



T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABETTE  
PULSLU ELEKTROMANYETİK ALANIN  
ANTİOKSİDAN ETKİLERİ**

Hafıza GÖZEN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Can DEMİREL

Gaziantep  
2014

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

**DENEYSEL DİYABETTE PULSLU ELEKTROMANYETİK ALANIN  
ANTIOKSİDAN ETKİLERİ**

**Hafıza GÖZEN**

Tez Savunma Tarihi:

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

**Prof.Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

Bu tez çalışmasının bir "Yüksek Lisans" derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

  
Doç.Dr. Hüseyin KAYA

**Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı**

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Doç.Dr. Can DEMİREL

**Tez Danışmanı**

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**

**Prof.Dr. Cemil SERT**

**Doç.Dr. Can DEMİREL**

**Doç.Dr. Hüseyin KAYA**

**İmzası**



## BEYAN

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



Hafiza GÖZEN

## TEŞEKKÜR

Tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar ki süreçte değerli vaktini ve bilimsel desteğini sunan; insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, birlikte çalışmaktan onur duyduğum Tez Danışmanım Doç. Dr. Can DEMİREL'e, Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Hüseyin KAYA ve Y. Doç.Dr. Ömer Can DEMİRTAŞ'a ,

Tezin biyokimyasal analizlerinin yapılmasında her türlü olanağı sağlayan Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU'na, deney aşamasında desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Tuncer DEMİR'e, biyokimyasal analizlerdeki katkılarından dolayı Müslüm AKAN'a, Mali destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tüm samimiyetleriyle yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma,

Bana her zaman destek olan; değerli aileme, sevgili eşim İbrahim GÖZEN'e, antioksidanlarım Selim ve Gül'e sabır, anlayış ve fedakarlıklarından dolayı,

### **Sonsuz Teşekkürler...**

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF.13.04 nolu projeyle desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	<b>iv</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>vi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
<b>RESİM LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>EKLER</b>	<b>ix</b>
<b>DENKLEMLER LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>1.GİRİŞ</b>	<b>3</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
2.1. Diyabet	4
2.1.1. Patofizyoloji	6
2.1.2. Diyabetin komplikasyonları	9
<b>2.2. Serbest Radikaller</b>	<b>12</b>
2.2.1. Reaktif oksijen türlerinin biyolojik etkileri	13
2.2.2. Diyabet ve oksidatif stres	15
2.2.3. Serbest radikallerin zararlı etkilerinin azaltılması	16
2.2.4. Antioksidanlar ve diyabet	17
<b>2.3. Elektromanyetik Alan</b>	<b>24</b>
2.3.1. Elektromanyetik alanın etki mekanizması	25
2.3.2. Modülasyonlu manyetik alanın biyolojik etkileri	27
2.3.3. Klinikte elektromanyetik alan uygulama yöntemi	27
2.3.4. Pulsu elektromanyetik alan	28
2.3.5. Deneysel elektromanyetik alan uygulama yöntemi	29
2.3.6. Elektromanyetik alan uygulamaları	29
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	<b>37</b>
3.1.Diyabet Oluşturulması	38
3.2. Deney Protokolü	38
3.3. Pulsu Elektromanyetik Alan Uygulamasının Yöntemi	39
3.4. Cerrahi İşlemler	41
3.5. Biyokimyasal Analizler	41

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi	44
<b>4. BULGULAR</b>	<b>45</b>
<b>5.TARTIŞMA</b>	<b>52</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>66</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>68</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>89</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

ADA	Amerikan diyabet birliği
APG	Açlık plazma glikoz testi
CAT	Katalaz
ELF	Aıçak frekans alanları
GSH	Glutasyon
G	Gauss
GHz	Giga hertz
HbA1c	Glukozile hemoglobin
HDL	High density lipoproteins
HF	Yüksek frekans alanları
HO	Hidroksil
HQ	Semikinon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipokloröz asid
HOX	Hipohalöz asid
HT	Hipertansiyon
Hz	Hertz
IDDM	İnsülin bağımlı diabetes mellitus
IL-6	İnterleukin-6
JDS	Japan diabetes society
KAH	Kardiyovasküler
LOOH	Lipid hiroperoksit
LDL	Low density lipoproteins
MDA	Malondialdehid
MPO	Miyeloperoksizdaz
MS	Multipl skleroz
MHz	Megahertz
MW	Mikrodalgalar
mT	Militesla
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NIDDM	İnsülin bağımlı olmayan diabetes mellitus

nNOS	Nitric oxide synthase
NO	Nitrik oksid
NO <sub>2</sub>	Azot dioksit
µm	Mikrometre
µs	Mikrosaniye
NO	Nitrik oksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit anyonu
O <sub>3</sub>	Ozon
OGTT	Oral glukoz tolerans testi
ONOO	Peroksinitrit
OSİ	Oxidative stress index
pcl-gamma1	Phospholipase c-gamma1
PEMA	Pulslu elektromanyetik alan
PEMA-CM	Puls elektromanyetik alan-karmaşık modülasyon
R	Organik radikaller
RCOO	Organik peroksit
RF	Radyo dalgaları
R-NH-X	N-halojenli aminler
ROO	Peroksil
RO	Alkoksil
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotosin
TAS	Total antioksidan düzeyi
TGF-b1	Serum transforming growth factor-beta 1
TOS	Total oksidan düzeyi
WHO	Dünya sağlık örgütü
VLDL	Very low density lipoproteins
VAS	Vizuel analog skala



## TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri	12
Tablo 3.1. Pulsu manyetik alan oluşturmak için kullanılan Helmholtz bobin çiftinin genel özellikleri	39
Tablo 4.1. Deney ve kontrol gruplarında ortalama TAS, TOS, OSİ	45
Tablo 4.2. Deney ve kontrol gruplarında ortalama Thiol-SH, NO, MPO, CAT, GSH, SOD, MDA miktarı	45
Tablo 4.3. Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları yüzdeleri	51

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Glikoz alımı	8
Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum	25
Şekil 3.1. Doku protein düzeyinin saptanmasında kullanılan standart eğri grafiği	42
Şekil 4.1. Deney ve kontrol gruplarında ortalama glutatyon miktarı	46
Şekil 4.2. Deney ve kontrol gruplarında ortalama superoksit dismutaz miktarı	46
Şekil 4.3. Deney ve kontrol gruplarında ortalama katalaz miktarı	47
Şekil 4.4. Deney ve kontrol gruplarında ortalama tiol-sh miktarı	47
Şekil 4.5. Deney ve kontrol gruplarında ortalama nitrik oksit miktarı	48
Şekil 4.6. Deney ve kontrol gruplarında ortalama malondialdehid miktarı	48
Şekil 4.7. Deney ve kontrol gruplarında ortalama miyeloperoksidaz miktarı	49
Şekil 4.8. Deney ve kontrol gruplarında ortalama total oksidan düzeyi	49
Şekil 4.9. Deney ve kontrol gruplarında ortalama total antioksidan düzeyi	50
Şekil 4.10. Deney ve kontrol gruplarında ortalama OSİ (TOS/TAS) oranı	50
Şekil 4.11. Deney süresince sıçanlardaki ağırlık değişimi	51

## RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Deneysel elektromanyetik alan uygulama sisteminin genel görüntüsü 40

## **EKLER**

Ek1. Gaziantep üniversitesi etik kurul raporu

90

## DENKLEMLER LİSTESİ

Denklem 3.1.Oksidatif Stres İndeksi hesaplanmasında kullanılan denklem 43

## ÖZET

### DENEYSEL DİYABETTE PULSLU ELEKTROMANYETİK ALANIN ANTIOKSİDAN ETKİLERİ

**Hafıza GÖZEN**

**Yükseklisans Tezi Biyofizik Anabilimdalı**

**Tez danışmanı : Doç. Dr. Can Demirel**

**Haziran 2014, 89 sayfa**

Deneysel diyabet modelinde pulslu elektromanyetik alanın (PEMA) koruyucu etkileri oksidatif / nitrozatif stres parametreleriyle incelenmiştir. Bu amaçla, deney protokolüne uygun olarak, sıçanlar rastgele kontrol (K; n=8), sham (SPEMA; n=8), diyabet (D; n=8), diyabet+PEMA (D+PEMA; n=8) olmak üzere toplam 4 gruba bölünmüştür. PEMA uygulaması diyabet tanısı konduktan sonra başlayıp günlük 60 dakika olmak üzere 4 hafta D+PEMA grubuna uygulanmıştır. Elde edilen kandan ve karaciğer dokusundan antioksidan parametrelerden Total Thiol-SH, Glutatyon (GSH), Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Total antioksidan düzeyi (TAS), oksidan parametrelerden Nitrik Oksit (NO), Malondialdehid (MDA), Miyeloperoksizdaz (MPO), Total Oksidan Düzeyi (TOS) ölçümleri yapılmıştır. TOS/TAS oranından Oxidative Stress Index (OSİ)'i elde edilmiştir. K grubuna göre SPEMA ve D gruplarında MPO, MDA, NO ve TOS seviyelerindeki artma ile SOD ve TAS seviyelerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0.05). D+PEMA grubunda MPO, MDA, SOD, NO ve TAS seviyelerinin K grubu seviyesine yaklaştığı saptandı. D+PEMA grubunda TOS düzeyindeki artma diğer gruplarla anlamlı farklılık yaratmamıştır. GSH seviyesinin kontrol grubuna göre SPEMA, D ve D+PEMA grubunda düştüğü görüldü (P<0.05). Thiol-SH ve CAT seviyeleri incelendiğinde gruplararası anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. SPEMA ve D grupları OSİ oranına göre karşılaştırıldığında, bu gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Birbirine benzer oranlar K ve D+PEMA grupları karşılaştırıldığında da elde edilmiştir. PEMA'nın TAS, TOS, OSİ, MDA, NO, MPO, SOD ve GSH parametrelerinde etkin olduğunu ve diyabete bağlı hasarda düzenleyici rolünü oksidatif stresi azaltıp antioksidanların artışını destekleyerek ortaya çıkardığını düşünmekteyiz. Çalışmamızın PEMA'nın, diyabet ve komplikasyonlarına yönelik non-invaziv bir tedavi seçeneği olarak daha kapsamlı araştırmalara katkıda bulunacağını umuyoruz.

**Anahtar kelimeler:** antioksidanlar, diyabet, oksidatif stress, serbest radikaller, PEMA.

## ABSTRACT

### ANTIOXIDANT EFFECTS OF PULSED ELECTROMAGNETIC FIELD ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF DIABETES

Hafiza GÖZEN

Postgraduate Thesis, Department of Biophysics

Thesis advisor: Assoc. Prof. Dr. Can Demirel

June 2014, 89 page

Protective effects of PEMF on an experimental model of diabetes were investigated via oxidative/nitrosative stress parameters. For this purpose, in accordance with the study protocol, the rats were randomly divided into 4 groups as control (C; n=8), sham (SPEMF; n=8), diabetes (D; n=8), and diabetes+PEMF (D+PEMF; n=8). PEMF was started after the diagnosis of diabetes and performed on the D+PEMF group for daily 60 minutes over the course of 4 weeks. Blood samples and liver tissues obtained were used to measure antioxidant parameters including total thiol-SH, glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and total antioxidant status (TAS), as well as oxidant parameters including nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), and total oxidant status (TOS). Oxidative stress index (OSI) was obtained from TOS/TAS ratio. The increase in MPO, MDA, NO, and TOS levels and the decrease in SOD and TAS levels in the SPEMF and D groups were found statistically significant as compared to the C group ( $P < 0.05$ ). It was determined that MPO, MDA, SOD, NO and TAS levels in the D+PEMF group became closer to the levels in the C group. The increase in TOS level in the D+PEMF group was not significantly different from the other groups. It was observed that GSH level significantly decreased in the SPEMF, D, and D+PEMF groups as compared to the control group ( $P < 0.05$ ). No difference was determined between the groups in terms of Thiol-SH and CAT levels. Comparing the SPEMF and D groups in terms of OSI ratio, no significant difference was observed between these groups. Similar ratios were also observed when the C and D+PEMF groups were compared. We think that PEMF is effective in TAS, TOS, OSI, MDA, NO, MPO, SOD and GSH parameters and plays a regulatory role in diabetes-related injury by decreasing oxidative stress and supporting increase in antioxidants. We expect that the present study would contribute to more comprehensive studies by introducing PEMF as a non-invasive therapeutic option for diabetes and complications.

**Key Words:** antioxidants, diabetes, oxidative stress, free radicals, PEMF.

# 1. GİRİŞ

Diyabet kronik seyir gösteren, klinik tablo ve patogenez açısından heterojen, hormonal, dokusal ve immunolojik olarak kendine özgü değişimlerle karakterize metabolik bir hastalıktır. Diyabette karbonhidrat metabolizmasındaki bozukluklarla birlikte, yağ ve protein metabolizmasında da bozukluklar vardır (1,2). Diyabet genel olarak Tip I diyabet (İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus; IDDM) ve Tip II diyabet (İnsülin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus; NIDDM) olmak üzere ikiye ayrılır (3).

Yaşamın sürdürülmesinde büyük öneme sahip kimyasal tepkimelerin bazı basamaklarında oksijen indirgenir ve reaktif oksijen türleri (ROS) olarak ifade edilen ara maddeler oluşur. Reaktif karakterli bu tür metabolitlerin oluşumuna yol açan faktörlerin tamamı oksidan madde veya serbest radikal olarak tanımlanmaktadır (4).

Vücut, oksidatif stres sonucu oluşabilecek hasarı engellemek için antioksidan vitaminler, GSH, antioksidan enzimler ve sülfidrilardan oluşan bir antioksidan savunma sistemi ile donatılmıştır. Genel olarak antioksidan vitaminler (E Vitamini , karoten gibi) serbest radikalleri ve tek oksijeni direkt olarak yakalayarak (trapping) etkisiz hale getirirler. Son yıllarda antioksidanlar üzerinde çok çalışılmıştır (5).

Diyabette oksidatif stresin meydana gelmesini başlatan hücre içi ve hücre dışı glikoz miktarının artmasıdır. Diyabet hastalarında oksidatif stresi oluşturan birçok mekanizma vardır. Bu mekanizmalar içinde; glikoz otooksidasyonu, protein glikozilasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerin oluşumu bulunmaktadır (2,4).

Yapılan çalışmalarda pulslu elektromanyetik alanın (PEMA) kan glikozu düzenlemek, diyabet komplikasyonlarını iyileştirmek, insülin sekresyonu, melatonin salgılanması arttırmak da dahil olmak üzere pek çok iyileştirici ve yenileyici etkisi savunulmuştur (6,7,8).

Bu çalışma diyabet modelinde serum ve dokudan elde edilen parametrelerden PEMA'nın antioksidan etkilerinin incelenmesi açısından önemlidir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diyabet

Pankreas, midenin arka tarafında yer alan hem ekzokrin hem de endokrin salgı öğelerine sahip bir organdır. Pankreas tarafından salgılanan tripsin, kemotripsin, amilaz, lipaz, elestaz, karboksipeptidaz, fosfolipaz ve ribonükleaz gibi sindirim ile ilgili birçok enzim özel bir kanal sistemi ile duodenuma boşalır ve bu enzimler üç temel gıda maddesi olan karbonhidratların, yağların ve proteinlerin sindiriminde önemli rol oynar. Pankreasın, ekzokrin salgı yapan hücrelerinden ayrı olarak langerhans adacıkları adı verilen hücre grupları vardır. Alfa ve beta hücreleri olarak bilinen bu hücrelerin alfa ( $\alpha$ ) hücrelerinden glukagon, beta ( $\beta$ ) hücrelerinden insülin hormonları üretilir. Bu iki hücre grubu dışında delta ( $\delta$ ) hücreleri olarak bilinen hücrelerden somatostatin ve F hücrelerinden pankreatik polipeptid salınımı da gerçekleşir ve bu hormonlar pankreatik venden portal vene boşalır. Kan glikozu insülin başta olmak üzere epinefrin, büyüme hormonu, kortizol ve glukagon gibi hormonlar tarafından düzenlenmektedir (9).

Diyabet kronik seyir gösteren, klinik tablo ve patogenez açısından heterojen, humoral, dokusal ve immunolojik olarak kendine özgü değişimlerle karakterize pankreatik beta hücrelerinden insülinin hiç salgılanamaması, bozulmuş insülin sekresyonu ya da doku ve hücrelerde insülin etkisine direnç sonucu gelişen hiperglisemiyle karakterize bir metabolik hastalıktır.

Diyabet tanısı klinik belirtiler ve biyokimyasal bulgularla konulmaktadır. ADA (Amerikan Diyabet Birliği), WHO (Dünya Sağlık Örgütü), JDS (Japan Diabetes Society) gibi bir çok ulusal ve uluslararası kuruluş sayesinde hemen hemen her yıl, elde edilen klinik ve literatür bilgileri taranarak, diyabetin tanı kriterlerinin güncel kalması sağlanmaktadır. Açlık plazma glikoz seviyeleri ve 75 g glikoz kullanılarak yapılan Oral glikoz tolerans testi (OGTT) ile 2. saat kan şekeri ölçülerek tanı konulmaya çalışılır. Diyabet tanısı konması amacıyla HbA1c (glikozile hemoglobin) testi önerilmemekle birlikte HbA1c testlerinin tanı konduktan sonra hastalığın izlenmesinde kullanılabileceği ifade edilmektedir (1).

Diyabetin birçok türü olmasına rağmen, başlıca iki tip görülmekte, bunlardan biri diyabetik popülasyonun % 10-20'sini oluşturan, çocukluk yaş grubunda sık görülen, pankreasın beta ( $\beta$ ) hücrelerinin otoimmün veya otoimmün dışı nedenler sonucu harabiyet görmesiyle; insülinopeni ve hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalık olan Tip 1 diyabettir. Tip 1 diyabetin uygun bir genetik zeminde çevresel faktörlerin etkisiyle beta hücrelerine yönelik otoimmün destrüksiyonunun sonucu ortaya çıktığı gösterilmiştir. Polidipsi, poliüri, kilo kaybı yakınmaları, bitkinlik veya ketoasidoz ilk bulgu olabilir. Beta hücre rezervi henüz yeterli olanlarda ketoasidoz olmayabilir. Hastalığın tanısı ilk kez konulduğunda hastalar zayıftır ve kural olarak kronik komplikasyonlar yoktur. Tip 1 diyabetiklerin kan insülin düzeyleri az iken, hücrelerdeki insülin reseptör sayılarında yeniden düzenlenmeye bağlı olarak bir artış vardır Bu nedenle de dışarıdan verilecek insüline oldukça hassastırlar ve çoğu olguda, insülinin sebep olduğu hipoglisemik ataklar görülmektedir. Klinik semptomlar, ancak geç faz inflamatuvar dönemin sonunda, sağlam beta hücre oranı %20 civarına indikten sonra başlar (10).

Diyabetik popülasyonun % 80-90'nı ise, hedef dokuların insülinin metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişen Tip 2 diyabet oluşturur. Tip 2 diyabette hastalık ilerledikçe beta hücre kitle ve fonksiyonunun progressif kaybı da söz konusudur. Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu Tip 2 diyabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı henüz açık değildir. İnsülin direnci; karaciğer, yağ dokusu ve kaslar gibi hedef dokuların normal dolaşımdaki insülin konsantrasyonlarına yanıt verme yeteneğinin azalması sonucu kontrol edilemeyen hepatik glikoz üretimi, kas ve yağ dokusu tarafından azalmış glikoz alımı olarak ifade edilmektedir. Tip 2 diyabetin çoğu formları genetik yüklülük ile ilişkilidir. Yüksek kalorili yiyecekler, egzersiz eksikliği, kilo artışı gibi dış faktörler insülin direncinin gelişimini sağlayarak insülin gereksiniminin artmasına, hiperglisemiye bağlı olarak glukotoksiteye, serbest yağ asidi düzeylerinin dolaşımda artmasıyla lipotoksiteye neden olmakta, bu durum ise beta hücre hasarının oluşmasına katkıda bulunabilmektedir. İnsülin direncinin gelişiminde vücut yağ oranının artması önemli bir rol oynamaktadır. Çünkü yağ dokusu sadece enerji depolama organı değil, aynı zamanda insülin direncine ayrı ayrı etkileri olan leptin, rezistin ve adinopektin adı verilen adiposit düzenleyici maddeleri salgılayan bir organdır. Bununla birlikte obezitede beyaz yağ doku hücrelerinden bol miktarda

inflatuar moleküller (TNF- $\alpha$  ve IL-6) sekrete edilmekte olduğu ve bu moleküllerin insülin sinyal iletim yollarını etkileyerek insülin duyarlılığını değiştirdiği, böylelikle insülin direncinin patogenezinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Tip 2 diyabet polidipsi, polifaji, pruritus, kilo kaybı gibi klasik belirtiler ile ortaya çıkarsa da çoğu kez uzun sürebilen asemptomatik dönemi mevcuttur. Hipergliseminin kademeli olarak gelişmesi ve başlangıçta klasik semptomların çok fark edilir olmaması nedeniyle hastalığa uzun yıllar tanı konulamamakta, bu nedenle hastalarda, mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişme riski artmaktadır. Tip 2 diyabette insülin salgısı, diyabetik ketoasidozu (DKA) önlemeye yetecek kadardır. Hiperglisemiye rağmen kan ve idrarda keton cisimleri azdır veya yoktur. İnsülin tedavisi çoğu kez gerekli değildir (11).

Sonuçta Tip 2 diyabette gözlenen hiperglisemi, glikoz oksidasyonu, proteinlerin nonenzimatik glikasyonu ve glikolize olmuş proteinlerin oksidatif yıkımına neden olur ki bu durum da serbest radikallerin oluşmasına katkıda bulunabilir. Serbest radikaller nedeniyle oluşan oksidatif stres ise diyabette gözlenen komplikasyonların patogenezinde önemli bir role sahiptir (2,4).

### **2.1.1. Patofizyoloji**

Diyabetik hipergliseminin patogenezinde üç önemli faktör rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar beta hücre insülin salgısının bozulması, insülin direnci ve karaciğerde glikoz üretiminin artmasıdır. Tip I diyabette ve Tip 2 diyabette etiyolojik neden ne olursa olsun sonuçta hiperglisemik tablo her iki tip diyabetin en belirgin sonucudur (1).

