and Cellular Biology*. **2007**; 27: 2372-2383.

119. **Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines.** In: Stites DP, Terr AI, ed. *Basic and Clinical Immunology*, **1994**:105-123.
120. **Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS.** Cytokines. Cellular and Molecular Immunology Philadelphia: *WB Saunders Company*. **1994**: 240-261.
121. **Smith KA.** Low-dose IL-2 immunotherapy: *Blood*, **1993**; 81: 1402.
122. **Yücel A.** Bakteri, Parazit ve Funguslara Karşı immün Yanıt. içinde: Ustaçelebi S., editörler. Temel ve klinik mikrobiyoloji.1.baskı. *Ankara: Günes Kitabevi*, **1999**; 267-289.
123. **Kılıçturgay K.** immünoloji. 3 baskı. *Bursa: Nobel&Günes yayınevi*; **2003**.
124. **Nororiha IL, Niemir Z, Stein H, Waldher R.** Cytokines and growth factors in renal disease: *Nephrol Dial Transplant*, **1995**; 10: 775-786.
125. **Horii Y, Muraguchi A, Iwano M.** involvement of IL -1 in mesangial proliferative glomerulonephritis: *J Immunol*, **1989**; 143: 3949-3955.
126. **Stahl RAK.** Chemoattractive cytokines (Chemokines) and immune renal injury: *Nephrol Dial Transplant* **1995**; 10:307-319.
127. **Tuttle HA, Gorman GD, Goldman S, Copeland JG, Mcdonagh PF.** Proinflammatory cytokines are increased in type 2 diabetic women with cardiovascular disease. *Journal of Diabetes and Its Complications*, **2004**; 18:343– 351.
128. **Hilton DI, Phillipss RD.** Growth and metabolism of rodents exposed to 60 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics*, **1981**; 2:281-289.
129. **Wuarin-Bierman L, Zahnd GR, Kaufmann F, Burcklen L, Adler J.** Hyperalgesia in spontaneous and experimental animal models of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, **1987**; 30: 653–658.
130. **Mert T, Gunay I, Ocal I.** Neurobiological effects of pulsed magnetic field on diabetes-induced neuropathy. *Bioelectromagnetics*, **2010**; 31: 39 – 47.
131. **Malcangio M, Tomlinson DR.** A pharmacologic analysis of mechanical hyperalgesia in streptozotocin/diabetic rats. *Pain*, **1998**; 76: 151–157.
132. **Pieber K, Herceg M, Paternostro-Sluga T.** Electrotherapy for the treatment of painful diabetic peripheral neuropathy: a review. *J Rehabil Med*. **2010**; 42: 289–295.
133. **Brownlee M.** The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*, **2005**; 54: 1615.
134. **Yagihashi S, Yamagishi S, Wada R.** Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy: Correlation with clinical signs and symptoms. *Diabetes Res Clin Pract*, **2007**; 77: 184– 189.
135. **Yunhu Pan, Yushu Dong, Wugang Hou, Zhiyu Ji, Kailin Zhi, Zhongmin Yin, HuaWen, and Yitan Chen.** Effect of PEMF on microcirculation and angiogenesis in a model of acute hindlimb ischemia in diabetic rats. *Bioelectromagnetics*, **2013**; 34:180-188.