İnsülinin görevi, hücreler tarafından ihtiyaç duyulan enerjinin karşılanması ve enerji kaynaklarının hücre içerisinde depolanmasıdır. İnsülin sekresyonunun stimüle olmasında nutrisyonel (glikoz ve arginin gibi aminoasitler), hormonal (gastrik inhibitör polipeptit ve glukagon) ya da nöral (vagal veya adrenarjik) yollar; inhibisyonunda ise epinefrin ve somatostatinin rol aldığı belirtilmektedir. İnsülinin en önemli etkisi karbonhidrat metabolizması üzerine olmaktadır. İnsülinin karbonhidrat metabolizması üzerine olan etkisi, spesifik insülin reseptör proteinlerine bağlanan glikozun membrandan transportunu artırmak seklindedir. Beslenme sırasında kan dolaşımına karışan karbonhidratlar, insülin varlığında tüm vücut dokularınca (özellikle karaciğer,

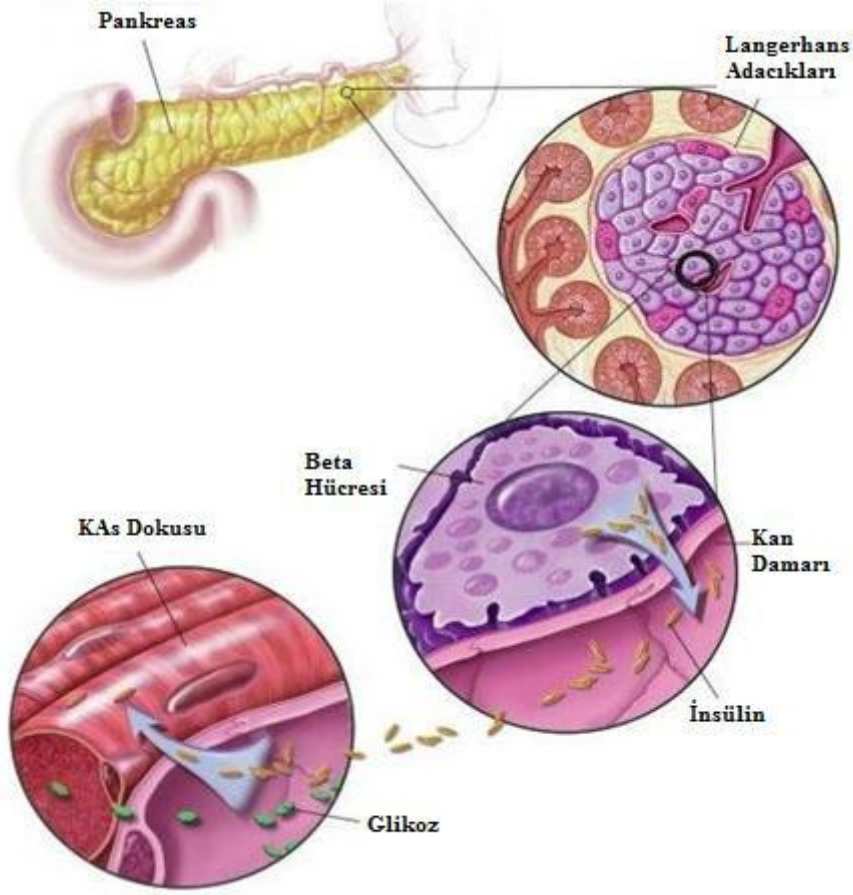
kas ve yağ dokusunda) hızla alınma, depolanma ve kullanılma sürecini yaşarlar. Gözdeki lens ve retina ile böbreklerde, glikozun dokuya geçişi insülinden bağımsız gerçekleşir fazla olan glikoz sorbitole indirgenir. Bu işlem, NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) bağımlı olarak, aldoz redüktaz enzimi tarafından katalize edilir. Hiperglisemide, NADPH tüketimi ve sorbitol yapımı artar, hücre içi miyoinositol azalır. Bunlardan dolayı  $Na^+-K^+-ATPaz$  aktivitesi düşer. Hücre içi  $Na^+$  atılamadığından, osmolalite artar ve hücre içine su çekilerek ödem gelişir. NADPH, hem serbest radikallerin uzaklaştırılmasında görev alan GSH oluşumunda, hem de NO sentezi için gereklidir

Diyabetik tablolarda, kan yağlarının ve proteinlerin katabolik gelişimi ve nihayetinde yağların yıkımından oluşan, keton cisimlerin hızla metabolize edilememesi ile ketoasidoz oluşumu, protein ve yağ metabolizmasının da etkilendiğini gösterir.

İnsülin vücut dokularında glikoz kullanımını arttırarak bir tür “yağ koruyucusu” gibi fonksiyon görmektedir. Karaciğerde yağ asidi sentezini arttıran insülin, yağ dokusunda da benzer şekilde etki göstermektedir. İnsülin eksikliğinde yağ metabolizması her yönüyle hızlanmakta ve bu olay diyabette, insülin salınımı çok düştüğünde daha da belirginleşmektedir. Diyabette insülin eksikliği sonucu lipit konsantrasyonlarında bozukluklar görülmektedir. Tip II diyabetiklerin büyük kısmında VLDL (Very Low Density Lipoproteins) değeri yüksek olarak bulunabilir ve çoğu kere hiperkolesterolemi de mevcuttur. Tip I diyabette LDL (Low density lipoproteins) kolesterol yüksek, HDL (high density lipoproteins) yüksek veya normal olabilir. Diyabetiklerdeki ateroskleroz riskine karşılık yüksek HDL seviyesi koruyucu rol oynar. Tip II diyabetlerde normalin altında HDL seviyeleri tespit edilmiştir.

Glikozun aldehit kısmı non-enzimatik bir reaksiyonla spontan olarak proteinlerin aminoasit grupları ile birleşebilir. Başlangıçta stabil olmayan schiff baz, kendiliğinden stabil son ürüne dönüşür. Glikoz yüksek konsantrasyonlara ulaştığında, denge stabil glikolize son ürüne döner ve hemoglobin’in beta zincirindeki lizin aminoasit grubu ve N-terminal aminoasiti glikolize olur. Karbonhidrat ve yağların yanı sıra proteinler de yemek sonrası dokularda depo edilmektedir. İnsülin salgısı minimale indiğinde protein depolanması tamamıyla durmakta ve protein katabolizmasında artış gözlenmektedir. Protein sentezinde duraklamanın yaşandığı ve fazlaca aminoasitin plazmaya boşaldığı

bu durum, ağır diyabetin en ciddi etkilerinden biri olarak diyabetik hastalarda gözlenmektedir (3,11) .



Şekil 2.1. Glikoz alımı

Hiperglisemi, glikoz oksidasyonu, proteinlerin nonenzimatik glikasyonu ve bu proteinlerin oksidatif yıkımına neden olur ki bu durum da serbest radikallerin oluşmasına katkıda bulunabilir. Diyabette serbest radikallerin oluşması oksidatif stresin oluşmasına neden olabilir. Sonuçta diyabet bütün sistemler üzerinde etkili metabolik bir hastalıktır .

İnsülin salgılanmasının iki fazı mevcuttur. Birinci faz, glikozla uyarılan pankreas beta hücrelerinden ilk 3- 10 dakika içindeki insülin salınma miktarıdır. Erken faz da denilen bu fazdaki insülin salgısı, pankreasın depolanmış insülin değerlerini gösterir. ikinci faz veya geç faz salgılanması, 5. dakikadan başlayarak glikoz uyarısının devamı boyunca süren bir insülin salgılama değeridir. Bu faz yavaş şekilde plato çizen ve çok yavaş bir şekilde bazal değerlere inen insülin seviyesini göstermektedir ve pankreas beta

hücrelerinin insülin sentez gücüne göre değişen değerler gösterir. Karakteristik bir gösterge olarak Tip 2 diyabetli kişilerde, erken faz insülin salgısında azalma veya tamamen salgı yokluğu gözlenir. Tip 2 diyabetin patogenezinde insülin direncinin yanında beta hücre kitle ve fonksiyonunun progressif kaybı da söz konusudur. Zaman içinde adacık beta hücrelerinin sayısındaki azalma da hastalığın gidişini etkileyen önemli bir faktördür. Yerleşmiş bir Tip 2 diyabette beta hücre kitlesi % 20-40 oranında azalmıştır. Bu azalmadan kronik hipergliseminin yanı sıra, pankreas adacıklarında biriken adacık amiploid polipeptidin (amilin) de sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Yine son zamanlarda serbest yağ asitlerinin ve özellikle de postprandial hipertrigliserideminin beta hücresi üzerine toksik etki ile insülin sekresyonunu bozduğu fark edilmiştir. Araştırmacılar beta hücre disfonksiyonunun birincil nedeninin hiperlipidemi olabileceğini belirtmekte ve bu konularda halen çalışmaların sürdüğü ifade etmektedirler. Organizmada bulunan dokularda proliferasyon ve neogenez ile apoptosis genelde denge halindedir. Bu dengenin apoptosis yönünde bozulması veya nekroza kayması, diyabet hastalarındaki beta hücre kayıplarının yanında doku hasarlarına da neden olabilmektedir. Özellikle Tip 2 diyabet hastalarındaki beta hücre kayıplarının temel nedeninin apoptosis olduğuna inanılmaktadır. Bunun en güzel göstergesi Tip 2 diyabet hastalarındaki beta hücrelerinde, apoptotik mediatörler olan kaspaz-3 ve kaspaz-8' in aktivitelerinin yükselmesidir. Bu önemli apoptotik yolların aktive olmasında etkili olan faktörlerden biri, diyabet hastalarında beta hücrelerindeki oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar lehine kaymasıdır. Fakat Tip 2 diyabetle karakterize insülin sekresyonundaki değişikliklerde, beta hücre kayıplarının tahmin edilen sonuçları yeterince açıklanamamaktadır (2,12).

### **2.1.2. Diyabetin komplikasyonları**

Akut ve kronik komplikasyonları olan diyabetin akut komplikasyonları arasında diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar koma, laktik asidoz sayılabilir. Organ hasarına yol açan kronik komplikasyonları, genel olarak makro ve mikrovasküler olarak gruplandırılabilir. Makrovasküler grupta hipertansiyon (HT), kardiyovasküler (KAH), serebrovasküler hastalıklar sayılabilir. Nöropati, retinopati ve nefropati ise mikrovasküler komplikasyonlarıdır. Bunların dışında deri, bağ dokusu, eklemler, sinir sistemi gibi diğer sistemlerle ilgili sorunlar mikrovasküler bozulma ile gelişir.

Büyük damar hastalıkları erken yaşlarda başlar. Erişkin Diyabetes mellituslu hastaların % 65 - 75 i kalp veya büyük damar hastalıklarına bağlı hastalıklardan ölmektedir. KAH, periferik damar hastalıkları ve gangren, beyin infarktı, renal ateroskleroz, intraserebral hemoraji, aort anevrizması şeklinde görülür. Bu komplikasyonların bazıları ilk aylarda gelişebilir ama çoğu diyabetin başlangıcından birkaç yıl geçtikten sonra ortaya çıkar. Komplikasyonların çoğu ilerleyici karakterdedir.

Diyabette böbreklerin nasıl hasar gördüklerine dair üç ana hipotez mevcuttur; bunlar hemodinamik bozukluklar (glomerüler hiperfiltrasyon, intraglomerüler hipertansiyon), yapısal değişiklikler (glomerüler hipertrofi, mezangiyal genişleme ve glomerüler bazal membran kalınlaşması), metabolik bozukluklar (poliyol metabolizması değişikliği) ve dokularda ileri glikozilasyon son ürünlerini içerir. Hipertansiyon diyabetik nefropatinin karakteristik bulgusudur. Diyabetik hastada böbrek yetersizliğinin progresyonunu alevlendiren tek faktördür. Diğer taraftan böbrek yetersizliğinin progresyonunu geciktirdiği gösterilmiş en önemli faktör, hipertansiyonun tedavisidir. Tip 1 diyabette tanıdan sonraki ilk 5 yıl, hipertansiyon sık görülmez böbrek yetersizliği yerleştikçe kan basıncı da progressif olarak tırmanır.

Diyabetik nöropati non-travmatik ampütasyonların %50-75'inden sorumludur. Genelde 15 yılı geçmiş diyabetiklerin %50'den fazlasında rastlanır. Diyabetik nöropati olan hastaların %10'unda ısrarlı ağrı vardır. Diyabetik nöropati sinir sisteminin belli bölgelerini tek veya birlikte tutan bir grup klinik sendromdur. Beyin tutulumu genellikle görülmez. Sinsi ve yavaş seyirli olabilir. Diabetik hastaların yaklaşık olarak yarısında tanıdan itibaren 25-30 yıl sonra diyabetik nöropati görülür. Hem Tip 1, hem de Tip 2 diyabette benzer klinik nöropati paterninin görülmesi, bu komplikasyonun gelişmesine katkıda bulunan ana faktörün (insülin noksanlığı ya da insülin rezistansından ziyade) kan glikoz yükselmesi olduğunu düşündürmektedir. Nöropatik semptomların başlıcaları ağrı, pareteziler, duyu kaybı, kas zafiyeti, inkoordinasyon, ataksi, çift görme ve genellikle hastayı canından bezdiren birçok otonom disfonksiyonu kapsamaktadır.

Diyabetin gastrointestinal komplikasyonları dikkate alındığında, mide en çok incelenmiş organdır. En iyi bilinen komplikasyon gastrik staz olmakla beraber, diyabetiklerde mide rahatsızlıklarının sıklığı da artmıştır. Ketoasidozda genellikle hemorajik gastrite bağlı hematemez görülebilir. Önemle üzerinde durulması gereken bir

nokta da, diyabetiklerde peptik ülser hastalığı insidensinin düşük bulunmasıdır. Bu nedenle diyabetiklerde üst gastrointestinal sistem kanamalarının nedeni genellikle duodenal ülser hastalığı değildir; ayrıca mide ülserlerinin sıklığı da genel toplumdakine yakın görünmektedir. Diyabetiklerde gastrik asit sekresyonu belirgin şekilde azalmıştır. Gastrik staz belirtileri sinsi bir şekilde gelişebilir, bunlar; erkenden doyma hissi, bulantı, kusma, anoraksı, ağrılı veya ağrısız postprandiya dolgunluk hissi ve şişkinliktir. Yapılmış ilk çalışmalarda, diyabetiklerde gastrik retansiyon insidensinin %20 olduğu bildirilmişse de, hastalığın ağırlığına ve kronikleşmesine bağlı olarak bu rakam büyük ölçüde değişiklik gösterir. Semptomatik gastroparezisi olan tipik hasta, genellikle uzun süredir insüline-bağımlı diyabeti bulunan ve diyabeti iyi kontrol edilemeyen bir vakadır.

Diyabetin bir komplikasyonu olarak özofagus disfonksiyonuna ait klinik belirtiler nadir olmakla birlikte, disfaji ve özofagiya reflü bildirilmiştir. Diyabette özofagusun motor disfonksiyonu bildirilmiştir; genellikle düşük-amplitüdüli peristalsis, sık aperistaltik kontraksiyon, özofagiya klirensin gecikmesi ve alt özofagiya sfinkter basıncının düşük olması ile karakterizedir.

Diyabetle ilişkili olarak pankreasta fonksiyonel değişiklikler görülebilir; ancak bu değişiklikler iki farklı klinik durumda gelişir. İlki kronik pankreatitin geç döneminde diyabet gelişen hastalarda görülen değişikliklerdir. Yapılan çalışmalarda gerçek pankreas yetersizliği olmadan da, hastaların %30'unda pankreas sekresyon bozukluğu geliştiği gösterilmiştir. Çok iyi incelenmemiş olmakla beraber, pankreatit diyabetiklerde daha sık görülür. Bu hastalarda akut pankreatit çok ağır seyreder ve klinik seyrinde iki nedenle komplike olur. Sıklıkla erken tanı konulamaz, bunun yanı sıra diyabete eşlik eden vasküler bozukluklar prognozu olumsuz yönde etkileyebilir. Ketoasidozun nekahat dönemi uzun süren ve karın ağrısından yakınan bir hastada, pankreatit olasılığı hemen akla gelmelidir. Bazı çalışmalarda diyabet ile pankreas kanseri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Pankreas karsinomu bulunan vakaların %50'sinde glikozüri ve hiperglisemi bulunmuştur; ancak genetik yatkınlığı bulunan bir diyabetiğin uzun dönemde pankreas karsinomuna yakalanabileceğini gösteren deliller mevcut değildir (1,2).



## 2.2. Serbest Radikaller

İnsan vücudunda birçok mekanizma ve metabolik yolla oluşan, diğer biyolojik materyallerle reaksiyona girme eğilimi olan, ortaklanmamış elektron taşıyan atom veya moleküllere serbest radikal adı verilmektedir. Serbest radikaller; pozitif yüklü, negatif yüklü ve elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik ve inorganik moleküller şeklinde de olabilirler. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasından ortak elektronlardan biri kalacak şekilde homolitik bölünmesiyle, normal bir molekülden tek bir elektronun eklenmesiyle, tek bir elektron kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesiyle serbest radikaller meydana gelebilir.

Solunum zinciri, peroksizomlar, plazma membranındaki lipit peroksidasyonu, hücrelerdeki bazı bileşiklerin otooksidasyonu, birçok enzimin katalitik siklusları ve aktive olmuş fagositler hücre içi oksidan moleküllerin başlıca kaynaklarıdır. Toksinler, antibiyotik ilaçlar, stres, hava kirliliği, iyonize edici radyasyon gibi çevresel faktörler ise oksidan moleküllerin biyolojik kaynakları olarak gösterilmektedir (13).

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil ( $HO^{\cdot}$ )	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil ( $ROO^{\cdot}$ )	Hipohalöz asid (HOX)
Alkoksil ( $RO^{\cdot}$ )	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon ( $HQ^{\cdot}$ )	Singlet oksijen ( $O_2$ )
	Azot dioksit ( $NO_2$ )
	Hipokloröz asid (HOCl)
	Peroksinitrit (ONOO)
	Organik peroksit (RCOO)
	Nitrik oksid (NO)
	Hemoproteine bağlı radikaller

### 2.2.1. Reaktif oksijen türleri ve biyolojik etkileri

Serbest oksijen türleri, enzim aktivasyonlarında, kas kontraksiyonunda ve özellikle inflamasyonda fagositoz sırasında antijenlere karşı rol oynar. Buna karşın reaktivitelerine bağlı olarak, serbest radikaller ile hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşikleri doymamış bağlar ve tiol grupları seviyesinde defalarca reaksiyona girebilir. Hücre membranlarındaki ve diğer makromoleküllerdeki nükleik asit gibi anahtar biyomoleküllerin yüksek oranda radikal reaksiyonlarına maruz kalması serbest radikal patolojisini oluşturur. ‘Oksidatif stres’ de denilen bu durum sonucu, hücre membranının stabilitesi bozulmakta ve hücre içinde fazla miktarda kalsiyum birikmesi sonucu hücre ölümü gerçekleşmektedir. Serbest radikaller sağlam hücrelerde inflamasyonu başlatabilir, hücre fonksiyonunu değiştirebilir ve hücre için toksik olabilirler. Böylece serbest radikallerin birçok kronik hastalığın sebebi ve komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Amino asit kompozisyonları, proteinlerin serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceğini belirler. Triptofan, fenilalanin, tirozin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitleri içeren proteinlerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için, serbest radikal reaksiyonlarından kolaylıkla etkilenmektedirler. Protein ve aminoasit oksidasyonu, protein karbonil miktarını artırır. Proteinlerdeki oksidatif hasar amino asit yan zincirlerinin oksidasyonuna ve polipeptidlerin parçalanmasına neden olur. Agregasyon ve çapraz bağlanma, parçalanma ve kırılma, tiyol grupları modifikasyonu meydana gelir. Sonuçta enzim aktivitelerinde değişimler, iyon transportu değişimleri, hücre içine  $Ca^{+2}$  girişinde artış olur. Özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu  $H_2O_2$ , peroksitler ve oksoaldehitler (glioksal, vs.) oluşur. Antimitotik özellik gösteren oksoaldehitler karsinogenez ve yaşlanmada rol oynarlar. Sitoplazmik serbest radikallerin etkisi ile sitozoldaki proteinler değişime uğramaktadır. Hemoproteinlerden olan oksihemoglobinin, süperoksit radikallerin ya da hidrojen peroksitin demirle reaksiyonu sonucu methemoglobin’e dönüşmesi de serbest radikallerin toksik etkisinin bir başka örneğidir .

Serbest radikaller, DNA ipliklerinin ayrılmasına sebep olur ve temel onarıma zarar verir. DNA oksidasyonu mutajenleri harekete geçirerek kanser oluşumuna yol açabilir.

Deoksiriboz halkası yarılmaması, baz hasarı, zincir kırılmaları sonucunda mutasyonlar, translasyonel hatalar ve protein sentezi inhibisyonu ortaya çıkar.

Biyomoleküllerin hemen tümü serbest radikaller tarafından tutulabilir. Ama en çok maruz kalan lipidlerdir. Hücre membranları doymamış yağ asitlerinden zengindir ki bunlar okside edici radikaller tarafından kolayca tutulurlar. Lipid peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonu hasar vericidir, çünkü kendiliğinden ilerleyen zincir reaksiyonları devam eder. Lipid peroksidasyon ürünlerinden Malondialdehit (MDA), membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açmakta ve DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girerek karsinojenik özellik taşımaktadır. Lipit peroksidasyon ürünleri sonuçta hücre membran akışkanlığında azalma, permeabilite değişiklikleri, membrana bağlı enzimlerin aktivitelerinde değişikliklere neden olur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer kısımlarına hasarı yayarlar. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hem insanlardaki hem de tabiattaki lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanların kullanılmasından yarar beklenilmiştir.

Oksidatif stres hücre içerisinde redoks dengesi değiştiği zaman meydana gelir. Normal koşullar altında serbest oksijen radikallerinin fizyolojik seviyesi/reaktivitesi detoksifikasyon mekanizmalarıyla hassas bir şekilde dengelenir ve bu dengede özellikle antioksidan savunma mekanizmaları önemli rol oynamaktadır. Oksidatif stres terimi genel olarak prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulduğu ve hemen hemen tüm patolojik durumlarla ilişkisi olan reaksiyonlar serisi olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stres lipid peroksidasyonunda artma ve/veya enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerdeki değişme ile karakterize edilir.

Sonuçta, oksidatif stres ve buna bağlı biyolojik etkilerin birçok hastalıkla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında kalp damar hastalıkları, diyabet, kronik renal yetmezlik, bazı kanser türleri, nöro-dejeneratif hastalıklar, katarakt, respiratuar distress sendromu,

romatoid artrit gibi bazı otoimmün hastalıklar ve enfeksiyon hastalıkları bulunur. Serbest oksijen radikalleri ile makromoleküller (protein, DNA, lipit, karbohidrat) arasındaki etkileşimler reversibl ve irreversibl oksidatif modifikasyonlara neden olabilir (13,14).

### 2.2.2. Diyabet ve oksidatif stres

Diyabette oksidatif stres, glikozun metabolize edilememesiyle hücre içi ve hücre dışı glikoz miktarının artmasıyla başlar glikoz otooksidasyonu, protein glikozilasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerin oluşumu gibi mekanizmalarla artar, komplikasyonlar gelişmeye başlar. Ancak serbest radikallerin oluşumu ile bunların antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmesi bir denge halinde olduğu sürece dokular serbest radikallerden etkilenmemektedirler. Poliyol yolu denilen reaksiyonla hücre içindeki yüksek glikoz sorbitole sorbitol de fruktoza metabolize edilir. Glikozun sorbitole dönüşümüyle NADPH miktarı azalır ve okside glutatyonun redükte forma dönüşüm hızı yavaşlayarak antioksidan kapasiteyi azalır. Sorbitolün fruktoza oksidasyonundaki artış ile de süperoksit anyon oluşumu artmaktadır. Bu yolak hem antioksidan seviyeyi azaltmakla birlikte serbest radikalleri arttırarak diyabetli hastalarda oksidatif stresin artmasına yol açmaktadır. Ayrıca normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikalinin oluştuğu da kabul edilirse yüksek glikoz konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak süperoksit radikal üretiminin artması beklenir. Bunların yanında glikoz proteinlerin amino grubuna bağlanarak daha kararlı bir yapı olan protein-glikoz kompleksine dönüşür. Glikozile proteinler ise, Cu ve Fe varlığında oksijene elektron vererek reaktif oksijen türlerinin oluşmasına enzimlerin inaktive olmasına ve transkripsiyon faktörü NF-kB'nin aktivasyonunu arttırarak nitrik oksit (NO) seviyelerinin yükselmesine sebep olur. Bu yollarla artan süperoksit ( $O_2^-$ ) radikalleri ve NO daha reaktif olan peroksinitrit radikalinin oluşumuna neden olmaktadır. Pankreas  $\beta$  hücrelerinin SOD, GSH-Px, CAT gibi önemli antioksidan enzimler bakımından yetersiz olduğundan NO seviyelerinin normalin üzerine çıkması durumunda beta hücre hasarı gelişir ve insülin salınımı inhibe eden reaksiyonlar gelişir. Sonuç olarak oksidatif stresin artması birbirini takip eden istenmeyen reaksiyonlara sebep olmaktadır. Bu reaksiyonlar hücresel organeller ve enzimlere zarar verip lipid peroksidasyonu ve insülin direncinin artmasına neden olarak diyabetik komplikasyonları ortaya çıkarmaktadır (4,15).

### 2.2.3. Serbest radikallerin zararlı etkilerinin azaltılması

Alınan oksijenin % 1-5'i ROS oluşumuna neden olmaktadır. Hücre içerisinde serbest radikal üretimi fazla olduğundan hücrede bir koruma sistemi olması gereklidir. İlk adımda mitokondride serbest radikal sızıntısı azaltılarak endojen serbest radikal üretiminin azaltıldığı görülür. Sonraki basamaklar sırasıyla metabolik hızın azaltılması, oksidatif hasarda anahtar hedeflerin dirençlerinin artırılması, antioksidanların artırılması, tamir, geri dönüşüm ve yeniden şekillendirme süreci, hücrenin nükleik asit, protein ve lipid unsurları için tamir süreci şeklinde birbirini izler. Hücreler fizyolojik koşullarda oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleriyle korunur (2,13).

Genel olarak endojen; enzim yapısında olan (Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), vb.), enzim yapısında olmayan (Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Ferritin, vb.) ve eksojen; vitaminler, ilaç olarak antioksidanlar, gıdalardaki antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Fonksiyonlarına göre sınıflandırıldığında ise dört gruptan bahsedilebilir. Süpürücü etki gösteren antioksidan ajanlar oluşturdukları etki ile yeni radikal oluşumunu engeller ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. SOD, GSH-Px, ferritin, seruloplazmin ve metalotiyonein gibi metal bağlayıcı proteinler bu tür etkiye örnektir. Giderici etki gösterenler oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini inhibe eden bileşiklerdir,  $\beta$ -karoten, vitamin C ve vitamin E bu tür etkiye örnektir. Zincir kırıcı etki gösterenlere yani zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durduranlara örnek olarak, bazı vitaminler, mineraller, hemoglobin, ürik asit, bilirubin ve albumin verilebilir. Onarıcı etki gösterenlere ise DNA tamir enzimleri ve metiyonin sulfoksit reduktaz örnek gösterilmektedir, koruma sağlarlar. Birçok antioksidan, bu etkilerden birkaçına sahip olabilmektedir. Ayrıca dokular farklı fizyolojiye sahip olduğundan her antioksidan her organda aynı etkiyi göstermeyebilir. SOD (Cu, Zn, Mn) Katalaz (Fe) GSH-Px (Se) enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayan extraselluler süperoksit dismutaz (EC-SOD), extraselluler glutasyon peroksidaz (EC-GSH-Px), albumin, transferrin, laktoferrin, haptoglobin, hemopeksin, seruloplazmin, mukus glikoz gibi antioksidanlar ise hücre dışında daha etkilidir. Vitamin E,  $\beta$ -karoten, koenzim Q membranda etkili antioksidanlardır (5,16,17).

## **2.2.4. Antioksidanlar ve diyabet**

### **2.2.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

Vasküler endotelde bulunan SOD, süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir ve iki izoenzimi vardır. Bunlardan biri insan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan bakır ve çinko iyonu içeren SOD diğeri ise manganez iyonu içeren mitokondrial SOD'dur. Bir çalışmada diyabetlilerde kontrol grubuna göre bakır (Cu) düzeyi yüksek, çinko (Zn) düzeyi ise düşük bulundu (18). Cu ve Zn düzeylerinde her iki tip diyabet grubunda da azalma elde edilen başka bir çalışmada Tip 2 diyabet grubunda Zn düzeylerindeki anlamlı azalmaya rağmen daha yüksek lipid peroksidasyon düzeylerinin eşlik etmesi, Zn eksikliğinde özellikle bu hasta grubunda sorunların artacağı şeklinde yorumlanmıştır (19). Cu yüksekliği diyabetin komplikasyonlarıyla (18), Zn eksikliği ise insülin sekresyonunda azalma ve insülin direncinde artmayla ilişkilidir (20). SOD aktivitesinin diyabette düştüğünü (21), değişmediğini (22), arttığını (23) bildiren çalışmalar vardır. O<sub>2</sub>'nin artmış üretiminin ilk başta SOD aktivitesini arttırdığı, enzimin glikasyonu ve/veya hidrojen peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) birikiminin ise SOD aktivitesini düşürdüğü belirtilmektedir. Diğer bir çalışmada Tip 1 ve Tip 2 diyabet grupları kendi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, artmış lipid peroksidasyonu sonucu, diyabetik SOD aktivitelerinin, azaldığı bulunmuştur (19).

### **2.2.4.2. Katalaz (CAT)**

Katalaz, başlıca peroksizomlarda lokalize ve yapısında dört 'hem' prostetik grubu bulunan bir hemoproteindir. CAT enzimi aktivitesi karaciğer ve böbrek dokularında yüksek iken bağ dokusundaki aktivitesi oldukça düşüktür. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyonla etkisini göstererek hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştürülerek detoksifiye eder. Ayrıca metil-, etil-hidroperoksitler gibi küçük moleküllu lipid hidroperoksitleri de parçalama özelliğine sahiptir. Diyabetik gruptaki böbrek CAT aktivitesinin koruyucu bir mekanizmayla, yüksek seyrettiğini (24) bildiren çalışmaların yanında STZ ile oluşturulan deneysel diabette, böbrekteki CAT aktivitesinin diabetik grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu (25) bildiren çalışmalar da mevcuttur.

### 2.2.4.3. Glutasyon (GSH) ve mekanizmasında rol alan enzimler

Glutasyon hem süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit ile direkt reaksiyona girerek hem de proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutarak antioksidan etkilerini gösterir.

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişimini engelleyici özellikte olan bir enzimdir. Selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki tipi olan GSH-Px'in bağımsız olan tipi lipid hidroperoksitleri, metabolize ederken selenyuma bağımlı olan ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i ve lipid hidroperoksitleri metabolize ettiği belirtilmiştir (26).

Diyabetik sıçanlarda oksidatif stres artışının yara iyileşmesi için bir sorun olduğu bilinmektedir. Bir çalışmada değerlendirilen diyabetik kontrol yaraları sağlıklı kontrol yaralarıyla karşılaştırıldığında yüksek MDA ve düşük GSH düzeyleri sergilemişlerdir. Diyabetik yaralardaki yüksek MDA düzeyleri yara dokusundaki serbest radikal aracılı hasarı yansıtabilir. Glutasyonun antioksidan savunmada rol alarak azaldığı ve bu azalmanın da iyileştirmeyi geciktiren faktörlerden olduğu daha önceden yapılmış çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır (27). Diyabetik kişilerde yapılan çalışmalarda eritrosit GSH düzeylerinin azaldığı, eritrosit lipid peroksidasyonunun arttığı saptanmıştır. Hepatik GSH düzeyleri ise normal veya hafif azalmış olarak bulunmuştur. GSH-Px aktivitesinin de azaldığı saptanmıştır (28). N-asetil-sistein (NAS) potansiyel serbest oksijen radikalleri temizleyicisi olup azalmış vücut glutasyon depoları destekler ve oksidatif strese serbest radikal oluşumu durumunda yararlı olabilir (29). Lökositlerin hücre için savunma süreci oksidatif veya non-oksidatif mekanizmalar tarafından yürütülmektedir. Bazı mikroorganizmalara karşı non-oksidatif mekanizma ile konulurken bazı bakteri ve mantarlar ise solunum patlaması da denilen oksidatif mekanizma ile yok edilir. Solunum patlaması sırasında birçok reaktif oksijen türlerinde hızlı bir artış olur ve bunlar antioksidanlarla kontrol altında tutulur. Bir çalışmada 28 diyabetik hasta ve demografik açıdan benzer 31 normal birey alınan kan örneklerinden lökositler ayrıştırılmış ve oksijen bağımlı antimikrobiyal aktivitede rol oynayan enzimler ölçülmüştür. Kontrol grubu ile Tip 2 diyabetiklerde lökositlerde SOD, GSH-R, ve KAT aktiviteleri arasında fark bulunamamıştır. Thiobarbiturik asid reaktif substans (TBARS) düzeylerinde de fark bulunmazken GSH-Px düzeyleri oksidatif stresin bir

göstergesi olarak diyabetiklerde kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Sonuç olarak diyabetik bireylerin bilinen bazı enfeksiyonlara yatkın olmasının lökositlerdeki oksijen bağımlı bakterisidal aktivite ile olmayabileceği vurgulanmıştır (30). Başka bir çalışmada ise diyabet grubunda SOD GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir değişiklik olmamış, bunun deney süresiyle ilgili olabileceği düşünülmüştür. Buna karşın CAT aktivitesinde artış olması artan peroksitlerin temizlenmesine yönelik olabileceği fakat MDA düzeylerinde de artış olması CAT yeterli olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Bu çalışmada insülin ve glilazid ile tedavi grupları oluşturulmuş ikisi de antioksidan etkileriyle lipid peroksidasyonu azaltmış fakat insülinin enzimlerde yaptığı değişiklikler daha belirgin olmuştur. Bu iki grupta da GSH-Px aktivitesinde artış CAT aktivitesinde düşüş olmuştur (31).

#### **2.2.4.4. Paraoksonaz (PON)**

İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda tanımlanabilen paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olan çeşitlerinden PON1 enziminin Low Density Lipoproteini (LDL) ve High Density Lipoproteini (HDL) oksidasyondan koruyucu özelliği olduğu bu yolla ateroskleroz etyopatogenezinde rolü olduğu bildirilmiştir. Hidrolize ettiği organofosfat substratlarına geri dönüşümlü olarak bağlandığı ve dolaşıma giren organofosfatların nörotoksisitesinden sinir sistemini koruduğu öne sürülmüştür (32). Yapılan çalışmalarda PON aktivitesini C vitamini, E vitamini, flavonoidler (quercetin, glabridin), polifenol içeren gıdalar (şarap, çay, meyve suyu) ve az miktarda alkol alımının arttırdığı, sigara, yüksek kolesterol, insülin direnci, doymuş yağ tüketiminin azalttığı bildirilmiştir (33). Diyabetik retinopati ve hipertansiyon gelişen olgularda serum PON aktivitesinin düşük olması lipid peroksidasyonuna yatkınlığın artmış olmasına bağlanmıştır (4).

#### **2.2.4.5. Lipoik asit (Tioktik asit)**

Diyabet, iskemi-reperfüzyon hasarı, katarakt oluşumu, HIV aktivasyonu, sinir dejenerasyonu ve radyasyon hasarı gibi oksidatif stres modellerinde bir antioksidan olarak faydalı etkileri görülmüştür. A-lipoik asit'in antiobezite fonksiyonunun olması Tip 2 diyabet ve ateroskleroz gelişiminde önemli bir rol kazandırır. Üç hafta 328 diyabet hastası üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetik periferel nöropatide tedaviye yardımcı olabileceği bacaklardaki yangı, sızlama, karıncalanma gibi hisleri azalttığı



bildirilmiştir (34). Tip 1 diyabet hastalarında yapılan bir çalışmada ise a-lipoik asitin Tip 1 diyabette kardiyomyopati gelişimini önleyebileceği yönünde sonuçlar elde edilmiştir (35).

#### **2.2.4.6. C Vitamini (Askorbik asit)**

Elektronunu verdiği zaman oluşan serbest radikal ara ürünü (semihidroaskorbik asit) diğer serbest radikaller ile karşılaştırıldığında non-reaktif olması çok önemlidir. Suda çözünebilen diğer antioksidanlarla kıyaslandığında ise plazma lipid peroksidasyonunu engelleyen en iyi antioksidandır. Tip 2 Diyabetli hastalarda yapılan bir çalışmada C vitamini kullanan hastalarda, kullanmaya başlamadan önceki duruma 30. gün ve 60. gün sonunda HbA1c düzeyinde ileri düzeyde bir azalma olduğu kaydedilmiştir. Diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise artmış kan glikoz düzeylerini azalttığı ve diyabette oksidatif strese önemli bir azalma görüldüğü bildirilmiştir (36). 56 yaş altı 30 hastada yapılan ve 6 ay süren bir çalışmada C ve E vitamini uygulamalarına chromium ilavesi bu etkileri arttırmıştır (37). İnsülinle kombine A ve E vitamini uygulaması tek başına insülin uygulamasına göre karaciğer, böbrek ve kalp dokularında lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkiler göstermezken insülinle kombine C vitamini uygulaması kan şeker düzeyinde ve karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonunda bir azalmaya yol açabileceği belirtilmiştir (38). Yeni bir çalışmada da diyabetik hayvanlarda lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu ürünlerinde artış gözlemlendiği ve Lipoik Asit ve Vitamin C gibi iki güçlü antioksidanın tekil veya birlikte uygulamasının bu yükselmeyi normale getirdiği bulunmuştur (39).

#### **2.2.4.7. E Vitamini (Tokoferol)**

Hayvanlarda E vitamininin en etkin şekli olan a-tokoferol membranda antioksidan ve stabilize etme özelliği vardır. A-tokoferol büyük oranda lipoproteinler ile taşındığından geç dönem diyabetiklerde E vitamini yüksekliğinin saptanması hiperlipidemi olmasına bağlanmıştır (40). Tip 1 diyabet hastalarında plazma ve doku E vitamin değerleri yüksek bulunmuştur (41). Ramakrishna ve arkadaşlarının 2008'de yaptığı çalışmada ise diyabet grubunda kontrol grubuna göre artmış MDA ve azalmış E vitamini düzeyleri tespit edilmiştir. Bu durum oksidatif stres artışına yanıt olarak E vitamini tüketimi şeklinde yorumlamışlardır (42). A, E ve C vitamininin diyabeti de içinde bulunduğu

çeşitli hastalıklarda oluşan oksidatif hasarı azalttıkların yapılan değişik çalışmalarla ortaya konmasına (38) karşın prooksidan özellikler taşıyabileceği için alınacak olan miktarlarla plazma ve dokularda sağlanacak konsantrasyonlar, yeterli düzeylerde olmalıdır. Bir araştırmada prooksidan reaksiyonların tetiklenmesi yaşlı diyabetlilerde 400 IU/gün'ün üzerindeki dozlarda E vitamini kullanılmasının ölüm riskini arttırdığını bildirmektedir (43).

#### **2.2.4.8. A Vitamini**

A vitamininin biyolojik olarak aktif metaboliti olan retinoik asit çekirdekte gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Bu A vitamininin hem gelişmekte olan hem de erişkin omurgalı sistemlerde sahip olduğu işlevlerden sadece biridir (44). A Vitamininin ayrıca görme, üreme, büyüme ve epitel hücre sağlamlığında da rol oynar. Güçlü bir 'singlet' O<sub>2</sub> temizleyicisi olmasının yanında lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonunu hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyona girerek önleyebilir (45). Karotenoidlerin kardiyoprotektif etkisi halen merak edilmekte ve bununla ilgili bir çalışmada B-karoten alımının yüksek olduğu kişilerde, koroner arter hastalığı riskinin %22 azaldığı bildirilmiştir (46).

#### **2.2.4.9. Ürik asit**

Ürik asitin antioksidan etkisinde farklı mekanizmaların işlediğini savunan çalışmalar mevcuttur. C vitaminini oksidasyondan koruması, geçiş metal iyonlarını (Fe, Cu) bağlaması, radikal çöpçüsü olması (süperoksit radikali, hidroksil radikali) gibi farklı görüşler ortaya atılsa (45) da bu yolların tümü diyabetin komplikasyonları ve oksidatif stres sebepleri açısından önemlidir. Çeşitli faktörlere bağlı olarak diyabetli hastalarda serum ürik asit düzeylerinin azaldığı ve bu azalmanın diyabetteki oksidatif stresin artmasına katkısı olabileceği bildirilmiştir (47).

#### **2.2.4.10. Seruloplazmin**

Serbest demir ve bakır iyonu varlığında süperoksit radikali ve hidrojen peroksit özellikle hidroksil grubu gibi daha tehlikeli radikallere dönüşebilir. Bu iyonlardan Bakırı bağlayan bir glikoprotein olan seruloplazmin aynı zamanda oksidoredüktaz

aktivitesine sahiptir. Böylece hem bakırı bağlayarak serbest oksijen radikallerini oluşumunu engeller, hem de oksijenden türemiş serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirir (45,48).

#### **2.2.4.11. Transferrin**

Organizmanın hücre dışı ortamda demir ve bakır iyonlarının bağlı duruma getirilmesi oksidatif stresin kontrolü açısından önem kazanmaktadır. Demir transportunda görevli protein olan transferrin sağlıklı insanlarda % 20 - 30 oranında demir ile yüklüdür. Böylece, plasmadaki serbest iyonik demirin etkinliği sıfıra dek düşer ve transferrine bağlı olan demirin lipid peroksidasyonunda rol oynamaz. Diyabette transferin düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (22). İnflamasyon, karaciğer patolojisi, hormonal durum (tiroid hormonu, östrojen) ve cinsiyet farklılığından etkilenmeden demir eksikliğine duyarlı serum 'soluble' transferin reseptör (STfR) düzeylerinin ölçümü diyabetik hastalarda demir eksikliğini gösterebilecek bir test olarak görülmektedir. Bu görüş Tip 2 DM'lu hastalarda STfR düzeylerinin, diyabetik parametrelerden etkilenmediğini gösteren Özmen ve arkadaşlarının yaptığı ve bu konuda ilk olan araştırma ile desteklenmektedir (49). Yapılan çalışmalarda transferin düzeylerinin azalma sebebinin serbest radikal reaksiyonlarını ve lipid peroksidasyonunu hızlandırabilen yüksek serbest Fe<sup>+2</sup> olabileceği bildirilmiştir (22).

#### **2.2.4.12. Ferritin**

Dolasımdaki serbest demiri bağlayarak serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini önleyen vücut demir depolarının iyi bir göstergesi olan protein ise ferritindir (45). En güçlü prooksidan moleküllerden biri olan serbest demirin oksidatif stres, toksik serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu ve endotel disfonksiyonu gibi birçok istenmeyen reaksiyonda aktif oynadığı bilinmektedir (50). Deneysel çalışmalarda artmış demir yükünün de oluşturduğu reaksiyonlardan dolayı periferik dokularda insülin direncine yol açtığı belirtilmiştir (51). Bir çalışmada diyabetik hastalarda mikroalbuminüri düzeyiyle ferritin düzeyi arasında korelasyon saptanmadığı halde mikroalbuminürisi bulunan diyabetik hastaların ferritin düzeyi mikroalbuminürisi bulunmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İnsülin direnciyle ferritin

düzeyleyleri arasında ilişki saptanmış fakat ferritin bir akut faz reaktanı da olduğundan bu durumun aynı zamanda inflamasyonu yansıtır olabileceği belirtilmiştir (52).

#### **2.2.4.13. Bilirubin**

Bilirubin plazma antioksidan aktivitenin %10 – 30'nu oluşturan, zincir kırıcı ve çöpçü etkileri olan fizyolojik bir antioksidandır (53). Diyabette önemli yeri olan karaciğerin diğer önemli bir fonksiyonu da bilirubinın glukuronik asitle konjugasyonudur. Onat ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma genel nüfusta, bilirubin düzeylerindeki düşüklüğün insülin direncini yansıttığını ve bu etkileşimin metabolik sendromun diğer bileşenlerinden bağımsız olduğunu belgeleyen ilk çalışmadır (54).

#### **2.2.4.14. Flavonoidler**

Flavonoidler bitkilerde bazı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Genellikle yüksek antioksidan kapasiteye flavonoidler, polifenolik bileşikler kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer patolojik hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılır. Polifenolik bileşiklerin serbest radikal zincirini kırması, lipid peroksidasyonunu katalizleyen metal iyonlarını bağlaması gibi özellikleriyle lipid peroksidasyonunu engellemesi (55) diyabet açısından önemlidir.

#### **2.2.4.15. Melatonin**

Bilinen tüm antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, vitamin E ve C gibi) daha güçlü serbest radikal süpürücü olarak bilinen melatoninin bu özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Uzun süre kullanımda bile, melatoninin toksik bir etki göstermediği bildirilmiştir. Melatonin hidroksil (HO), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hipokloröz asit (HOCl), nitrik oksit (NO), peroksinitrit (ONOO) gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye etmesinin yanında ve bazı prooksidan enzimleri inhibe etmesi sonucu serbest radikal oluşumunu azaltarak da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir (56). Melatonin hem hücre membranı ve hem de hücrenin nukleusunda serbest radikallere karşı koyarak çeşitli organların fonksiyonlarını düzenler. Nefropati, nöropati, retinopati gibi diyabete bağlı gelişen birçok komplikasyonda olumlu etkileri gösterilmiştir (57,58).

### 2.3. Elektromanyetik Alan

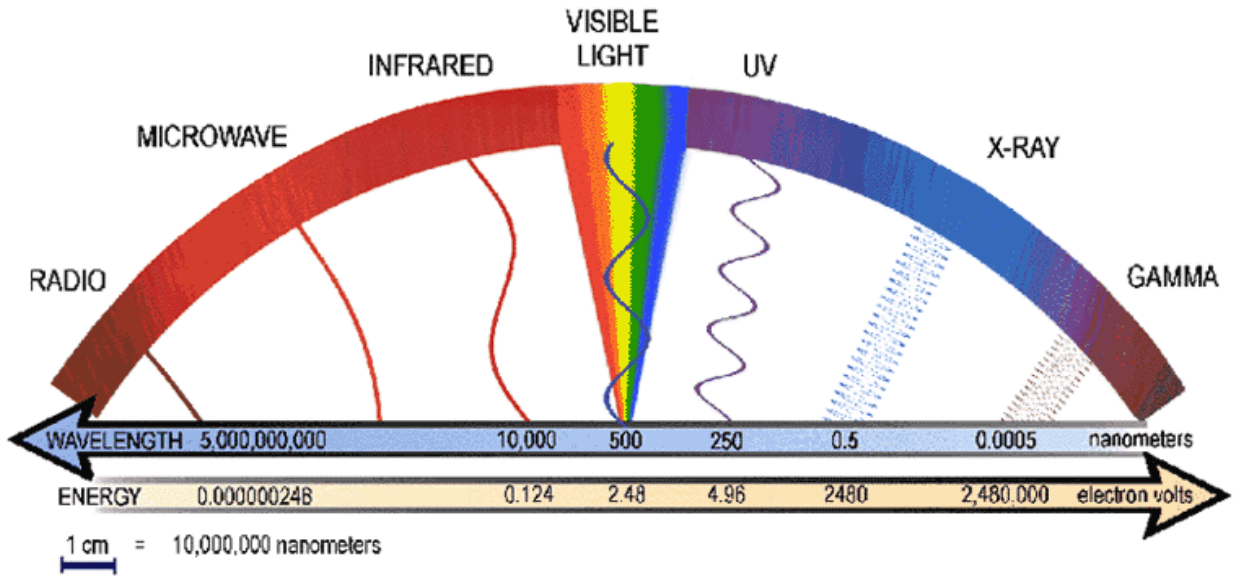
Dipol adı verilen en küçük manyetik birimlerin belli bir düzende sıralanması doğada bazı metallere (mıknatıs), manyetik özellik denen bir tür enerji alanı oluşturabilme yeteneği kazandırır. Buna karşın bazı materyaller ise manyetik alan içerisine konduklarında, manyetik alanla aynı yönlü etkileşerek manyetik özellik kazanırlar.