136. **Iran Goudarzi, Sohrab Hajizadeh, Mahmoud E. Salmani, and Kataneh Abrari.** Pulsed Electromagnetic Fields Accelerate Wound Healing in the Skin of Diabetic Rats. *Bioelectromagnetics*, **2010**, 31:318-323.
137. **Mert T, Gunay I, Ocal I, Guzel AI, Inal TC, Sencar L, Polat S.** Macrophage depletion delays progression of neuropathic pain in diabetic animals. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*, **2009**;379: 445– 452.
138. **Ramos KM, Jiang Y, Svensson CI, Calcutt NA.** Pathogenesis of spinally mediated hyperalgesia in diabetes. *Diabetes*, **2007**; 56 1569 – 1576.
139. **Skundric DS, Lisak RP.** Role of neuropoietic cytokines in development and progression of diabetic polyneuropathy: From glucose metabolism to neurodegeneration *Experim Diabetes Res*, **2003**; 4: 303– 312.
140. **Calcutt NA.** Experimental models of painful diabetic neuropathy. *J Neurol Sci*, **2004**; 220: 137–139.
141. **Fox A, Eastwood C, Gentry C, Manning D, Urban L.** Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in the rat. *Pain*, **1999**; 81: 307–316.
142. **Moalem G , Tracey DJ .** Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain. *Brain Res Rev*, 2006; 51: 240– 264.
143. **Scholz J , Woolf CJ .** The neuropathic pain triad: Neurons, immune cells and glia . *Nature Neurosci*, **2007**; 10 : 1361 – 1368 .
144. **Satoh J , Yagihashi S , Toyota T .** The possible role of tumor necrosis factor-alpha in diabetic polyneuropathy . *Experim Diabetes Res*, **2003**; 4 : 65 – 71 .
145. **Sacerdote P , Franchi S , Moretti S , Castelli M, Procacci P , Magnaghi V , Panerai AE .** Cytokine modulation is necessary for efficacious treatment of experimental neuropathic pain . *J Neuroimmune Pharmacol*, **2013**; 8: 202– 211.
146. **Austin PJ , Moalem-Taylor G .** The neuro-immune balance in neuropathic pain: Involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines . *J Neuroimmunol*, **2010**; 229 : 26 – 50.
147. **Gonzalez-Clemente JM , Mauricio D , Richart C , Broch M , Caixas A , Megia A , Gimenez-Palop O , Simon I, Martinez-Requelme A , Gimenez-Perez G , Vendrell J .** Diabetic neuropathy is associated with activation of the TNF-alpha system in subjects with type 1 diabetes mellitus . *Clin Endocrinol*, **2005**;63: 525– 529.
148. **Gordon RT and Gordon D.** Selective resolution of plaques and treatment of atherosclerosis by biophysical alteration of “cellular” and “intracellular” properties. *Medical Hypotheses*, **1981**; 7:217-229.
149. **Hoybergs YM, Biermans RL, Meert TF.** The impact of bodyweight and body condition on behavioral testing for painful diabetic neuropathy in the streptozotocin rat model. *Neurosci Lett*, **2008**; 436: 13–18.
150. **Wuarin-Bierman L, Zahnd GR, Kaufmann F, Burcklen L, Adler J.** Hyperalgesia in spontaneous and experimental animal models of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, **1987**; 30: 653–658.
151. **Thomas PK.** Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes*, **1997**; 46 Suppl 2: S54–57.

- 152. Tomoda T, Kurashige T, Taniguchi T.** Imbalance of the interleukin 2 system in children with IDDM. *Diabetologia*. 1994; 37(5):476–482.
- 153. Kaye WA, Adri MN, Soeldner JS, et al.** Acquired defect in interleukin-2 production in patients with type I diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*. **1986**; 315(15):920– 924.
- 154. Lorini R, Montagna D, Lanfranchi A, et al.** Alterations of in vitro interleukin 1 and 2 in diabetic children. *European Journal of Pediatrics*. **1989**; 148(8):732–734.
- 155. Huang W, Wang DS, Li XY, Wu WZ, Ni GC.** Expression levels of IL-6 mRNA in PBMNCs from patients with IDDM, NIDDM and normals by RT-PCR procedure. *Chinese Medical Journal*. **1993**; 106(12):893–897.
- 156. Shah U, Karch L, Baker L, Zier KS.** Low interleukin-2 synthesis by type 1 diabetics is regulated at the pretranslational level. *Clinical Immunology and Immunopathology*. **1991**; 61(2 pt 1):177–190.
- 157. Roncarolo MG, Zoppo M, Bacchetta R, et al.** Interleukin-2 production and interleukin-2 receptor expression in children with newly diagnosed diabetes. *Clinical Immunology and Immunopathology*. **1988**; 49(1):53–62.
- 158. Kretowski A, Mysliwiec J, Szelachowska M, Brzozowski C, Pietruczuk M, Kinalska I.** In vitro secretion of interleukin 2 and expression of IL-2 receptor in peripheral blood lymphocytes in high risk of insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. **1999**; 47(1):45–49.

ÖZGEÇMİŞ

Mayıs 1981'de İran'da doğdu İlkokulu meryem İlkokulu'nda 1992 yılında, Ortaokul Zeyneb Kobra Ortaokulun 'da 1995 yılında , liseyi Fatemeh Zahra Lisesin'de 1998 yılında ve üniversite öncesi dönemini üniversite öncesi eğitim merkezi merac 'da 1999 yılında tamamladı.

Üniversitede lisans eğitimini fizik bölümünde 1999-2004 yılları arasında Urumiyeh üniversitesi bilimler fakültesin'de tamamladı.

2013 bahar döneminde Çukurova üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