Günümüzde geniş bir spektrumu bulunan değişken elektrik, manyetik ve elektromanyetik alanlar (EMA), yüksek gerilim hatlarından radarlara, iletişim araçlarından TV ve radyo vericilerine, ofis ve evlerdeki elektrikli aletlerden trafo merkezlerine kadar pek çok elektrikli sistemden yayılmaktadır. Dünya, yıldızlar, güneş, yıldırım gibi doğal kaynaklar başlıca EMA kaynakları arasında sayılabilir. Yapılan çok sayıdaki araştırma sonucunda canlı organizmaların noniyonizan EMA'lara maruz kalma sürelerine ve şiddetlerine sınırlamalar getirilmiştir.

Doğal ve birçok yapay kaynak elektromanyetik enerjiyi dalgalar halinde yayar. Bu dalgalar elektriksel ve manyetik titreşim alanlarından oluşur. Bu titreşimli alanlar, bitki, hayvan ve insan hücreleri gibi biyolojik sistemleri çeşitli şekillerde etkilemektedir. Bu etkileşimi daha iyi anlamak için elektromanyetik spektrumu meydana getiren dalganın fiziksel özelliklerini daha iyi bilmek gerekir (59,60).

Elektromanyetik dalga, dalga boyu, frekansı ve şiddeti ile karakterize edilir. Bu üç parametre birbiri ile bağlantılıdır. Ayrıca her bir parametre tek başına da biyolojik sistemleri etkileyebilmektedir. EMA şiddeti Gauss (G) ya da Tesla (T) birimleriyle ölçülür ( $1 T=10^4 G$ ) ve EMA kaynağından uzaklaştıkça şiddet azalır. Çevremizdeki EMA genellikle mT veya mG ile ifade edilecek kadar düşüktür, örneğin dünyanın manyetik alanı 0.025-0.065 mT (0.25- 0.65 G) arasında değişmektedir. Diğer yandan hastanelerde tanı amaçlı kullanılan manyetik rezonans görüntüleme sisteminin ürettiği EMA şiddeti 0.1 T ile 10 T arasında büyük bir değerdedir. EMA'nın bir saniye içindeki değişimi yani frekansı Hertz (Hz) birimi ile ifade edilir. Zaman içinde EMA şiddeti değişmiyorsa sabit EMA olarak adlandırılır. Ancak çevremizde değişken şiddetli EMA kaynakları, 0 Hz ile  $10^{22}$  Hz arasında çok geniş bir frekans aralığında bulunmaktadır (61).

Dalgaların yükseliş zamanı ve frekans arasında ilişki olmasına rağmen bazı yazarlar yükseliş zamanının frekanstan daha önemli olduğunu savunmaktadır (62). Düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar ‘Elektromanyetik Alanlar’ ve yüksek frekanslı dalgalar ‘Elektromanyetik Radyasyon’ olarak adlandırılmaktadır. Elektromanyetik dalgalar yüksek frekanslı, fotondaki enerji miktarı da oldukça yüksek olan ‘İyonlaştırıcı Radyasyon’ (Nükleer Radyasyon) veya düşük frekanslı enerjisi düşük olan ‘İyonlaştırmayan Radyasyon’ (Elektromanyetik Radyasyon) olarak da adlandırılmaktadır. İyonlaştırmayan radyasyon termal veya termal olmayan etkiler oluştururken iyonlaştırıcı radyasyon ise atom bağlarını kopararak hücrelerdeki moleküllerin parçalanmasına neden olmaktadır. Biyolojik sistemlere olan etkisi belirsiz olan iyonlaştırmayan radyasyon sınıflamasına statik (0 Hz), ekstrem alçak frekans alanları (ELF, > 0-300 Hz) ve yüksek frekans alanları (HF, 300 Hz-300 GHz) girmektedir.  $10^6$ - $10^{10}$  Hz frekansları arasında radyo dalgaları (RF) bulunmaktadır.  $10^{10}$ - $10^{12}$  Hz bölgesinde mikrodalgalar (MW),  $10^{12}$ - $10^{15}$  Hz bölgesinde infrared, görünen ışık ve ultraviyole ışınları bulunur.  $10^{17}$  Hz üzerinde x-ışınları ve gamma ışınları bulunur ve manyetik spektrumun en üst bandını oluştururlar (63,64).



Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum

### 2.3.1. Elektromanyetik alanın etki mekanizması

Değişken EMA'ların oluşturduğu elektrik potansiyeli, canlı dokulardaki iyonik yükleri kendi alan çizgileri yönünde değiştirmeye zorlar. EMA'nın dokular üzerindeki etkisi frekans, şiddet ve dalga boyuna bağlıdır. DC manyetik ve elektrik alanlar iyonlarda

sadece polarizasyona neden olurken, osilasyon yapan AC alanlar iyonlarda titreşime neden olur (65). Tedavi amaçlı olarak çok düşük frekanslı EMA kullanılabilir. Bunların şiddetleri  $\mu\text{T}$  yada en fazla birkaç  $\text{mT}$ 'yi aşmamakta, frekansları ise çok düşük tutulmaktadır. Yüksek frekanslı manyetik alan uygulamasında (elektromanyetoterapi) elektrik alan ve ısı etkisi ön planda iken alçak frekanslı manyetoterapide manyetik alan etkisi hakimdir (66,67). PEMA'lar Faraday akımı üreterek dokularda etkili olurlar. Statik magnetler ise yarattıkları manyetik alanla aslında pulse olmadıkları için dokularda direkt PEMA gibi elektrik akımı yaratamazlar ama mikroçevredeki kan akımı nedeniyle oluşan iyon hareketleri ile Hall etkisi oluşur (68).

Krom ( $\text{Cr}^{+2}$ ), Demir ( $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ), Manganez ( $\text{Mn}^{+2}$ ), Kobalt ( $\text{Co}^{+2}$ ), Bakır ( $\text{Cu}^{+2}$ ), Gadolinium ( $\text{Gd}^{+3}$ ), Dysprosium ( $\text{Dy}^{+3}$ ) ve organik serbest radikaller gibi paramanyetik maddeler ve demir (Fe), nikel (Ni), kobalt (Co) ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  gibi Ferromanyetik elementler atom numarası ve / veya kütle numarası tek sayı olan bütün atomlar kendi etrafında dönerek (spin hareketi yaparak) ve elektrik yüküne sahip olarak güçlü manyetik alan olmadan da manyetizma nedeni olmaktadır. Ancak inert gazlar, çoğu organik moleküller (doku) ve NaCl gibi kristal tuzları gibi diyamanyetik maddeler de olduğu gibi atomdaki elektron çemberlerinde ve çember alt gruplarında çift sayıda elektron var ise bu elektronlar birbirlerine ters yönde hareket ederler ve birbirlerinin oluşturdukları manyetizmayı nötralize ettiklerinden dolayı atomda manyetizma oluşmaz. Fakat atomlar güçlü manyetik alan içine (magnet içine) konacak olurlarsa elektronların dizilişinde bu manyetik alan etkisi ile değişiklik olacağından güçlü manyetik alan vektörüne ters yönde küçük bir manyetizasyon oluşur. Bu da gösteriyor ki manyetik alan dizilmeyen elektronları yeniden dizerek manyetik alanın insan vücudundaki çeşitli iyonları, sinir iletim sırasındaki elektronları, büyük biyolojik moleküllerin içindeki elektronları da doğrudan etkileyebilmektedir.

İnsan vücudunda da manyetizma nedeni olarak beslenme ve solunum yoluyla doğadan alınan  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , hücre zarındaki elektrik potansiyeli vücut sıvısındaki hidrojen atomları sebep gösterilmektedir. Demir kanın yüzde dördünü oluşturur. Mikrotatılar da demiri çeker ve belirli bir alanda kan akışı artar. Hücrenin her türlü yaşamsal olayını düzenlemesine ve sürdürmesine aracılık eden hücre zarındaki elektrik potansiyelini ise hücre membran özellikleri membran iyon konsantrasyonları farklılığı ve membranın

seçici geçirgenlik özellikleri oluşturur. Manyetik alanın organizma, organ, doku, hücre hatta molekül ile rezonansa girdiği ve manyetik alanın özellikle hidrojen iyonu olan tek protona yer değiştirilerek pH dengelerini etkilediği belirtilmektedir. İyileşme için gerekli oksijen kullanımı sağlanır. Atımlı manyetik alanlar O<sub>2</sub> basıncını, perfüzyonunu ve kapiller kan akımını arttırarak metabolitlerin o bölgedeki birikimi azaltır. Sonuçta ağrı azalır. Manyetik alanlar vücut tarafından elektrik stimulusu olarak algılandığından endorfinlerin salgılanmasına neden oldukları için de ağrıyı azaltırlar (66,69,70).

### **2.3.2. Modülasyonlu manyetik alanın biyolojik etkileri**

Değişken manyetik alana maruz kalan canlılarda, vücut içi moleküllerin elektriksel olarak yüklü olmaları nedeniyle, elektrik akımlarının oluştuğu görülür. Örneğin; 3 T/s'lik bir manyetik alan, insan başı çevresinde 30  $\mu\text{A}/\text{m}^2$  'lik bir akım yoğunluğu meydana getirir. İndüklenmiş elektrik akım yoğunluğu hücresele seviyede etkilidir. Tüm vücut değişken manyetik alan etkisinde kaldığında aşağıda belirtilen sınırlar dahilinde vücutta bazı değişikliklerin olduğu bildirilmektedir.

A) 50/60 Hz'de 0.5-5 mT üzerindeki manyetik alan veya 3 Hz'de 10-100 mT'lık manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 1-10  $\text{mA}/\text{m}^2$ 'lik akım yoğunluğu ikinci derecede biyolojiksel etkiler meydana getirir.

B) 50/60 Hz'de 5-50 mT üzerindeki manyetik alan veya 3 Hz'de 100-1000 mT'lık manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 10-100  $\text{mA}/\text{m}^2$ 'lik akım yoğunluğu, görmeyi içeren dokular ve sinir sisteminde tedavi edici etkileri vardır. Ayrıca kemik kırığını yeniden daha hızlı birleştirilmesinde rol oynar.

C) 50/60 Hz'de 50-500 mT üzerindeki manyetik alan veya 3 Hz'de 1-10 T'lık manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 100-1000  $\text{mA}/\text{m}^2$ 'lik akım yoğunluğu, uyarılabilir dokuları stimüle etmektedir.

D) 50/60 Hz'de 500 mT'dan büyük veya 3 Hz'de 10 T'lık manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 1000  $\text{mA}/\text{m}^2$  'lik akım, ekstrasistoller, ventriküler fibrilasyon ve akut sağlık riski meydana getirmektedir (71).

### **2.3.3. Klinikte elektromanyetik alan uygulama yöntemi**

Tıp alanında kullanılan terapatik EMA (Elektromanyetik alan) modalitelerini statik manyetik alanlar, alçak frekanslı sinüs dalgaları pulse elektromanyetik alanlar (PEMA)



pulse radyofrekans alanları (PRF), transkranyal manyetik/elektrik stimulyasyon ve milimetrik dalgalar olarak sınıflandırabiliriz.

Statik manyetik alanlar; statik magnetlerden ve doğru akımla bobinlerden elde edilebilir. Alçak frekanslı sinus dalgaları manyetik alanları; 50 Hz (Avrupa ve Asya'da), 60 Hz (Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada) elektrik hatlarında kullanılan frekans içerir. Pulse elektro manyetik alanlar genellikle düşük frekanslı çok spesifik dalga şekli ve amplitüdü olan manyetik alanlardır. Günümüzde kullanılan terapötik radyofrekans cihazları; 27.12 Megahertz (Mhz) frekans üretirler, iki modifikasyonları vardır: sürekli moda derin ısı üretirler, pulslu non-termal moda yumuşak doku stimulyasyonu yaparlar. Yakın zamanlarda milimetrik dalgalar 30-100 Gigahertz (Ghz) gibi çok yüksek frekanslarda birçok hastalığın tedavisinde Sovyetler Birliği ülkelerinde kullanılmıştır. Transkranyal manyetik stimulyasyon; beynin seçilen bölgesine çok kısa pulse halinde 8 T'ya kadar uygulanan manyetik alan uygulamalarını içermektedir (6,7,61,66).

#### **2.3.4. PEMA (Pulslu elektromanyetik alan)**

Manyetik özelliğe sahip bir metal parçası bobin şeklinde sarılmış iletken tellerin içindeki aralıkta hareket ettirilirse bobinde indüksiyon akımı tarzında bir elektrik akımı oluşur. Buna karşılık bobinde sürekli akım geçirildiğinde statik türde bir manyetik alan yaratılmış olur. Böyle bir alanın şiddeti belirli bir düzeyin üzerine çıkarıldığında başta ısınma olmak üzere istenmeyen etkiler ortaya çıkar. Şiddet 200 T'ya erişene kadar istenmeyen etkilerden kaçınmak mümkündür. Alçak frekansa sahip bir pulse manyetik alan elde edebilmek için önceleri kesikli sinüzoidal akımdan faydalanırken, günümüzde dörtgen tarzında galvanik akım pulsları kullanılmaktadır. Frekans artınca, ısı etkisi artar ve manyetik alan etkisi baskılanır. Manyetik alan uygulamalarında değişik teknik ve modaliteler üzerinde anlaşma ve standart protokoller yoktur. Yine de enflamatuvar sürecin iyileştirilmesinin kolaylaştırılmasında düşük frekanslı ve yoğunluklu manyetik alan parametrelerinin daha etkili olduğu belirtilmektedir. Bu yüzden 100 Hz altında frekanslar, cihazlarda tercih edilmektedir. Bu cihazlarda kabul edilen manyetik alan akı yoğunluğu ise 10 mT civarındadır. Elektromanyetik alan tedavisinde çoğu zaman solenoid sistemi tercih edilmektedir. Solenoidin içinde güçlü, dışında zayıf manyetik alan oluşur, solenoidin içerisindeki bu manyetik alan her iki ucu arasında homojen olarak yayılır. Dokudaki akımın akışı bobinden akan akımın zıt yönündedir. Bu akımın

amplitüdü bobin kenarlarının hemen altında yoğun bir şekilde bulunur. Güney kutup, saat istikametinde olup, dolaşımı arttırır. Kuzey kutup ise, saat istikameti tersinde olup, oksijenizasyonu arttırır. PEMA’da manyetik alan birbirini alterne eden kuzey ve güney polariteleri olmak üzere bipolar olabilir (61,62,66).

### **2.3.5. Deneysel elektromanyetik alan uygulama yöntemi**

Helmholtz bobinleri Faraday kafesine yerleştirilerek EMA uygulaması, bu alanda çalışan araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır. Teslametre probu manyetik alanın şiddetini ve dijital termometre sıcaklığı ölçmek amacıyla kullanılır. Ayrıca bobinler, frekansı ve voltajı ayarlanabilir bir güç kaynağına bağlanır (8,72)

### **2.3.6. Elektromanyetik alan uygulamaları**

Yüzyıllardır kronik ağrı veya diğer biyolojik problemlerin tedavisinde kullanılan statik veya pulslu elektromanyetik alanların etkileriyle ilgili net deliller yakın zamana kadar elde edilememiştir. Diğer yandan literatüre bakıldığında elektromanyetik alan tedavisinin özellikle romatizmal hastalıklarda, geç ve zor kaynayan kırıklar ve alt ekstremitenin iskemik bozukluklarının tedavisinde etkili olduğu, ayrıca multiple sklerozda, periferik fasyal paralizide, kraniofasyal ağrıda, spastisitede, oftalmalojide retinanın dejeneratif hastalıklarında da umut verici etkileri olduğu bildirilmektedir (7).

#### **2.3.6.1. Ağrı**

Manyetik alanın analjezik etkisi incelendiğinde direkt olarak nöron ateşlenmesi, kalsiyum iyon hareketi, membran potansiyelleri, endorfin düzeyleri, nitrik oksit, dopamin düzeyleri, akupunktur etkileri ve sinir rejenerasyonuna etki etmesiyle indirek olarak da dolaşım, kas, doku oksijenlenmesi, inflamasyon, iyileşme, hücre metabolizması ve hücre enerji düzeyleri gibi fizyolojik foksiyonlara etki etmesiyle ortaya çıkar. Klinik deneyler PEMA’ın oksijen basıncı artırıp kan akışını hızlandırarak küçük damarlanmalar sağlayarak metabolitlerin birikmesini önlediği ve bunun sonucu ağrı tedavisinde kullanıldığını belirtilmiştir. Oluşan toksinler bu dolaşan kanla birlikte karaciğer ve böbreklere taşınır (73).

Daha iyi çalışmalara ihtiyaç duyulsa da Post-polio sendromu, kronik refrakter pelvik ağrı, kronik boyun ağrısı, diyabetiklerde ayak ağrısı ve kronik bel ağrısı karpal tünel sendromuna bağlı ağrı gibi birçok ağrı tipi için statik ve pulslu manyetik alan tedavisi çalışılmıştır (74). Bir derlemede statik manyetik alan tedavisinin etkileri incelenmiş ve olguların yaklaşık yarısında ağrıda düzelme saptandığı bildirilmiştir. Bu çalışma gözönüne alındığında elektromanyetik alan çalışmalarının ümit verici olduğu görülmektedir (7). Bir manyetik yastık boyun ağrısı, bir manyetik şilte uykusuzluk problemi olan hastalara yardımcı olmak için kullanılabiliceğini (75) savunan çalışmalar da mevcuttur. 1.25 Hz 5 ms 600 G ile brakioradialiste oluşturulan akut ağrıda fark görülemediği bildirilmiştir (76).

Vellbona ve ark. 'nın postpolio hastalarında statik manyetik alanların ağrıya yanıtının araştırıldığı ve değerlendirilmenin McGill ağrı sorgulamasıyla yapıldığı çift-kör plasebo kontrollü çalışmada, 50 post-polio sendromlu hastanın ağrılı noktalarına 45 dakika 300-500 G gücünde statik manyetik alan tedavisi uygulanmıştır. Postpolio olgularında ağrı tedavisinde statik manyetik alan uygulanması etkin bulunmuştur (77). Diyabetik ayak ağrısında yürümeyle artan ayak ağrısının, uyuşma ve yanma gibi semptomların statik manyetik ayakkabı tabanlıklarının kullanılması ile azaldığı bildirilmektedir (74).

Pulse elektromanyetik alan tedavisinin diz osteoartritli hastalarda etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 483 denek üzerinde gerçekleştirilmiş dokuz çalışma incelenmiştir (78). PEMA tedavisi ağrı ve tutukluk skorlarında istatistiksel önem arz etmeyen farklar oluştururken, günlük yaşam aktivitelerinde ve fonksiyon skorlarında anlamlı fark yarattığı belirtilmiştir. Bu sonuçlara göre PEMA tedavisinin diz osteoartritli hastaların ağrıları üzerinde değil ancak fonksiyonları ve günlük yaşam aktiviteleri üzerinde olumlu etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Başka bir çalışma da semptomlara olan etkilerin klasik fizik tedavi uygulamasından daha üstün olmadığını savunmuştur (79). Ayrıca Artrit, bel ağrısı gibi nedenlere bağlı oluşan ağrıda 300-500 G'luk bir manyetik alan kullanımının önerilebileceği, Ağrının yoğunluğuna bağlı olarak 5 dakika veya birkaç hafta, her gün birkaç saate uzayan uygulamaya ihtiyaç duyulabileceğini (80) bildirilmiştir.

### **2.3.6.2. Kas iskelet sistemi**

Modern tıpta terapötik amaçlı kullanımı 40 yılı aşkındır sürmekte olan elektromanyetik alanlar, özellikle çok düşük frekanslarda kemik fraktürlerinin gecikmiş iyileşmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. PEMA'nın bağ dokusu (kıkırdak, tendon, bağ ve kemik) ile yumuşak doku yaralanmalarında (6,7) olumlu etkileri bildiren birçok çalışma mevcuttur.

#### **2.3.6.2.1. Kırık**

Tibia veya uzun kemiklerin geçikmiş kaynama ve kaynanama durumlarında PEMA'nın faydalı sonuçlarının yanında (81) el bileğinin skofoid gibi en geniş kırıklarının, metatarsal kemik gibi ayak kemiklerinin ve vertebra kırıklarının iyileşmesinde kullanılmaktadır. Ancak bunlarla ilgili araştırmalar yetersiz ve PEMA'nın kemik aşılama gibi diğer fraktür tekniklerinden daha iyi veya eşit etkinlikte olduğu net değildir (74). PEMA ve kesikli ultrason karşılaştıran bir derlemede Kesikli elektromagnetik alanın 0.1 ile 2 mT ile 16 ile 75 Hz arasında değişen frekanslarla yapılan uygulamaları olduğu bunların sonuçlarına dayanarak PEMA'nın büyüme faktörleri artışı ile osteogenezise teşvik edebildiği anlaşıyor. Kaynamama durumlarında yararlı etkileri görülürken taze kırıkta 70 -80 günden önce önerilmemekle birlikte bazı çalışmalarda kaynama zamanını kısalttığı bildirilmiştir (82). Başka bir derlemede ise 159 çalışma incelenmiştir. Genelde LİPUS (kesikli ultrason) Akut kırıkta etkili olduğu (83) Rektangular dalga şekilli EMA'nın günde 3 ila 6 saat 3 ay boyunca uygulanması sonucu osteogenezisi regüle ettiği köpeklerde 2 mV/cm güçde 1.5 µs'lik 1 Hz frekansında EMA'nın da kırık iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (84). 18 yaş üstü tibia shaft kırığı olan, 16 haftada iyileşmemiş olan hastalar 12 hafta günde 12 saat 20 Hz PEMA uygulanması sonucu ağrı ve hassasiyette belirgin azalma olduğu, hastaların % 55 inde kırıkta kaynama gözleendiği ve konjenital pseudoartrozlu hastalara normal kemik periostunun 1cm'si üzerinde 1.5 mV enerji üreten EMA cihazıyla günde 10–12 saat terapi uygulanması sonucu 3 ay ile 4 ay arasında kaynama sağlandığı bildirilmiştir (85)

### **2.3.6.2.2. Osteoporoz**

Genelde 50 Hz altında 20 mT dan yüksek olmamak şartıyla 111 çalışma incelenerek PEMA'nın osteoporoz üzerine etkisi araştırılan bir derlemeye göre genellikle Sekonder osteoporozda kemik mineral yoğunluğu arttığı primer osteoporozda ise kemik yapımını arttırdığı ve ağrıyı azalttığı bildirilmiştir (86). 5 farklı grup yapılarak hem sürekli veya aralıklı hem de 15 Hz ve 7.5 Hz frekansındaki PEMA'nın osteoporozda kontrol grubuna göre etkili olmadığı belirtilmiştir (87). 8 g 15 Hz ve 8 ms geçiş süresi olan deneysel bir elektromanyetik alanın serum transforming growth factor-beta 1 (TGF-b1) salgılanmasını arttırması, and interleukin-6 (IL-6) inhibe ederek kullanılmaya bağlı osteoporozda kemik kütlesi kaybını azalttığı belirtilmiştir (88). PEMA'nın diyabete bağlı osteoporozda da kemik gücü ve mimari bozulmasını önlemek ve bozulmuş kemik oluşumu artırabildiği gösterilmiş PEMA diyabetik osteoporoz inhibe edici bir yöntem olabileceği düşünülmüştür (89).

### **2.3.6.2.3. Osteoartrit**

Pulsu elektromanyetik alan tedavisinin servikal osteoartritli 34 hastada uygulandığı ve ağrı, eklem hareket açıklığı (EHA), fonksiyonel durumun değerlendirildiği bir çalışmada tedavi grubunda olumlu sonuçlar gözlenirken plasebo grubunda değişme olmamıştır (90). Collacot ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bipolar permanent manyetik tedavi kronik bel ağrısında etkili olmadığı bildirilmiştir (91). Osteoartritli hastaların tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği (92) özellikle semptomatik iyiliği sağladığı (93) bildirilmiştir. Bir çalışmada osteoartrite bağlı kronik diz ağrısında düşük amplitüdü ve düşük frekanslı manyetik alan tedavisinin etkin ve güvenli olduğu gösterilmiştir (94). Harlow ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da standart güçte, statik bipolar manyetik bilezikler 12 hafta süreyle kullanılmış ve sonuçta kalça ve diz osteoartrite bağlı ağrıda azalma olduğu belirtilmiştir (95). 9 çalışmadan alınan verilere göre PEMA'nın diz osteoartriti için konservatif tedavi seçeneklerinden biri olabileceği bildirildi. Ancak bu çalışmalara göre ağrıdan çok günlük yaşam aktiviteleri üzerine etkili olduğu göze çarpıyor (96). Romatoid artritte bağlı diz ağrısında statik manyetik alan tedavisinin araştırıldığı Segal ve arkadaşlarının yaptığı çift-kör çalışmada ağrı azalmasında anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (97). Trock ve ark. primer osteoartritli hastalar üzerinde yaptığı klinik bir çalışmada tedavi grubuna günde 30 dk

30 Hz frekansında 10-20 G gücünde bir ay boyunca 18 seans PEMA uygulandı. Tedavi grubunun plasebo grubuna göre ağrı ve hareket skorlarının %47 daha iyi olduğu görülmüştür (98). Sanseverino ve arkadaşları ve Konrad ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara göre 15-20 seans 15-40 dk 50 Hz, 3 mT - 6 mT manyetik alan terapisinin eklem ağrısını azalttığını eklem hareket açıklığını arttırdığını saptanmıştır (99,100). Benzer değerlerde ancak günde 5-9 saat uygulandığında eklem ağrısını azaltarak hareket açıklığının arttığını bildirmişlerdir (101). Ancak 0.034 –0.274 mT gücü ve 0.976 – 7.7 Hz frekansı gibi daha düşük değerlerde de manyetik alan terapisi hastaların diz ekleminde ağrı şikayetinde azalma meydana gelmiştir (94).

#### **2.3.6.2.4. Fibromiyalji**

Kronik bir romatolojik rahatsızlık olan fibromiyaljide 7 gün boyunca hastalara 400  $\mu$ T-1000 Hz ve altı alan oluşturan başlıklı kulaklığa benzer portatif PEMA cihazı verildi – 7 gün günde 2 defa 40 dk uygulama yapıldı. 4 haftaya kadar Vizuel Analog Skala (VAS) ile ağrı ölçümü yapıldı. FM hastalarında ağrı azalma olması PEMA'nın bir tedavi seçeneği olabileceğini gösteriyor. Ancak bu çalışmada 4 haftaya doğru tekrar ağrı artma görülmüştür (102). 400  $\mu$ T ve daha az yoğunluktaki manyetik alan 30 dk uygulanmış. Sonuçta romatoid artritli hastalarda ağrı azalma olduğu ancak fibromiyalji hastalarındaki bulguların çelişkili olduğu bildirilmiştir (6). Ayrıca manyetik uyku şiltesi şeklinde manyetik alan tedavisi uygulamasının fibromyaljide yararlı olmadığı düşünülmektedir (74).

#### **2.3.6.2.5. Osteonekroz**

Femur osteonekroz modeli oluşturulan tavşanlar 15 Hz 4,5 ms geçiş süresi ile günde 10 saat manyetik alana maruz bırakıldı. Bu uygulamanın kortikosteroid öncesi uygulanmasının muhtemelen anjiogenez vazodilatasyon etkileriyle osteonekroz sıklığı ve riskini azaltabildiği bildirilmiştir (103). Çeşitli nedenlerde ameliyat olamayan femur başı osteonekrozu saptanan 2 hastaya (3 kalça) 75 Hz 6 ay süreyle günde 10 saat PEMA uygulaması yapıldı. Bu hastaların uzun süre izlenmesi sonucu femur başı Osteonekrozlu hastalarda PEMA'nın bir sağıtım seçeneği olabileceği düşünülmüştür (104). Osteokondral defekt oluşturulan Tavşan modeli set şeklinde 1 Hz 20 volt sinüzoidal dalga 6 hafta kesikli manyetik alana maruz bırakılmış. PEMA'nın hiyalin

kıkırdak oluşumunda etkili olduğu bildirilmiştir (105). PEMA tedavisi uygulanan avasküler nekrozlu (AVN) hastaların ortalama 28 ay izlendiği bir başka çalışmada ise erken evrede bu tedavinin faydalı olabileceği savunulmuştur (106).

#### **2.3.6.2.6. Bağ dokusu**

Devereaux ve arkadaşları darbeli 200 ms, 15 Hz EMA'nın lateral humeral epikondilit üzerine bir etkisi olmadığını savunurken (107) Uzunca ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PEMA, plasebo PEMA ve lokal steroid + anestezi enjeksiyonu gruplarıyla karşılaştırılmış, Lokal steroid + anestezi yapılan grupta manyetik alan uygulanan gruba göre ve manyetik alan uygulanan grupta plaseboya göre ağrıda anlamlı azalma olduğu saptanmıştır (108). ACL rekonstrüksiyonu olan hastalarda ameliyattan 7 gün sonra 60 gün boyunca PEMA tedavisi uygulanıyor. PEMA grubunda ağrı inflamasyon limitasyon yönünden plasebodan daha iyi sonuçlar elde edildi, daha hızlı fonksiyonel iyileşme oldu (109). 0.18 mT gücünde, 1,5 Hz frekansında tavşanlarda lomber füzyonda kullanılan greft stimülasyonunu arttırarak füzyonu hızlandırdığını bildirilmiştir (110).

#### **2.3.6.3. Melatonin**

Melatoninin, antistress, antiaging, kanser, enfeksiyon, solunum ve serbest radikallerin üretiminde kontrol edici özelliğe sahiptir. 1998'de yapılan bir çalışmada 2.9 mT 40 Hz şeklinde düzenlenen bir protokolda serum melatonin düzeyinin azaldığı belirtilmiştir. Bunun gibi manyetik alanın hayvanlarda serum melatonin düzeyini etkilediğine dair kanıtlar olmasına karşın 25-80  $\mu$ T 200 Hz ile yapılan başka bir çalışmada serum melatonin düzeyinin etkilenmediği belirtilmiştir (111). 60 gün günde 2 saat 2.45 GHz ile mikrodalga 100 Hz PEMA ile tedavi uygulanıyor. Mikrodalga grubunda melatonin ve testosteron düzeylerinde azalmanın daha fazla olduğu gözlenmiştir (112). 900 MHz 217 Hz ile kesikli hale getirilmiş. 577  $\mu$ s geçiş olan manyetik alanın 28-37 yaş arası sağlıklı erkek denek üzerinde etkileri incelenmiştir. 3 ardışık gün yapılan uygulamalar sonucu melatonin kortizol ve growth hormonda belirgin değişiklik görülmemiştir. Ancak REM dönemi azalmıştır. Kortizolda hafif geçici bir artış olması organizmanın uyarıya adapte olduğuna işaret ediyor. Bu çalışma dijital mobil telsiz telefonun nöroendokrin sistem üzerine önemli bir etkisinin olmadığını savunuyor (113)

#### **2.3.6.4. Multiple skleroz**

Multipl sklerozlu (MS) hastalarda yapılan manyetik alan tedavisi çalışmalarının farklı sonuçları bulunmaktadır. PEMA'nın multipl skleroz hastalarında genel yaşam kalitesi ve yorgunluk üzerinde olumlu etkisi olduğu bildiren çalışmalar mevcuttur. Manyetize edilmiş kan dokular içinden geçerken toksinler de daha sonra detoksifikasyon ve boşaltım için böbrekler ve karaciğere taşınır (74). 2012'de yapılan bir çalışma da ise primer yorgunluk, hastalığa bağlı yorgunluk oluşan MS'te 37.5  $\mu$ T ve 4-7 Hz frekansındaki pemanın yorgunluk üzerine etkisi saptanmamıştır (114).

#### **2.3.6.5. Sinir**

Siyatik sinir hasarı modeli oluşturulan ratlarda 0.3 mT 20 ms dinlenme 2 Hz PEMA ile tüm vücut uygulama yapılmıştır. Bu çalışma sonucu PEMA'nın sinir zedelenmesi sonrası iyileşmeyi hızlandırdığı belirtilmiştir (6). Bu görüşü savunan başka bir çalışmada laryngeal sinir hasarı oluşturulan ratlarda bir grup 120 Hz 0.4 mT manyetik alana 12 hafta haftada 5 gün ve günde 3 saat maruz bırakıldı. Bu grupta aynı cerrahi işlemle sinir harabiyeti oluşturulan kontrol grubuna göre iyileşme 2 kat hızlı olmuştur. PEMA grubunda daha iyi motor fonksiyonlar(vokal kord hareketi) görülmüş ve phospholipase C-gamma1 (plc-gamma1) ve nitric oxide synthase (nNOS)'ın yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunlar pemanın etkilediği büyüme faktörleri ve mitojenlerin sinyal iletiminde rol alan plc-gamma1(gangliyon) ve nNOS(schwann) hücrelerine pozitif etkilerinin olması sonucudur (115). İnsanlarda yapılan bir çalışmada 50 Hz frekans altında, 1 mT manyetik alana 65 saat maruz kalan gönüllülere kavrama fonksiyon testleri uygulanmış ve herhangi bir olumsuz etkileşim görülmemiştir. (116). 0.15 mT 60 Hz sinüzoidal 0.15 mT EMA 4-24 saat arası hücre kültürüne uygulandı. Uygulamanın apoptozisi engellediği belirtilmiştir (117).

#### **2.3.6.6. Kalp dolaşım**

Pulsu elektromanyetik alanların, hayvanlarda ve insanlarda anti-inflamatuar ve pro - rejeneratif etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Ratlarda distal orta serebral arter tıkanıklığında infarkt büyüklüğü ve inme sonrası inflamasyon üzerine PEMA etkisini



incelemek üzere yapılan bir çalışmada inme sonrası iyileşme süreci üzerinde olumlu etkisi olabileceği belirtilmiştir (118).

Pulsu elektromanyetik alan 15 Hz 6 mT ile sıçanlarda miyokardın anjiogenezine yol açmakta ve MI sonrası kalp fonksiyonlarını iyileştirdiğini göstermektedir (119). Pencere etkisi bazı frekans ve manyetik alan şiddet değerlerinde bir etkileşimin olması, diğer bazı değerlerde bu etkileşimin daha az veya ters bir yönde görülmesi durumu olarak bilinir. Bu nedenden dolayı, lenfositlerin in vitro ortamda düşük frekanslı elektromanyetik alana maruz bırakılmasıyla bazı çalışmalarda azalma gözlenmişken, çok sayıda çalışmada manyetik alanın lenfosit çoğalmasında olumlu etkilediğini gösterilmiştir (120,121).

Lenfositler üzerine olan bu etkiler pencere etkisiyle çok düşük frekanslı EMA'nın  $Ca^{+2}$  akışını değiştirmesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (122,123,124). Çok düşük frekanslı EMA uygulaması ile meydana gelen hiperpolarizasyonun sonucu doğrudan veya her iki etki sonucu ile  $Ca^{+2}$  girişi artmaktadır. Hücre içi  $Ca^{+2}$  artışının apoptoza yol açarak hücre sayısında düşüşe neden olduğu bildirilmektedir. Hücrenin enerji merkezi mitokondride meydana gelen apoptozu başlatan süreçler kalsiyum derişimlerine bağlıdır (125).

Böbrek dokuları üzerinde son derece düşük frekanslı darbeleri ve sinüs elektromanyetik alanların rolü araştırılmıştır. Ratlar 1.5 mT, 50 Hz, günde 6 saat, haftada 5 gün tabii tutuldu. Darbe süresi 25 ms olan PEMA grubu ve SEMA grubunda böbreğin moleküler bileşeninin olumsuz değiştiği bildirilmiştir (126).

### **2.3.6.7. Diyabette elektromanyetik alan tedavileri**

Araştırma çalışmaları vakaların %82'sinde manyetik tedavinin etkili olduğunu göstermiştir (127). Diyabette insülin sekresyonuna etki eden kalsiyuma ve kan şekerine etki ederek faydalı sonuçlar göstermektedir (8,128). Düşük frekanslı PEMA uygulamasıyla dirençli periferik nöropatik ağrı tedavisinde anlamlı sonuçlar elde edilmiş, subjektif semptomlarda azalma, sinir iletim fonksiyonlarında artma, yaşam kalitesinde artma olduğu bildirilmiştir (129,130,74).

### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışma, Gaziantep üniversitesi (GAÜN) Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı ve Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında yapılmıştır. Yapılan çalışma, Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nda 28/05/2012 tarih ve 18-13 nolu karar ile onaylanmış ve Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF.13.04 nolu projeye desteklenmiştir.

Çalışmada kullanılan deney hayvanları GAÜN Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Deney hayvanlarının bakımı ve beslenmesi yine GAÜN Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Deney hayvanlarına PEMA uygulanması GAÜN Tıp Fakültesi Biyofizik laboratuvarı'nda yapılmıştır. Deney sonunda hayvanlardan alınan kan ve doku örneklerinin biyokimyasal açıdan değerlendirilmesi GAÜN Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında ve Şahinbey Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Ölçülen biyokimyasal parametreler için gerekli olan cihazlar GAÜN Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda mevcuttur. Deneysel çalışma esnasında gerekli olan diğer sarf malzemeleri proje bütçesinden temin edilmiştir.

Sıçanların bakım ve beslenmeleri çalışma boyunca  $21\pm 2$  °C çevre sıcaklığı, % 55–60 nem ve 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü şartlarında gerçekleştirilmiştir. Hayvanların ağırlığı  $200\pm 50$  gr arasında olup standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Çalışmaya başlamadan önce yapılan muayenede sağlık durumu elverişli olmayan sıçanlar çalışmanın dışında bırakılmıştır. Çalışma 4 haftada tamamlanmış ve sıçanlar dekapitasyonla sakrifiye edildi.

Tedaviler aynı zaman diliminde gerçekleştirilmiştir (9:00-11:00) ve deney boyunca hayvanlar aynı çevre koşullarına tabi tutulmuştur. Sham PEMA (SPEMA) grubunda deneyler cihaz çalıştırılmadan, aynı çevre koşullar altında yapılmıştır.

### 3.1. Diyabet Oluşturulması

Diyabet oluşturmak için pH 4.5 sitrat tamponu ile hazırlanan streptozotosin (STZ) uygulandı. Deney gruplarında streptozotosin ile diyabet oluşturmak maksadıyla tek doz STZ 50 mg/kg intraperitoneal (i.p) olarak verildi. Kontrol grubuna ise, i.p %0.09 NaCl solüsyonu enjekte edildi. STZ uygulandıktan sonra 72. saatte kuyruktan alınan kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 300 mg/dl'nin üzerindeki değerler diyabetik olarak kabul edildi.

### 3.2. Deney Protokolü

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 180–220 gr arasında olan 32 adet Wistar cinsi, erkek sıçan kullanıldı. Deney protokolüne uygun olarak, sıçanlar rastgele kontrol (K; n=8), sham (SPEMA; n=8), diyabet (D; n=8), diyabet+PEMA (D+PEMA; n=8) olmak üzere toplam 4 gruba bölünmüştür.

1. Grup ( K Grubu): 8 sıçan aynı ortamda ve aynı şartlara tabi tutulmuştur. Standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Çalışmanın başında diğer sıçanlara STZ uygulanması esnasında bu gruptaki sıçanlara tek doz %0.09'luk izotonik NaCl intraperitoneal uygulandı.

2. Grup (D Grubu): 24 sıçan bir gece aç bırakıldıktan sonra diyabeti uyarmak için tek doz intraperitoneal 50 mg/kg streptozotosin (STZ) uygulandı. Uygulamadan sonra 3. Gündeki kan şekeri değerleri 300 mg/dL üzerinde olanlar diyabetli kabul edildi. Bunlardan 8 tanesine herhangi bir uygulama yapılmadı.

Geriye kalan 16 sıçana ise 3.Grup ve 4.Grup'ta yapılan uygulamalar;

3. Grup (Diyabet+PEMA): Deneysel olarak diyabet oluşturulan 8 sıçan diyabet tanısı konduktan sonra PEMA'nın antioksidan etkilerini incelemek üzere manyetik alan sistemine konuldu. Bu manyetik alan sisteminde PEMA dalgalarına günde 1 saat maruz bırakılmıştır. Oluşan manyetik alanın şiddeti bir teslametre ile düzenli olarak kontrol altında tutulmuştur.

4. Grup (SPEMA): Deneysel olarak diyabet oluşturulan 8 adet sıçan diyabet tanısı konduktan sonra SHAM grubu oluşturmak amacıyla cihaz kapalı olarak aynı çevre koşulları altında deney yapılmıştır.

Çalışmada literatür değerlendirmesi ve istatistiksel yaklaşımlar kullanılarak gruplara ait denek sayıları belirlendi.

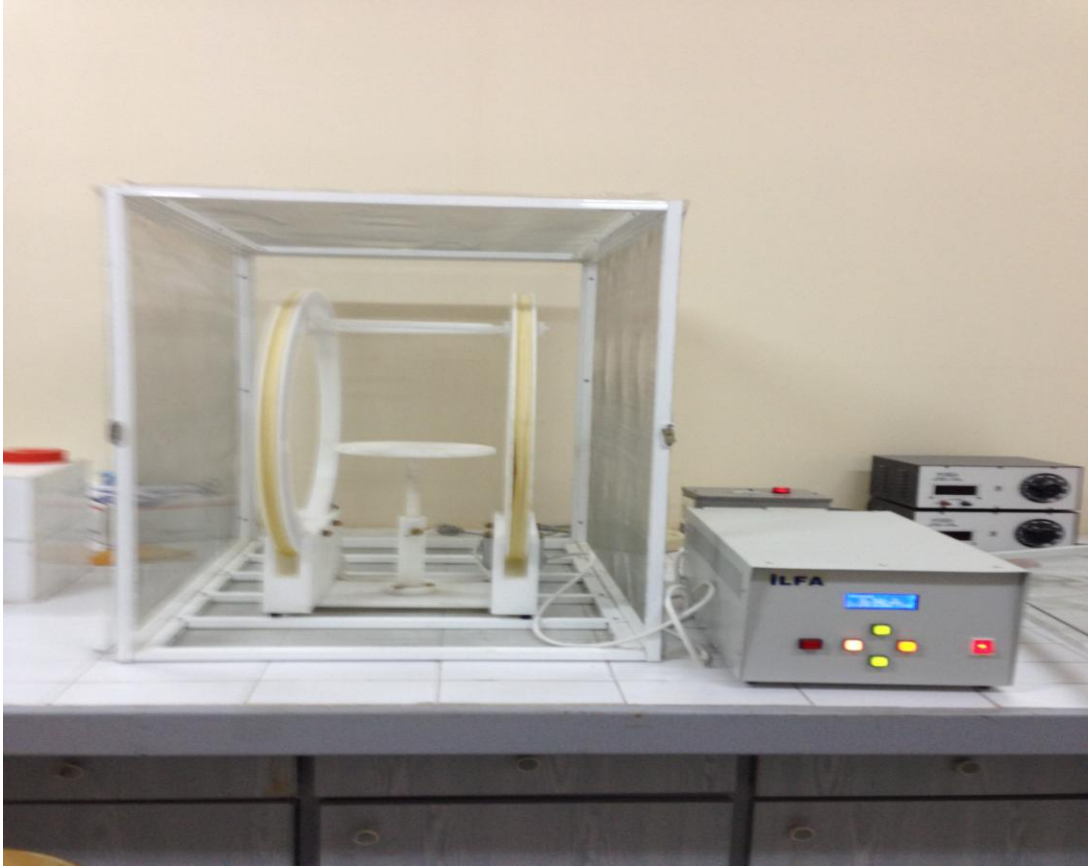
### 3.3.Pulsu Elektromanyetik Alan Uygulamasının Yöntemi

Deney hayvanlarına PEMA uygulanması Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik laboratuvarı'nda PEMA cihazı kullanılarak yapılmıştır. PEMA, Helmholtz bobin çiftinden elde edildi. Bobinler, yapısında bulundurduğu PIC16F877A mikroişlemci ile programlanabilen bir güç kaynağıyla beslendi. Bu güç kaynağı, değişik frekans (0–100 Hz), genlik (0–10 mT) ve dalga sürelerine (0–2500  $\mu$ s) sahip PEMA uygulamaları için özel olarak geliştirilmiştir. PEMA üretmek için kullanılan Helmholtz bobin çiftinin genel özellikleri tablo 3.1'de; deneylerimizde kullandığımız PEMA uygulama sistemi (Alfa Elektronik San.Tic.Ltd.Şti.) ise resim 3.1'de gösterilmiştir. Bu cihaz iki adet birbirine 30 cm mesafede paralel yerleştirilmiş 60 cm çapında Helmholtz bobinleri içermektedir.

**Tablo 3.1.** Pulsu manyetik alan oluşturmak için kullanılan Helmholtz bobin çiftinin genel özellikleri

Özdirenç* ( $\rho$ ; $\Omega \cdot m$ )	1.72x10-8
İletken çapı (mm)	2.5
Sarım sayısı	50
Bobin çapı (cm)	60
Bobinler arası mesafe (cm)	30
R ( $\Omega$ )/Bobin	0.78
RT ( $\Omega$ )/Bobin çifti	1.56
Endüktans (mH)	8.8

\* Helmholtz bobin çiftinin iletken unsurları bakır telden imal edilmiştir.  $\Omega$ : Ohm, H: Henry



Resim 3.1. Deneysel elektromanyetik alan uygulama sisteminin genel görüntüsü

Helmholtz bobinleri, 90x90x50 cm ölçülerindeki Faraday kafesine yerleştirildi ve dış ortamda oluşan EMA dan etkilenmeleri engellendi. Bobinlerin arasındaki yeryüzüne dik olarak oluşturulan düzgün manyetik alanın orta bölgesine, sıçanların bulunduğu 30x30x25 cm ölçülerinde pleksiglas kutu yerleştirildi. PEMA sistemine bir uygulama süresince aynı anda en fazla 8 adet sıçan yerleştirildi. Diğer hayvanların manyetik alan kaynağından uzak tutulmaları için 3x2 m büyüklüğünde topraklanmış saç levha kullanıldı. Bobinler, frekansı, voltajı, şeklini ve zamanı ayarlanabilir bir güç kaynağına bağlandı. Güç kaynağında frekans, genlik ve puls süresi programlanarak, manyetik alan uygulaması otomatik olarak yapıldı. Her uygulama öncesi Hall-effect prob bağlı Teslametre (Sypris Model 6010) ile bobinler arasındaki manyetik alanın şiddeti (tercihen 1.5 mT) kontrol edildi. Ortamın sıcaklığı klima ile  $21\pm 2$  °C aralığında tutuldu.

Deneysel olarak diyabet oluşturulan 8 sıçan diyabet tanısı konduktan sonra PEMA sistemine konuldu. PEMA uygulaması dört farklı frekansta ardışık puls treninin (1, 10, 20 ve 40 Hz) üç seri halinde uygulanmasıyla sağlandı. Her puls treninin geçiş süresi 4

dakika ve her puls trenini takiben bir dakika dinlenme olmak üzere; her seri 20 dakika, 60 dk/gün uygulanmıştır. Bir dijital zamanlama aygıtı ile zaman kontrol edilmiştir. PEMA tedavileri diyabet tanısı konduktan sonra başlayıp 4 hafta devam etmiştir.

### **3.4. Cerrahi İşlemler**

Çalışmaya ait cerrahi işlemler GAÜN Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı'nda yapıldı. İşlemler siteril şartlarda ve derin anestezi altında yürütüldü. Anestezi intraperitoneal olarak 50 mg/kg/ip. Ketamin HCL (Ketalar) ve 10mg/kg Xylazin HCl (Rompun) karışımı kullanılarak uygulandı. Anestezi derinliği işlem boyunca cilt ve parmak kıstırma yanıtları ile her 3-5 dakikada bir izlendi. Anesteziyi takiben toraks açılarak kalpten kan örneği alındı. Alınan kanlar heparinli ve antikoagülansız tüplere konuldu. Daha sonra tüm hayvanlar dekapitasyonla sakrifiye edilerek karaciğerleri çıkartıldı. Karaciğer doku örneklerinin yarısı % 10' luk nötral tamponize formalin solüsyonunda patoloji inceleme için ayrıldı, geri kalan kısmı da biyokimyasal ölçümler için -85 °C'de saklandı.

### **3.5. Biyokimyasal Analizler**

Antikoagülansız tüplere alınan kanlar 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1000 g, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Heparinli tüpe alınan kan örnekleri de 1000 g, +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazması ayrıldıktan sonra eritrosit paketleri hazırlanıp porsiyonlara ayrıldı ve analiz zamanına kadar -85 °C'de saklandı. Miyeloperoksidaz ELİSA metodu ile serum örneklerinde çalışıldı. Glutatyon, Süperoksit Dismutaz, Malondialdehid, Nitrat, Katalaz Kolorimetrik yöntem ile karaciğer dokusunda ELİSA okuyucusunda çalışıldı. Total oksidan düzeyi, Total antioksidan düzeyi spektrofotometrik yöntem ile otoanalizör cihazında çalışıldı.

#### **3.5.1. Dokunun alınması ve hazırlanması**

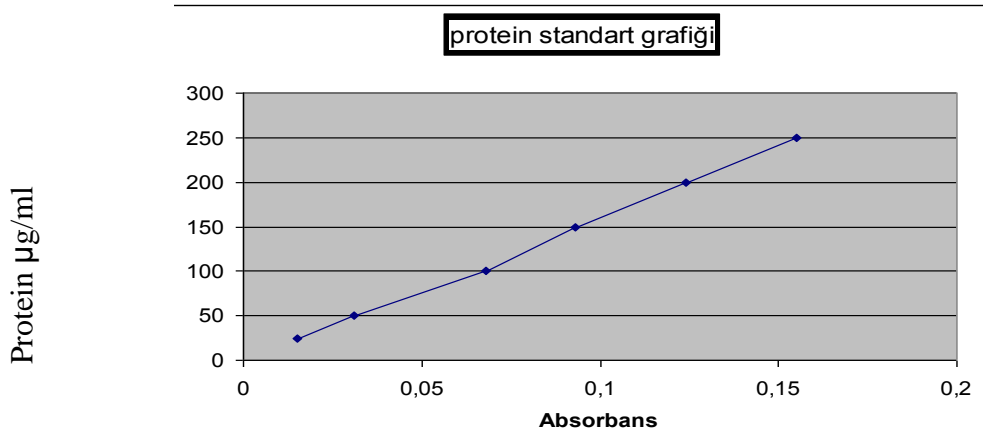
Sıçanlara ait karaciğer doku örnekleri derin dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığında gelmeleri sağlandı ve serum fizyolojikle yıkanıp kurulandıktan sonra, 1 gr doku tartıldı ve üzerine 9 hacim %0.9 NaCl ilave ederek 1:10 sulandırıldı (w/v) ve homojenizatör yardımıyla 1 dk boyunca doku homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri buzla

soğutulmuş ortamda yapıldı. Daha sonra homojenat  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 10.000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatant biyokimyasal parametreler ölçülene kadar  $-85^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### 3.5.2. Protein tayini

Karaciğer dokusu için protein tayini Bradford yöntemiyle çalışıldı. Standart eğri için sığır serum albumini ihtiva eden 25–300  $\mu\text{g}$ 'lık seri çözeltiler hazırlandı. 0.1 mL çözelti, 5 mL Coomassie blue G boya reaktifine katıldı. 5 dakika sonra 595 nm'de absorbansı ölçüldü (Şekil 3.1).

**Coomassie blue G boya reaktifi:** 100 mg Coomassie blue G alındı, 50 ml %95'lik etil alkol içinde çözüldü. Bu solüsyona 100 mL (%85'lik) fosforik asit  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ilave edildi ve toplam hacim distile su 1000 mL'ye tamamlandı.



Şekil 3.1. Doku protein düzeyinin saptanmasında kullanılan standart eğri grafiği ( $\mu\text{g/ml}$ )

### 3.5.3. Toplam oksidan status (TOS) düzeyi ölçümü

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/ L olarak ifade edildi.

### 3.5.4. Toplam antioksidan status (TAS) düzeyi ölçümü

Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi.

### 3.5.5. Oksidatif stres indeksi (OSİ) ölçümü

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}} \times 100$$

Denklem 3.1.Oksidatif stres indeksi hesaplanmasında kullanılan denklem

### 3.5.6 Malondialedit (MDA) ölçümü

Bu metotta MDA'nın tiyobarbitürik asitle (TBA) reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda maksimum absorbanı vermesi prensibine dayanır. MDA Cayman marka (item no: 10009055) ticari kiti kullanılarak 532 nm'de kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar nmol/mL olarak ifade edildi.

### 3.5.7. Glutatyon (GSH) ölçümü

GSH Cayman marka (item no: 703002) ticari kiti kullanılarak 405 nm'de kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar  $\mu\text{M}$  ifade edildi.



### **3.5.8. Süperoksit dismutaz (SOD) ölçümü**

Ortamda bulunan  $O_2^{\bullet-}$  radikali NBT'yi oksitlediği için mavi renkli formazon bileşiği oluşur. Körün içerisinde SOD bulunmadığı için, tüm NBT oksitlenir. Bu nedenle körün absorbanı, numunelerin absorbanlarından yüksektir. Numunede ne kadar çok SOD mevcutsa NBT oksidasyonu o kadar engelleneceği için enzimatik reaksiyon sonucu ortaya çıkan renk de o kadar açık olur. SOD Cayman marka (item: 706002) ticari kiti kullanılarak 450 nm'de kolorimetrik yöntemle ölçüldü ve U/mL olarak ifade edildi.

### **3.5.9. Katalaz (CAT) ölçümü**

Katalaz Cayman marka (item no: 707002) ticari kiti kullanılarak 540 nm'de kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar  $\mu$ M olarak ifade edildi.

### **3.5.10. Nitrat ölçümü (NO)**

Nitrat Cayman marka (item no: 780001) ticari kiti kullanılarak 540 nm'de kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar  $\mu$ M olarak ifade edildi.

### **3.5.11. Miyeloperoksidaz (MPO) ölçümü**

Miyeloperoksidaz Immundiagnostik marka (REF K 6631B) ticari kiti kullanılarak 405 nm'de ELİSA yöntemi ile belirlendi. Sonuçlar ng/mL olarak ifade edildi.

### **3.5.12. Thiol-SH düzeyi ölçümü**

Örneklerin Thiol-SH düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar  $\mu$ mol/L olarak ifade edildi.

## **3.6. Verilerin Değerlendirilmesi:**

İstatistiksel veriler SPSS istatistik programı (SPSS, sürüm 17, 2009, SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) ile değerlendirilmiştir ve gruplar arası önemlilik testleri ve One Way ANOVA testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

**Tablo 4.1.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama TAS, TOS, OSİ (Ortalama±SD).

	<b>K</b>	<b>SPEMA</b>	<b>D</b>	<b>D+PEMA</b>
<b>TAS</b>	1.24 ± 0.05	0.9 ± 0.12 <sup>b,f</sup>	0.92 ± 0.18 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.01
<b>TOS</b>	23.01 ± 1.16	27.52 ± 2.68 <sup>c</sup>	27.52 ± 2.87 <sup>c</sup>	24.83 ± 1.62
<b>OSİ</b>	18.55 ± 0.98	31.04 ± 5.74 <sup>b,f</sup>	30.96 ± 8.59 <sup>b,f</sup>	22.62 ± 1.55

\* K:Kontrol grubu, SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

\*\* <sup>a</sup>P<0.001: K grubu ile karşılaştırıldığında <sup>b</sup>P<0.01: K grubu ile karşılaştırıldığında

<sup>c</sup>P<0.05: K grubu ile karşılaştırıldığında <sup>d</sup>P<0.001: D+PEMA grubu ile karşılaştırıldığında

<sup>e</sup>P<0.01: D+PEMA grubu ile karşılaştırıldığında <sup>f</sup>P<0.05: D+PEMA grubu ile karşılaştırıldığında

**Tablo 4.2.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama Thiol-SH, NO, MPO, CAT, GSH, SOD, MDA miktarı (Ortalama±SD).

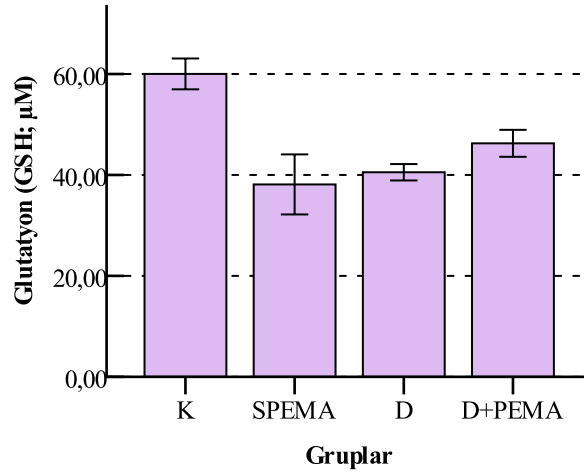
	<b>K</b>	<b>SPEMA</b>	<b>D</b>	<b>D+PEMA</b>
<b>T-SH</b>	0.38 ± 0.04	0.4 ± 0.02	0.4 ± 0.03	0.38 ± 0.01
<b>NO</b>	0.8 ± 0.081	1.13 ± 0.027 <sup>a,d</sup>	1.19 ± 0.18 <sup>a,d</sup>	0.81 ± 0.05
<b>MPO</b>	0.72 ± 0.22	1.47 ± 0.28 <sup>a,e</sup>	1.26 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.03 ± 0.14
<b>CAT</b>	217.62 ± 5.54	207.55 ± 11.94	210.65 ± 10.38	215.87 ± 3.67
<b>GSH</b>	60.02 ± 1,53 <sup>d</sup>	38.12 ± 2.98 <sup>a,d</sup>	40.53 ± 0.82 <sup>a,d</sup>	46.26 ± 1.34 <sup>a</sup>
<b>SOD</b>	0.76 ± 0.013	0.67 ± 0.01 <sup>a,d</sup>	0.66 ± 0.09 <sup>a,d</sup>	0.75 ± 0.015
<b>MDA</b>	27.1 ± 0.73	42.8 ± 1.72 <sup>a,d</sup>	42.52 ± 1.54 <sup>a,d</sup>	28.9 ± 0.81

\* K:Kontrol grubu, SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

\*\* <sup>a</sup>P<0.001: K grubu ile karşılaştırıldığında <sup>b</sup>P<0.01: K grubu ile karşılaştırıldığında

<sup>c</sup>P<0.05: K grubu ile karşılaştırıldığında <sup>d</sup>P<0.001: D+PEMA grubu ile karşılaştırıldığında

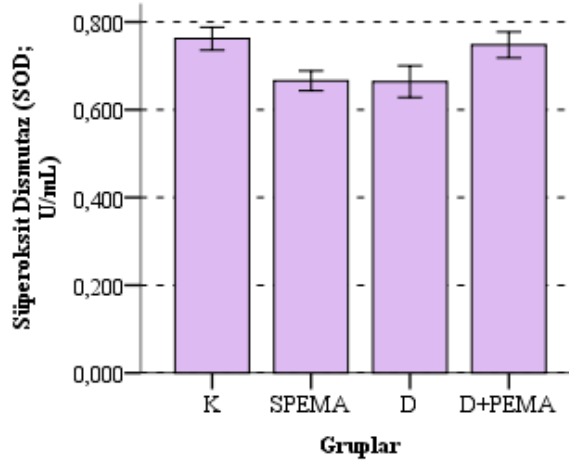
<sup>e</sup>P<0.01: D+PEMA grubu ile karşılaştırıldığında <sup>f</sup>P<0.05 : D+PEMA grubu ile karşılaştırıldığında



**Şekil 4.1.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama glutasyon miktarı (Ortalama±SD).  
K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

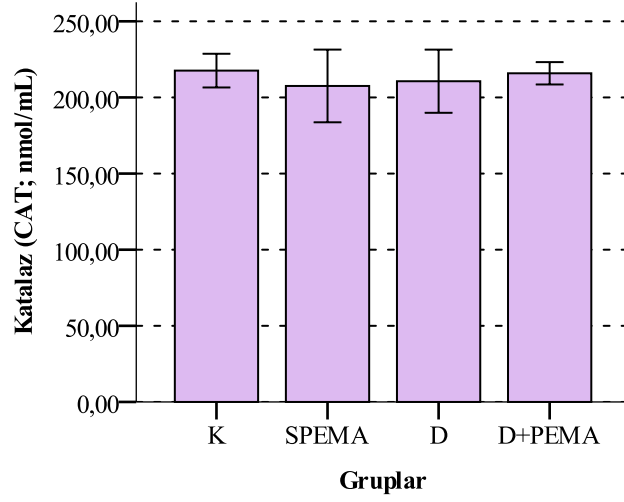
Şekil 4.1. Karaciğer homojenatından ölçülen ortalama GSH seviyelerini göstermektedir. GSH seviyesinin K grubuna göre SPEMA D ve D+PEMA grubunda düştüğü görülmüştür. ( $P<0.001$ ) Fakat SPEMA ve D gruplarında oluşan azalma daha belirgindi. D ve SPEMA grupları arasında ise istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir.

**Şekil 4.2.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama superoksit dismutaz miktarı (Ortalama±SD).

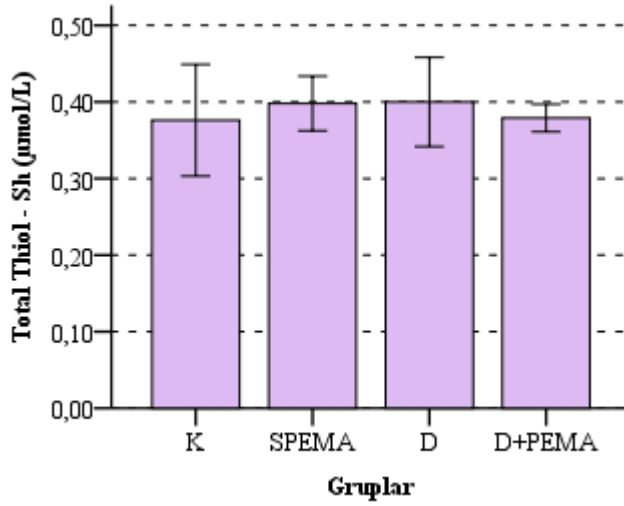


K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.2. ortalama SOD düzeylerini göstermektedir. Ortalama SOD miktarı K grubuna göre D ve SPEMA gruplarında azaldığı ve bu değişikliklerinin istatistiksel olarak önem ( $P<0.001$ ) gösterdiği tespit edildi. Buna karşın SOD düzeylerinin D+PEMA grubunda K ile benzer şekilde yüksek olduğu SPEMA grubunda ise D grubuyla benzer şekilde düşük olduğu saptanmıştır.

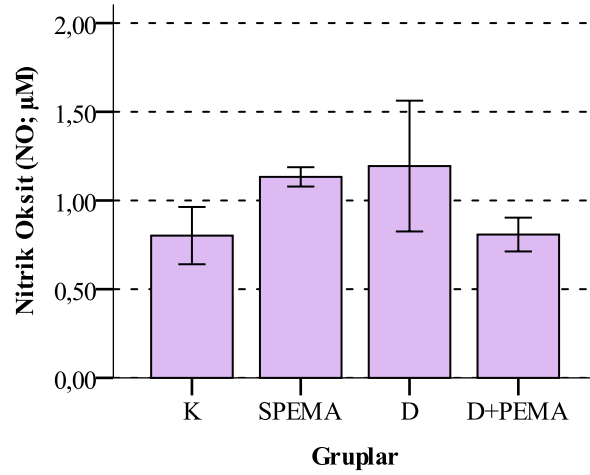


**Şekil 4.3.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama katalaz miktarı (Ortalama±SD).  
K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu



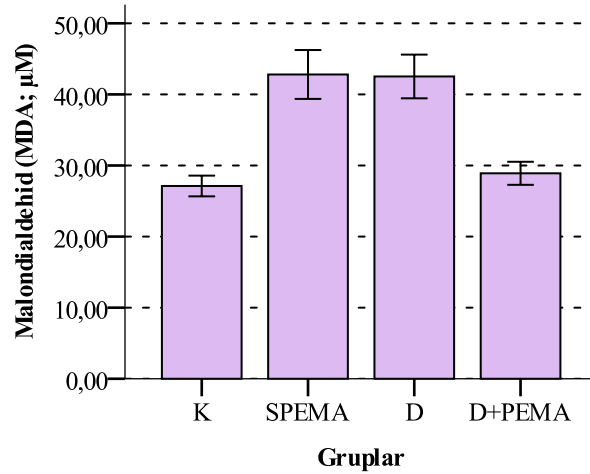
**Şekil 4.4.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama Thiol-Sh miktarı  
K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.3. ve şekil 4.4. karaciğerdeki oksidatif hasarı değerlendirmek üzere ölçülen ortalama Thiol-sh ve CAT seviyelerini göstermektedir. Thiol-sh ve CAT seviyelerine bakıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık görülmediği tespit edilmiştir.



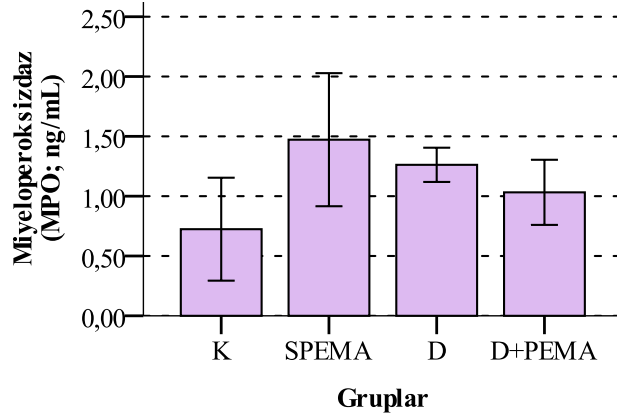
Şekil 4.5. Deney ve kontrol gruplarında ortalama nitrik oksit miktarı (Ortalama±SD).  
K: Kontrol grubu, SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.5. karaciğer dokusundaki nitrozatif hasarı değerlendirmek üzere ölçülen ortalama NO seviyelerini göstermektedir. K grubuyla karşılaştırıldığında NO seviyelerinin SPEMA ve D grubunda arttığı ( $P<0.01$ ) ancak D+PEMA grubunda K grubu seviyesine yaklaştığı saptandı. SPEMA ile D gruplarında ise ortalama NO değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır.



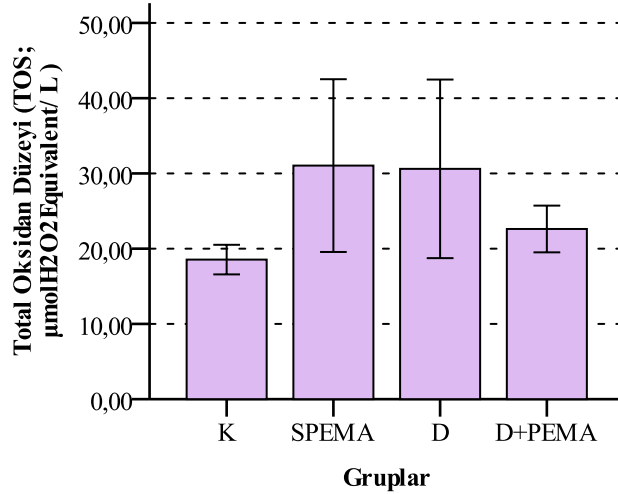
Şekil 4.6. Deney ve kontrol gruplarında ortalama malondialdehid miktarı (Ortalama±SD). K: Kontrol grubu, SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.6. Karaciğer örneklerinden elde edilen homojenattan ölçülen ortalama MDA seviyelerini göstermektedir. K grubuyla karşılaştırıldığında MDA seviyelerinin SPEMA ve D grubunda istatistiksel önem gösterecek şekilde arttığı ( $P<0.001$ ) ancak D+PEMA grubunda K seviyesine yaklaştığı saptandı. SPEMA ile D gruplarında ise ortalama MDA değerleri benzerlik göstermektedir.



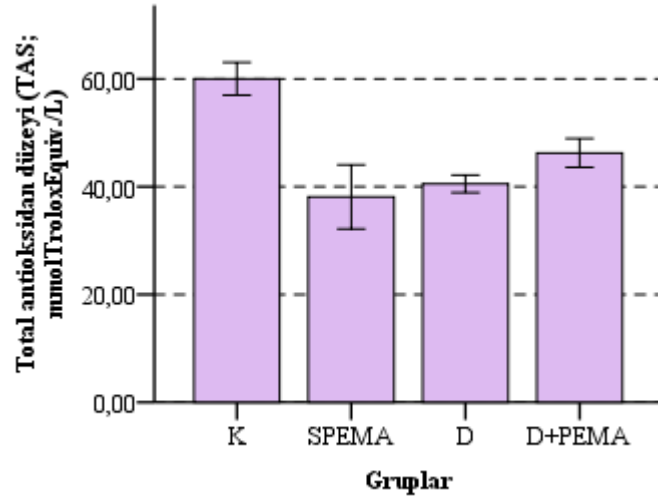
**Şekil 4.7.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama miyeloperoksidaz miktarı (Ortalama±SD). K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.7. serum örneklerinden ölçülen ortalama MPO seviyelerini göstermektedir. MPO seviyelerinin de K grubuyla deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada SPEMA ( $P<0.001$ ) ve D ( $P<0.01$ ) grubunda istatistiksel önem gösterecek şekilde arttığı D+PEMA grubunda ise K seviyelerinde olduğu görüldü. Bu değer D+PEMA ile D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olmadığı ancak D+PEMA ile SPEMA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur.



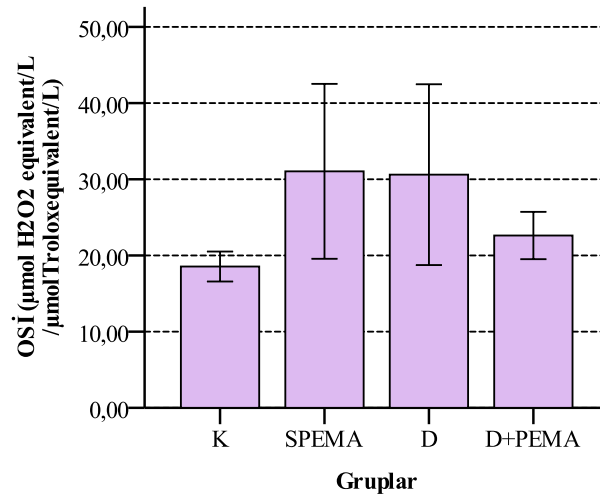
**Şekil 4.8.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama total oksidan düzeyi (Ortalama±SD). K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.8. karaciğer dokusunun ortalama total oksidan düzeyleri hakkında bilgi vermektedir. SPEMA ve D gruplarında TOS düzeylerindeki artma istatistiksel olarak anlamlıyken ( $P<0.05$ ) D+PEMA grubunda da bir miktar artma olsa da diğer gruplarla anlamlı farklılık yaratmamıştır.



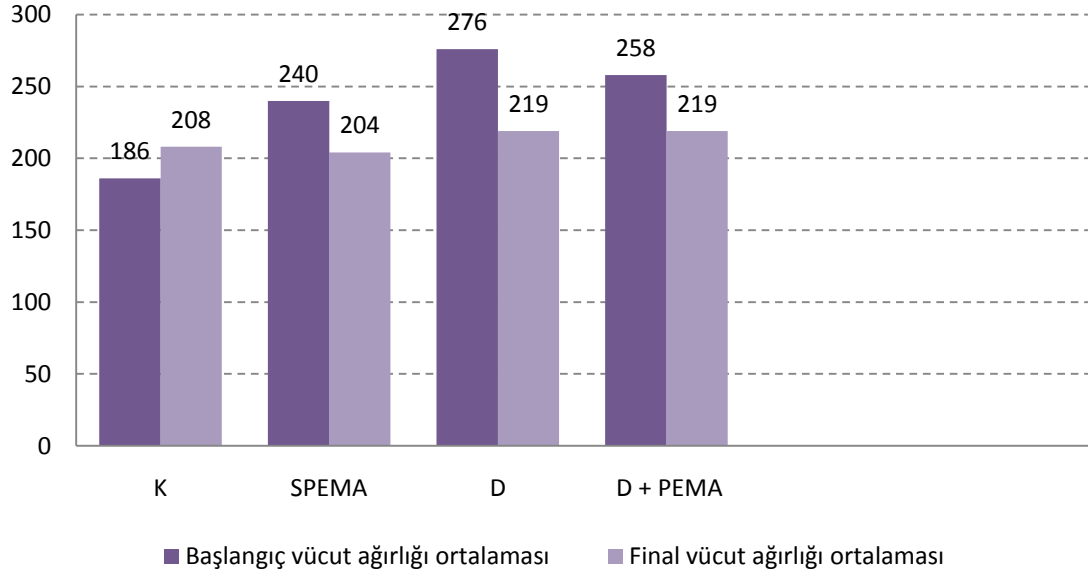
**Şekil 4.9.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama total antioksidan düzeyi (Ortalama±SD). K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.9. ortalama total antioksidan düzeyleri göstermektedir. K grubu ile deney grupları arasında kıyaslama yapıldığında SPEMA ve D gruplarının TAS kapasitelerinin, K grubuna göre istatistiksel olarak düşük olduğu belirlenmiştir ( $P<0.01$ ). D+PEMA grubunun TAS kapasiteleri K grubunun seviyelerine yaklaşmış ve SPEMA grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Ancak bu artış D grubuyla fark yaratmamıştır.



**Şekil 4.10.** Deney ve kontrol gruplarında ortalama OSİ (TOS/TAS) oranı (Ortalama±SD). K: Kontrol grubu , SPEMA: Sham-PEMA grubu, D: Diyabet grubu, D+PEMA: Diyabet+PEMA grubu

Şekil 4.10. ortalama OSİ (TOS/TAS) oranını göstermektedir. SPEMA ve D grupları OSİ oranına göre karşılaştırıldığında, bu gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Birbirine benzer oranlar K ve D+PEMA grupları karşılaştırıldığında da elde edilmiştir. Ancak K göre SPEMA ve D gruplarından elde edilen oranlar yüksekti.



**Şekil 4.11.** Deney süresince sıçanlardaki ağırlık değişimi K: Kontrol Grubu SPEMA: Sham Grubu D: Diyabet Grubu D+PEMA: Diyabet+Pulslu Elektromanyetik Alan

Şekil 4.11. deney süresince sıçanlardaki ağırlık değişimini göstermektedir. Çalışmanın sonunda başlangıca göre kontrol grubunda ratların vücut ağırlıklarının arttığı görülürken, deney gruplarında vücut ağırlıklarında azalma olmuştur. Deney başlangıcında K grubunun vücut ağırlıkları ile D ve D+PEMA grubunun vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık varken ( $P < 0.05$ ) deney sonunda gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ( $P > 0.05$ ).

**Şekil 4.11.** Deney süresince sıçanlardaki yüzde ağırlık değişimi

		K	SPEMA	D	D + PEMA
Başlangıç vücut ağırlığı	Ortalama	186	240	276	258
Final vücut ağırlığı	Ortalama	208	204	219	219
	Değişim %	11.8	-15	-20.6	-15.1

\* K: Kontrol Grubu SPEMA: Sham Grubu D: Diyabet Grubu D+PEMA: Diyabet+Pulslu Elektromanyetik Alan



## 5.TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel diyabet modelinde PEMA'nın oksidatif stres ve komplikasyonlarına etkilerinin oksidan parametrelerden MDA, NO, MPO, TOS, OSİ; antioksidan parametrelerden CAT, SOD, GSH, TAS kullanarak inceledik.

Diyabette antioksidan savunma mekanizmaları ve serbest radikal dengelerinin değişmesiyle, hücresel organel ve enzimler hasar görmektedir. Diyabette oksidatif stres, glukozun metabolize edilememesiyle hücre içi ve hücre dışı glikoz miktarının artmasıyla başlar, glikoz otooksidasyonu, protein glikozilasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerin oluşumu gibi mekanizmalarla artar, sonuç olarak komplikasyonlar gelişmeye başlar (13). Literatür incelendiğinde diyabette antioksidan düzeylerinde, reaktif oksijen türlerinin artışına yanıt olarak başta bir artış gözlenirken, serbest radikallerle antioksidanlar arasında reaksiyonlar geliştikçe azalma görülmektedir. Ayrıca hastalık ilerledikçe doku hasarına paralel olarak antioksidan mekanizmalar da hasar görebilir ve antioksidan düzeylerinde azalma gözlenebilir. Yalnız lipoproteinlerle taşınan E vitamini düzeylerinde hiperlipidemiye bağlı olarak artış gözlenebilmesi, inflamasyon sözkonusu olduğunda ferritin düzeylerinde artış görülebilmesi gibi nedenlerle bir genelleme yapmak yanlış olacaktır. Antioksidanlar genel olarak endojen; enzim yapısında olan (SOD, CAT, GSH-Px vb.), enzim yapısında olmayan (Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Ferritin, vb.) ve eksojen; vitaminler, ilaç olarak antioksidanlar, gıdalardaki antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Biz çalışmamızda ileride yapılacak çalışmalar sonucunda eksojen antioksidanlar grubunda sayılabilecek ancak araştırılan eksojen antioksidanlardan özellik ve uygulama bakımından farklı bir yöntem olan PEMA'nın oksidatif stres üzerine etkilerini inceledik.

1998'de yapılmış bir derlemede incelenen çalışmaların çoğunda manyetik tedavinin etkili olduğu gösterilmiştir (70). Manyetik alan tedavisi kaynamayan kırık, osteoporoz, tendinit, kronik ülser, kas iskelet sistemi bozukluklarında noninvaziv risksiz ekonomik olması dolayısıyla mineralizasyon, kollajen oluşumu ve endokondral ossifikasyon ve anjiogenez etkilerinden dolayı çok uygulanmaktadır. Multipl skleroz, stroke, insomnia, migren, stres, depresyon, barsak hastalıkları, diyabet, yüksek kan basıncı ve dolaşım

bozukluğunda yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Diyabette insülin sekresyonuna etki eden kalsiyuma ve kan şeketine etki ederek faydalı sonuçlar göstermektedir. Bu mekanizmaya ek olarak anjiogenez, nöronal protein sentezi, sinaptaki nörotransmitterlere ve axoplazmik transporta etki etmesiyle de diyabetik nöropatide faydalı sonuçlara ulaşılmıştır (70,127,128,129).

Vücudun herhangi bir yerinde elde edilen indüklenen akımın büyüklüğü doku elektrik iletkenliğine bağlı olduğu bildirilmiştir (131). Darbeli elektromanyetik alanlar ile farklı frekanslarda (100 ve 10 Hz) karmaşık modülasyon (PEMA-CM) uygulanan 121 diyabetik polinöropatili hasta değerlendirildi. Diyabetik polinöropatinin birçok erken belirtisinde azalma olduğu, sinirlerin iletkenliğini ve reflex cevaplar geliştirdiği belirtilmiştir. Diyabetik nöropatinin ilk aşamalarında ve 10 yıldan fazla bir süredir diyabet tanısı konan hastalarda 10 Hz PEMA-CM tedavi etkinliğine sahip olduğu bildirilmiştir (132).

Sinir yaralanması sonrası sinirde hiperpolarizasyon olabileceği bildirilmiştir (133,134,135). Ratlarda yapılan bir deneyde anestezi altında insizyon açılarak siyatik sinir ezilmiştir. 1.5 mT 3 set puls treni şeklinde uygulama yapılmıştır. Miyelin kılıf rejenerasyonu yoluyla siyatik sinir rejenerasyonu oluşturduğu belirtilmiştir. 38 gün uygulama yapılan grupta kontrol grubuna daha yakın sonuçlar elde edilmiştir (136). Sonuçların daha uzun olan 38 günlük periyotta daha da net ortaya çıktığı ve bu sürecin sinir iyileşmesine katkısı olduğu savunulmuştur (137). Bizim uygulamamız da daha uzun süreli bir çalışmayla desteklenebilir. Puls treni şeklinde bir tedavi protokolünün sıçanların manyetik alan maruziyetini kısalttığı ve tek bir frekansın olası uyumunu engelleyebileceği belirtilmiştir. Frekans arttıkça hiperpolarizasyon ve bileşik aksiyon potansiyeli genliğinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum ise yüksek frekanslarda sodyum kanalllarının inaktif potasyum kanalllarının aktif olmasıyla açıklanmıştır (135).

Bu çalışmada 1.5 mT PEMA uygulaması dört farklı ardışık puls treni içeren (1, 10, 20 ve 40 Hz) üç seri halinde uygulanmıştır. Her puls treninin geçiş süresi 4 dk ve her puls trenini takiben bir dakika dinlenme olmak üzere; her serinin 20 dk, toplam uygulamanın 60 dk/gün olduğu bir tedavi protokolü takip edilmiştir.

Musaev ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada diyabetik nöropati tedavisinde, özellikle başlangıç döneminde 10 Hz PEMA ve 100 Hz PEMA uygulaması karşılaştırıldığında daha düşük frekansta yapılan uygulamanın üstün olduğu belirtilmiştir (132). Düşük frekanslı PEMA uygulaması yapılan çalışmalarda genel olarak hastada ağrıda azalma subjektif semptomlarda azalma sinir iletim fonksiyonlarında artma yaşam kalitesinde artma olduğu bildirilmiştir. Ancak plasebo etkisinin de göz önünde bulundurulması gerektiği belirtilmiştir. Aynı derlemede modüle frekanslı elektromanyetik stimülasyon yapılan bir çalışma da incelenmiştir. Bu çalışmada monofaz negatif potansiyel elektrik darbeleri ve bir keskin bir asimetrik dalgası olan, 1-50 Hz arası, 10-40 mikrosaniye geçiş süresi olan manyetik alanın da motor sinir iletim hızını arttırdığı ve duyu bozukluğunda da faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir (138,129)

Farklı yoğunlukta ve farklı maruziyet süreleri karşılaştırılan bir çalışmada sıçanlar 60 dakika için 60 Hz'lik, 0.5, 1.0, 1.5, veya 2.0 mT akı yoğunlukları olan manyetik alana maruz bırakıldı. Düşük yoğunluklarda anlamlı etki gözlenmezken 2.0 mT alana maruz kaldıktan hemen sonra hipokampus ve frontal korteks kolinerjik aktivitesinde önemli bir azalma gözlemlendi. Başka bir deneyde 1.0 mT manyetik alana 30, 45, 60 ve 90 dk maruz kalma etkisi araştırılmıştır. Kısa sürelerde bir etki gözlenmemiştir. Aynı çalışmada bir başka deneyde, sıçanlar 0.05 mT 0.5, 0.1, akı yoğunluğuna 3 saat maruz kalmıştır. Bütün yoğunluklarda frontal kortekste hipokampusta kolinerjik aktivitesinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Maruz kalma süresi artırarak, etkileri düşük yoğunluklarda görmek ve yoğunluğu artırarak etkileri daha düşük sürelerde görmek mümkündür (139). 0.15 mT, 60 Hz sinüzoidal, 0.15 mT 4-24 saat arası EMA uygulanan hücre kültürü çalışmasında, daha az şiddet ve daha uzun sürede yapılacak bir uygulamanın daha etkili olabileceği belirtilmiştir (117).

İnsan vücudunda manyetizma nedeni olarak beslenme ve solunum yoluyla doğadan alınan  $Fe_3O_4$ , hücre zarındaki elektrik potansiyeli vücut sıvısındaki hidrojen atomları sebep gösterilmektedir. Manyetik alanın organizma, organ, doku, hücre hatta molekül ile rezonansa girdiği ve manyetik alanın özellikle hidrojen iyonu olan tek protona yer değiştirilerek pH dengelerini etkilediği belirtilmektedir. Pencere etkisi bazı frekans ve manyetik alan şiddet değerlerinde bir etkileşimin olması, diğer bazı değerlerde bu etkileşimin daha az veya ters bir yönde görülmesi durumu olarak bilinir. Geç kaynayan kırıklarda kullanılan bir cihazda 40  $\mu$ T manyetik alanın Ca ve Mg iyonlarıyla rezonans

frekanslarının bir kombinasyonu olan 76.6 Hz ile verildiği görülüyor (140, 84, 123). Diğer bir yolak olarak atımlı manyetik alanlar lenf ve diğer dokularda microakım oluşturarak yeniden enfeksiyon oluşumunu engellemeye parazitleri nötralize etmeye yardımcı olduğu belirtilmiştir. Dekübitis ülserinde PEMA etkinliği incelenmiş 12-50 yaş 12 hastaya 30 seans 1 Hz 30 mA yoğunlukta manyetik alana uygulanmış dekübitis ülser tedavisinde hastalar arasında belirgin fark görülmemiştir (141).

Başta uygulanan manyetik alanın melatonin hormonu üretiminin uyarılmasına bağlı beyin ve vücut fonksiyonları üzerinde yatıştırıcı, uyku-uyarıcı etkisi olduğu belirtilmiştir (7). Melatoninin, antistress antiaging, kanser enfeksiyon solunum ve serbest radikallerin üretiminde kontrol edici özelliğe sahiptir. Diyabetteki makrovasküler komplikasyonların glikolizasyon son ürünlerinin reseptörleriyle etkileşmesi sonucu hücrel oksidatif stresin gelişmesi nedeniyle olduğu düşünülüyor. Toplam 7 hafta süren deneysel bir çalışmada melatoninle tedavi edilen ratlar da yöntem bakımından kendi arasında karşılaştırılmış, bir gruba oral melatonin diğerine intraperitoneal 200 µg verilmiştir. Oral melatonin tedavisinin de antioksidan statüyü etkilemede eşit etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Melatonin antioksidanlardaki anormalliği hiperglisemiden bağımsız olarak düzeltmiştir. Melatonin verilen gruplarda MDA düzeylerinin diyabetli gruba göre düşük bulunduğu dolayısıyla lipid peroksidasyonunun önlediği bildirilmiştir. Melatoninin tartışılmakta olan etkileri yoluyla ateroskleroza ve diğer diyabet komplikasyonlarını önleme ihtimali olabileceği belirtilmiştir (142). Melatoninin lipid peroksidasyonunu önlediği, serbest radikal oluşumunu azalttığı, antioksidanlar ve ilgili enzimleri kan glikoz seviyelerini değiştirmeden arttırdığı belirtilmiştir (143). 1998'de yapılan bir çalışmada 2.9 mT 40 Hz şeklinde düzenlenen bir protokolda serum melatonin düzeyinin azaldığı belirtilmiştir (144). Bunun gibi magnetik alanın hayvanlarda serum melatonin düzeyini etkilediğine dair kanıtlar olmasına karşın 25-80 µT 200 Hz ile yapılan başka bir çalışmada serum melatonin düzeyinin etkilenmediği belirtilmiştir (145). Başka bir araştırmada 60 gün günde 2 saat Mikrodalga ile 2.45 GHz 100 Hz PEMA ile tedavi uygulanmıştır. Mikrodalga grubunda melatonin ve testesteron düzeylerinde azalmanın daha fazla olduğu gözlenmiştir (146). Başka bir çalışmada 60 gün elektrikli battaniye kullanımının melatonin düzeyleri üzerine etkilerini 6-hydroxymelatonin sulfatı ölçülerek incelenmiş. Deneyin ortalarında melatonin düzeylerinde bir değişiklik olmaması başında ve sonunda melatonin düzeylerinin düşmesi sürekli uygulamanın adaptif değişiklikler yarattığı

şeklinde yorumlanmıştır (147). 100 albino sıçan ile yapılan bir çalışmada 1000 Hz akustik uyarana maruz bırakıldıktan sonra hayvanların yarısı son derece düşük frekanslı manyetik alana (10 Hz,  $10^{-4}$  T) maruz bırakıldı. Bu gruptaki hayvanların serum melatonin düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edildi (149). 1 ve 100  $\mu$ T ile yapılan bir manyetik alan çalışmasında ise 100  $\mu$ T ile yapılan 24 saatlik uygulamada üriner 6-sulphatoxymelatoninin arttığı belirtilmiştir (148).

Araştırmalar melatonin sekresyonunun baskılanmasının serum Ca konsantrasyonunu düşürdüğünü melatonin uygulamasının ise arttırdığı göstermiştir. İmmun güçlendirici etkiye sahip kemik iliği hücrelerinde yüksek miktarda melatonin saptanmıştır (150). Hücre içi kalsiyum miktarının artması melatonin salgılanmasını arttıracaktır. Aynı şekilde pinealositte kalsiyum miktarının azalması da melatoninini azaltacaktır.

Sağlıklı bir hücrede pozitif ve negatif yükler hücrenin iki tarafında düzgün bir dağılım gösterirken hastalıklı bir hücrede rasgele bir dağılım gösterir. Zarar görmüş hücreler manyetik alanın varlığında tepki olarak iyonları doğru pozisyona gelerek tepki gösterecek. Normal hücrede zar potansiyeli -90 mV iken inflamasyon durumunda -120 mV dejeneratif durumda +30 mV civarında olur. Manyetik alan derin doku ve kan akışı içine nüfuz eder iyon değişimini artırır, dolaşımı normalleştirir ve hücrenin oksijen kullanımını artırır. Böylece biyolojik faaliyet uyarılır. İnflamasyonun iyileşme süreci başlar, tekrar dinlenme potansiyeli elde edilir. Elektromanyetik dalgalar hücrelerin ortak bileşenleri olan iyonlarla etkileşime girerek hücre fonksiyonlarını düzenler (66). Daha birçok sayıda hücre sel çalışma sonucu hücre zarının manyetik alanın öncelikli hedefi olduğunu göstermektedir (120). Bu çalışmalar manyetik alanların sodyum-potasyum pompasını uyardığını, hücre yüzey bağlanma yerlerinden  $Ca^{++}$  salınımını değiştirdiğini, ligand–reseptör kompleksinin bağlı kalma süresini ve hücre-yüzey reseptörlerinin dağılımını değiştirdiğini göstermektedir (85,151). 1.5 mT 75 Hz ile spontan diz osteonekrozu olan 30 hastada yapılan bir çalışmada diz ağrısının ve dizdeki nekroz alanının azaldığı bildirilmiştir. Mekanizma PEMA tedavisinin antiinflamatuvar (152) ve kemik iyileştirici etkileri olduğu (153, 84) , böylece serbest radikallerin üretimini azaltarak ve osteoblastların osteojenik aktivitesi stimüle (154) ettiği şeklinde açıklanmıştır (155).

Melatoninin rol oynadığı, intracellüler depolardan Ca salınımını arttıran, bir yolla da insülin salgısını arttırdığı belirtilmiştir (156).

60 Hz -5 mT şiddetindeki manyetik alana insülin sekresyonu yapan beta-hücre kültürü kondu ve hücrelerde ve insülin sekresyonunda artış görüldü. Bu çalışma transplantasyon için umut vericidir (128). Başka bir çalışmada 10 Hz karedalga 1.8-3.8 mT ve sinüzoidal 40 Hz 1.3- 2.7 mT manyetik alana maruz bırakılan ratlarda pankreas fonksiyon ve yapısı incelenmiştir. Uygulamanın 14 günde iki grupta da Glukoz konsantrasyonu azalttığı insülin konsantrasyonunu arttırdığı belirtilmiştir. Ancak uzun süre maruz kalınması hormonlarda adaptatif değişikliklere yol açabilir. Manyetik alanın beta hücrelerinde Ca iyonlarını etkilemesi bu mekanizmanın bir parçası olabilir. Kare dalga sinüzoidalde göre daha belirgin değişiklikler yapmış ve uygulamadan sonra geri dönüş daha az olmuştur (157).

Bu çalışmada da PEMA'nın antioksidanlar üzerinde olumlu etkilerinin pH seviyelerini, kalsiyum salınımını ve melatonin salınımını etkilemesiyle başladığı ve melatonin ile kalsiyum arasındaki dengeyle devam ettiği şeklinde yorumlanabilir. Kalsiyumun da insülini etkilemesi beklenebilir. Ancak mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve doğru yolların çizilmesi pH, melatonin, Ca ve insülin seviyelerinin ölçülmesi gerektirir. Çalışmamızda insülin düzeyleri ve melatonin düzeylerinin ölçülmemesi çalışmamızın başka araştırmalarla desteklenmesi gerektiğini göstermektedir.

Diyabet üzerine kısıtlı etkileri olan farmakolojik ve cerrahi yöntemlere alternatif bir yöntem olarak pulslu elektromagnetik alanın etkilerini inceleyen bir çalışmada tepe genliği 1, 10, 20, 40 Hz ve 1.5 mT şeklinde puls treni içeren bir deney düzeneği hazırlanmış. STZ ile azalan vücut ağırlıklarına etki etmemesine rağmen kan şekerinde düşüş görülmüştür (8). Biz de bu çalışmayla aynı frekanslarda yaptığımız çalışmada, vücut ağırlıklarında oluşan değişiklikleri inceledik. PEMA'nın STZ ile azalan vücut ağırlıklarına etki etmediğini gözlemledik.

Terapatik manyetik alan cilde uygulandığı zaman cilt-cilt altı dokusu ve kan akımına penetre olur. İyonların kan duvarından sızmasıyla (Hall Etkisi) ısı oluşur (Lorenz Etkisi) ve bu ısı etkisiyle manyetik alan tedavisi uygulanan bölge kanlanması artar. Bölgenin kan akımıyla birlikte oksijen seviyesi artınca, besin ve hormonlar çok daha

etkili ve hızlı bir şekilde organ ve dokulara dağıtılır. Ayrıca vücudun doğal ağrı kesici hormonu olan endorfin salgılanır ve ağrı reseptör alanlarında duyarlılığı azaltır. Enflamasyonlu bölgede hasarlı hücreler manyetik alanla etkileşir. Bozulmuş iyon dengesi yeniden sağlanır ve hücreden birikmiş sıvı eliminasyonu başlar. Hücrelerin iyileşme periyodu başlar. Sonuçta hasarlı bölgede toksinler azalır, doku iyileşmesi ve ağrının azalması sağlanır (70). Manyetik alan tedavisinin hem nöronların polarizasyonunu etkileyerek hem de endorfin ve serotonin artışı sağlayarak ağrı tedavisine katkıda bulunabileceği ya da oluşturulan manyetik alanlarda ağrı sinyallerinin santral sinir sistemi düzeyinde bloke edilebileceği düşünülmektedir (158). Anatomik açıdan epidermis ve dermiste yerleştiği iyi bilinen afferent nöronların (miyelinsiz C lifleri ve küçük A delta nosiseptörleri) ektopik uyarılmasını engelleyerek de iyileştirici etki sağlamaktadır (159). Bunu sağlayan mekanizma puls elektromanyetik alan tedavisinin, nöronların depolarize, repolarize, hiperpolarize olmasını sağlayan, aşırı derecede düşük frekanslı kuasirektanguler akımların oluşumunu uyarmasını, sodyum akışı üzerinden aksiyon potansiyelinin azalmasını veya durdurulmasını sağlayarak etkili olduğu bildirilmektedir (159,160,161). Diyabetik ayak hastalarında yapılan ilk araştırmalarda nöropati semptomlarını azaltmada etkisi araştırılmıştır. Statik manyetik ayak tabanlılığı kullanarak yürümeye bağlı ayak ağrısı, uyuşma ve yanmada azalma olduğu ayrıca bu azalmanın üç veya dört ay sürdüğü bildirilmiştir (74). Kronik nöropatik ağrılı hastalarda manyetik alan tedavileriyle ilgili çelişkili sonuçlar mevcuttur. Weintraub ve ark. 24 diyabetik polinöropatisi bulunan hastanın ayaklarına toplam 9 seans puls manyetik alan tedavisi uygulamışlardır. Ağrı şiddeti yüksek olanların tedaviye daha iyi yanıt verdiği, ve bu azalmanın 1 aydan fazla devam ettiğini göstermişlerdir (162). Aynı yazarın 375 diyabetik polinöropatik hastayı kapsayan başka bir çalışmada 4 ay boyunca ayakkabı içine manyetik ve manyetik olmayan tabanlıklar yerleştirilmiştir. 3. ve 4. aylarda yapılan kontrollerde manyetik tabanlıklar kullananlarda ağrı değişkenlerinde ve yaşam kalitesinde belirgin bir düzelme olduğu bildirilmiştir (163). Ardışık on gün süreyle günde 60 dakika 11.1 Hz düşük frekans ve güç olarak 30 G ve elektrod tercihinde de güçlü manyetik alan yaratan spiral elektrot (selenoid veya coil) kullanıldığı bir çalışmada benzer sonuçlara ulaşıldı. Selenoidin uygulanan vücut yüzeyine yakınlığının tedavinin etkisini olumlu etkilediği bilinmektedir (61). Literatürü incelediğimizde düşük frekanslı PEMA'nın ve yine statik olarak geçse de vücut hareketleriyle pulslu bir uygulama olduğu açık olan tabanlıkların diyabet ve komplikasyonları veya komplikasyonu olabilecek rahatsızlıklar üzerine etkilerinin

birçok çalışmada incelendiğini gördük. Biz çalışmamızda daha sınırlı sayıda çalışmaya konu olan diyabette oluşan oksidatif stress ve antioksidan mekanizmalar üzerine PEMA'nın etkilerini inceledik.

40 Hz 7 mT düşük frekanslı manyetik alana günde 30 veya 60 dk 2 hafta maruz bırakılan ratlarda oksidatif stres parametrelerindeki değişiklikler incelenmiş ve 30 dk'nın yeterince değişiklik yaratmadığı ama 60 dk maruz kalan grupta TBARS (thiobarbiturate reactive substances) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun arttığı GSH konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir (164). Bir fabrikada çalışan 40 erkek işçi üzerinde 8 mT 50 Hz ile haftada 40 saat 6 ay yapılan diğer bir çalışmada SOD ve GPx aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Ancak TAS ta belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir (165). 100 mT 0.8 Hz 0,2 sn geçiş süresi olan manyetik alanın ise tümör oluşturulan farelerde tümör büyüme hızını azaltıp NO sentezini arttırdığı bildirilmiştir (166). Manyetik alanın dokular üzerindeki etkisi frekans, şiddet ve dalga şekline bağlı değişir. Bu çalışmalarda manyetik alanın oksidatif stress ve antioksidan mekanizmalar üzerine etkileri incelemiştir. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak hem statik manyetik alan kullanılmış hem de daha yüksek şiddet ve frekanslar tercih edilmiştir. Sonuçların farklılığının frekanstaki bu farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Diyabette glikozile proteinler Cu ve Fe varlığında oksijene elektron vererek reaktif oksijen türlerinin oluşmasına, enzimlerin inaktive olmasına ve transkripsiyon faktörü Nuclear Factor kappa B'nin (NF-kB) aktivasyonunu arttırarak nitrik oksit (NO) seviyelerinin yükselmesine sebep olur. Bu yollarla artan süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) radikalleri ve NO daha reaktif olan peroksinitrit radikalinin oluşumuna neden olmaktadır (13). Yapılan bir çalışmada deneysel diyabette 15. gün sonunda plazma ve karaciğer nitrik oksit ve karaciğer indüklenebilir nitrik oksit sentaz düzeylerinin değişmediğini ancak plazma nitrotirozin düzeyinin arttığı belirtilmiştir (167). Çalışmamızda K grubuyla karşılaştırıldığında karaciğer örneklerinden elde edilen NO seviyelerinin SPEMA ve D grubunda arttığı saptandı (P<0.01). SPEMA ile D grupları arasında ise ortalama NO değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak nitrik oksit düzeylerinin D+PEMA grubunda D grubuyla karşılaştırdığımızda anlamlı farklılık gösterecek şekilde azaldığını gözlemledik.



Çalışmalarda SOD aktivitesinin diyabette düştüğünü (21), değişmediğini (22), arttığını (23) bildiren çalışmalar vardır. O<sub>2</sub>'nin artmış üretimi ilk başta SOD aktivitesini arttırırken enzimin glikasyonu ve/veya hidrojen peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) birikimi ise SOD aktivitesini düşürdüğü belirtilmektedir. Diğer bir çalışmada Tip 1 ve Tip 2 diyabet grupları kendi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında diyabetik SOD aktivitelerinin artmış lipid peroksidasyonunun sonucu olarak azaldığı bulunmuştur (19). Bizim çalışmamızda da SOD aktivitesinin K grubuna göre D ve SPEMA gruplarında azaldığı ve bu değişikliklerinin istatistiksel olarak önem (P<0.001) gösterdiği tespit edildi.

Glutasyonun antioksidan savunmada rol alarak azaldığı ve bu azalmanın da yara iyileşmesini geciktiren faktörlerden olduğu yapılan çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır (27). Diyabetik kişilerde yapılan çalışmalarda eritrosit GSH düzeylerinin azaldığı, eritrosit lipid peroksidasyonunun arttığı saptanmıştır. Hepatik GSH düzeyleri ise normal veya hafif azalmış olarak bulunmuştur. GSH peroksidaz aktivitesinin de azaldığı saptanmıştır (28). Bu çalışmada da benzer şekilde GSH seviyesinin K grubuna göre SPEMA ve D grubunda düştüğü görülmüştür (P<0.001).

Abou-Seif ve Youssef, diyabetli kişilerde biyokimyasal değişimleri değerlendirmişler, MDA, SOD CAT NO ve GSH parametrelerini karşılaştırmışlardır. SOD ve CAT aktivitesinde azalma, MDA ve NO düzeyinde artma ve GSH miktarında ise belirgin azalma saptamış, oksidatif stresin diyabette protein glikozilasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerin oluşumunda önemli rol oynadığına dikkat çekmişlerdir (168). Soliman 2008'de yaptığı çalışmada hipergliseminin oksidatif stresi artırdığını, antioksidan ve oksidanlar arasında oluşan dengesizliğin lipid peroksidasyonun arttırdığı, bunun sonucu da diyabetik komplikasyonların oluşumunda rol oynayabileceğini belirtilmiştir. İncelenen 40 kadın ve 40 erkek diyabet hastasında MDA düzeyinde artma, GSH düzeyinde azalma saptanmıştır (169). Yaptığımız bu araştırmada MDA düzeyleri de incelendi. K grubuyla ile karşılaştırıldığında MDA seviyelerinin SPEMA ve D grubunda istatistiksel önem gösterecek şekilde arttığı (P<0.001) görüldü. Ancak SPEMA ile D gruplarında ise ortalama MDA değerleri benzerlik göstermektedir.

CAT enzimi aktivitesi karaciğer ve böbrek dokularında yüksek iken bağ dokusundaki aktivitesi oldukça düşüktür. Diabetik gruptaki böbrek CAT aktivitesinin koruyucu bir mekanizmayla, yüksek seyrettiğini (24). bildiren çalışmaların yanında STZ ile

oluşturulan deneysel diabette, böbrekteki CAT aktivitesinin diyabetik grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu (25,170) bildiren çalışmalar da mevcuttur. Çalışmamızda karaciğer homojenatından CAT aktivitesine ve Thiol-SH seviyelerine bakıldığında K grubuna göre D ve SPEMA gruplarında bir miktar düşmüş, ancak istatistiksel önemli farklılık görülmediği tespit edilmiştir.

2014'te yapılan bir çalışmada inflamatuvar koşullarda farmakolojik tedavilere karşın noninvaziv bir yöntem olan PEMA tedavisinin etkileri ve antioksidan ve oksidatif stres parametrelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Sıçanlarda yapılan bu çalışmada inflamasyonlu dokuda SOD, CAT ve GSH-Px düzeyleri azalmış, MDA seviyeleri artmıştır. PEMA tedavisiyle SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri artmış ve MDA düzeyi azalmıştır (171). Yöntem ve sonuçlar bakımından bu araştırma bizim çalışmayla uyum göstermektedir. Biz de çalışmamızda STZ verilen grupta artış görülen MDA düzeylerinin D+PEMA grubunda diyabet grubuyla karşılaştırdığımızda anlamlı farklılık gösterecek şekilde azaldığını gözlemledik ( $P<0.001$ ). Diyabetle azalma görülen SOD düzeylerinin D+PEMA grubunda K ile benzer şekilde yüksek olduğu saptanmıştır. GSH seviyesinin ise K grubuna göre SPEMA, D ve D+PEMA grubunda düştüğü görülmüştür ( $P<0.001$ ). Fakat SPEMA ve D gruplarında oluşan azalma daha belirgindi. Thiol-sh ve CAT seviyelerine bakıldığında gruplararası anlamlı farklılık görülmediği tespit edilmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda kas yaralanması sonucunda artmış oksidatif hasar bildirilmektedir. Bir çalışmada MPO aktivitesi yalnız kesi grubunda artmış, vitamin E ve N-asetil sistein ile tedavi gruplarında ise azalmıştır. Vitamin E ve N-asetil sistein tedavilerinin antioksidan özelliklerinden dolayı kas yaralanmasının tedavisinde faydalı olabildiği belirtilmiştir (172). Karaciğer ve böbrek, gerek endojen gerekse eksojen kaynaklı çok sayıda oksidan maddenin etkisine maruz kalmakta ve oksidatif strese artış meydana gelmektedir. Bir çalışmada, farelere karbon tetraklorür (CCI4) verilerek oluşturulan toksitenin önlenmesinde C vitamini, melatonin ve N-asetilsisteinin (NAC) antioksidan etkileri araştırılmıştır. Toksikite grubunda karaciğer ve böbrek dokularında MDA ve MPO seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek iken GSH-Px, ve CAT aktivitelerinin düşük olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, oksidatif hasarı azaltmada, hem karaciğer hem de böbrek dokusunda C vitamini, NAC ve kombine tedavi uygulamanın etkili olduğu, melatonin ve NAC uygulamanın ise antioksidan enzim aktivitelerini daha

olumlu etkilediği görülmüştür (173). Nötrofillerden köken alan bir enzim olan myeloperoksidazın (MPO) ateroskleroz patogenezinde rol oynadığı ve bu etkisini apolipoproteinleri oksitleyip yüksek yoğunluklu lipoproteini (HDL) proaterojenik hale getirerek gösterdiği belirtilmiştir. Son yıllardaki çalışmalar, MPO'nun HDL'nin ana apolipoproteini olan Apo-A1'i nitratladığını ve bu olayın HDL'yi proaterojenik hale getirdiğini göstermiştir. MPO düzeyleri ile koroner arter hastalığı (KAH) gelişme riski arasında da bir korelasyon olabileceği bildirilmiştir (174). Kronik böbrek yetmezliğinde gözlenen yüksek kardiyovasküler hastalık (KVH) riskinin oksidatif stresle ilişkisini, nötrofil aktivasyonu, lipid ve lipoprotein profili, homosisteinemi ve antioksidan aktivite üzerinden araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada hemodiyaliz hastalarında MPO aktivitesi, MDA ve homosistein düzeyleri yüksek, tiyol değerleri ve PON/arilesteraz aktiviteleri düşük bulundu. Hemodiyaliz hastalarında, KVH riskinin artabileceği ve bu riskin, yüksek MPO, MDA ve düşük tiyol değerleriyle yansıtıldığı gibi, oksidatif stresle de ilişkili olabileceği düşünülmüştür (175). 2012 de yapılan bir çalışmada 90 Tip 2 diyabetik hasta ve 70 sağlıklı kontrolde MPO-463G/A ve GCLC-3506A/G gen polimorfizmlerinin diyabet hastalığı ve lipid düzeyleri üzerindeki ilişkisi incelenmiş, bu polimorfizmlere ait genotip ve allel frekansları saptanmıştır. MPO-463 G/A doğal tip GG genotipi taşıma oranı hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken (p:0.005), AG genotipi (p:0.037) ve A (p:0.036) alleli taşıma oranları kontrol grubunda anlamlı bir artış göstermiştir. MPO-463G/A ve GCLC-3506A/G polimorfizmlerinin Tip 2 diyabet için risk faktörü olarak kabul edilebileceğini fakat lipid düzeyleri üzerinde etkinlerinin olmadığı bildirilmiştir (176). Genel olarak bakıldığında MPO'nun diyabet ve komplikasyonu olabilecek hastalıklarda arttığı görülmüştür. Biz çalışmamızda ratların serum örneklerinden MPO aktivitesini inceledik. K grubuyla deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada SPEMA (P<0.001) ve D (P<0.01) grubunda istatistiksel önem gösterecek şekilde arttığını gözlemledik. Diyabetle artış gösteren MPO D+PEMA grubunda ise K seviyelerinde olduğu saptandı. Bu değerlerin D+PEMA ile D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olmadığı ancak D+PEMA ile SPEMA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05).

Oksidan ve antioksidan seviyelerinin ölçümlerinde ortaya çıkan çelişkileri minimuma indirmek için daha pratik, zamandan ve araştırma maliyetlerinde tasarruf sağlayan yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler plazma, serum veya doku örneklerinde

oksidatif stres düzeyini ölçmek amacıyla total oksidan ve antioksidan düzeylerini, aktivitelerini veya kapasitelerini belirlemeye yöneliktir (177).

Diyabette serbest radikallerin üretimini artmasına yol açan önemli bir neden antioksidan miktarının azalmasıdır. Yapılan çalışmalarda diyabet grubunda kontrollere göre total antioksidan kapasitede fark olmadığı (178,179,180) antioksidan direncinin göstergesi olması amacıyla ölçülen TAS düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını (181,182,183) bildiren çalışmalar mevcuttur. 78 sağlıklı ve 113 diyabet hastasında yapılan bir çalışmada diyabet hastalarında yüksek MDA seviyeleri görülmesine karşın düşük TAS düzeyleri ve SOD aktiviteleri tespit edilmiştir. Ayrıca insülin direnci ile MDA düzeyleri ve beta hücre fonsiyonları ile TAS düzeyleri arasında pozitif güçlü ilişki olduğu bildirilmiştir (184).

Yapılan çalışmalarda diyabette oksidatif stresin arttığı belirtilmiş fakat mekanizması aydınlatılamamıştır. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OSAS), insomnia gibi uyku bozukluklarında ve huzursuz bacak sendromu gibi uyku kalitesini bozan durumlarda oksidatif streste artış olduğu belirtilmiştir. Uyku kalitesi iyi olan 50 hasta ve uyku kalitesi kötü olan 50 hasta; hasta grubuna, uyku kalitesi iyi olan 25 sağlıklı gönüllü ve uyku kalitesi kötü olan 25 sağlıklı gönüllü; kontrol grubuna dahil edildi. Hasta ve kontrol grupları kendi içlerinde uyku kalitesine göre değerlendirildiğinde, uyku kalitesi iyi ve kötü olan hasta grupları arasında TAS, TOS ve OSİ açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (185).

Nörodejeneratif, inflamatuvar ve psikiyatrik hastalıklarda S100B proteininin seviyesi artar. Bir çalışmada diyabetik anne bebeğinde S100B proteini düzeyi ve oksidan-antioksidan sistem arasındaki ilişkiyi incelenmiştir. Diabetik Anne Bebeklerinde S100B, TOS ve OSİ kontrol grubuna göre daha yüksekti. Hasta grubunda S100B ile TOS ve OSİ arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu sonuç ile yüksek S100B değerinin beyin hasarına yol açabileceği ve diabetik Annelerin Hiperglisemik kontrolün Diabetik Anne Bebekleri üzerinde önemli olduğu bildirilmiştir (186).

Tip 1 ve Tip 2 diyabet hastalarında veya deney hayvanlarıyla oluşturulan modellerde, plazma ve serumda TAS'de olan düşüşe karşı TOS'nün ise yükseldiği ifade edilmektedir. Bir çok çalışmada diyabete bağlı olarak hidroperoksit, MDA, AGEs, NO

gibi oksidan molekül düzeylerinin arttığı (4), çoğu antioksidan seviyelerinin ise düştüğü rapor edilmektedir (184). Bu çalışmada da karaciğerden elde edilen örneklerden TAS ve TOS değerleri incelendi. K grubu ile deney grupları arasında kıyaslama yapıldığında SPEMA ve D grubunun TAS kapasitelerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük olduğu belirlenmiştir ( $P<0.01$ ). K grubuna göre SPEMA ve D gruplarında TOS düzeylerindeki artma istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0.05$ ) bulunmuştur. TOS/TAS oranından elde edilen OSİ oranı ise K grubuna göre D grubunda yüksek bulunmuştur. D vitamininin diyabet üzerine koruyucu ve tedavi edici etkisini inceleyen bir çalışmada TAS, TOS, Paraoksonaz aktiviteleri açısından gruplar arası anlamlı fark bulunamadı. Ancak D vitamini erken başlanan grupta kan glikoz değerlerinin daha düşük olduğu belirlendi (187). Son yıllarda oksidan-antioksidan dengeyle ilgili çalışmalarda TAS ve TOS veya benzer yöntemler sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Biz de çalışmamızda TAS TOS ve OSİ (TOS/TAS) değerlerinde oluşan değişmeyi inceledik. D+PEMA grubunun TAS kapasiteleri K grubunun seviyelerine yaklaşmış ve SPEMA grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Ancak bu artış D grubuyla fark yaratmamıştır. SPEMA ve D grupları OSİ oranına göre karşılaştırıldığında, bu gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Birbirine benzer oranlar kontrol ve D+PEMA grupları karşılaştırıldığında da elde edilmiştir. Ancak kontrole göre SPEMA ve D gruplarından elde edilen oranlar yüksekti. TOS değeri incelendiğinde ise K grubuna göre SPEMA ve D gruplarında TOS düzeylerindeki artma istatistiksel olarak anlamlıyken ( $P<0.05$ ) D+PEMA grubunda da bir miktar artma olsa da diğer gruplarla anlamlı farklılık yaratmamıştır.

Oksidatif stresin hem neden olduğu hem de birlikte seyrettiği hastalıklardan biri de diyabettir. Antioksidanlar ise serbest radikalleri nötralize ederek oksidatif stresi azaltır ve organizmanın zarar görmesini engellerler. Literatürde birçok hastalık veya hastalık modelinde farklı uygulama şekilleriyle PEMA'nın tedavi edici etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada diyabet modelinde PEMA'nın antioksidan etkileri incelenmiştir. Diyabet komplikasyonlarından özellikle diyabetik nöropatide, bir tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkan PEMA'nın bu etkilerini oksidatif stresi azaltıp antioksidanların artışını destekleyerek ortaya çıkardığını düşünmekteyiz. Diyabette PEMA'nın antioksidan etkilerini inceleyen ilk çalışma olan bu tez çalışmasının sonuçlarının daha uzun sürelerde, farklı frekanslarda, farklı puls trenleri ve farklı puls zamanları ile çalışılacak araştırmalara ışık tutmasını umuyoruz. Çalışmamızı destekleyecek araştırmaların

PEMA'nın diyabet ve komplikasyonlarına yönelik non-invaziv bir tedavi seçeneği olarak daha geniş yer almasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyabet, klinik tablo ve patogenezi açısından heterojen, pankreatik beta hücrelerinden insülinin hiç salgılanamaması, bozulmuş insülin sekresyonu ya da doku ve hücrelerde insülin etkisine direnç sonucu gelişen hiperglisemiyle karakterize, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasını etkileyen kronik bir hastalıktır. Genetik sendromlar, endokrin hastalıkları, pankreatik hastalıklar, ilaçlar, kimyasal ajanlar, toksinler diyabet oluşumunda rol oynayabilir. Diyabetik populasyonun % 80-90'ını ise, hedef dokuların insülinin metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişen ve insüline bağımlı olmayan diyabet olarak da bilinen Tip 2 diyabet oluşturur. Tip 2 diyabette hastalık ilerledikçe beta hücre kitle ve fonksiyonunun progressif kaybı da söz konusudur. İnsülin karbonhidratların, yağların, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezine ve/veya depolanmasına yönelik metabolik reaksiyonları stimüle ederken, aynı zamanda hücre membrandaki insülin reseptörlerini aktive ederek pek çok endojen maddenin membranda taşınmasını düzenler. Diyabet komplikasyonları akut ve kronik komplikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır.

İnsan vücudunda birçok mekanizma ve metabolik yolla oluşan, diğer biyolojik materyallerle reaksiyona girme eğilimi olan, ortaklanmamış elektron taşıyan atom veya moleküllere serbest radikal adı verilmektedir. Solunum zinciri, peroksizomlar, plazma membranındaki lipid peroksidasyonu, hücrelerdeki bazı bileşiklerin otooksidasyonu, birçok enzimin katalitik siklusları ve aktive olmuş fagositler hücre içi oksidan moleküllerin başlıca kaynaklarıdır. Toksinler, antibiyotik ilaçlar, stres, hava kirliliği, iyonize edici radyasyon gibi çevresel faktörler ise oksidan moleküllerin biyolojik kaynakları olarak gösterilmektedir .

Diyabette oksidatif stres, glukozun metabolize edilememesiyle hücre içi ve hücre dışı glikoz miktarının artmasıyla başlar glikoz otooksidasyonu, protein glikozilasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerin oluşumu gibi mekanizmalarla artar, sonuç olarak komplikasyonlar gelişmeye başlar. Ancak serbest radikallerin oluşumu ile bunların antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmesi bir denge halinde olduğu sürece dokular serbest radikallerden etkilenmemektedir.

Yüzyıllardır kronik ağrı veya diğer biyolojik problemlerin tedavisinde kullanılan statik veya elektromanyetik alanların etkileriyle ilgili net deliller yakın zamana kadar elde edilememiştir. Diğer yandan literatüre bakıldığında manyetik alan tedavisinin özellikle romatizmal hastalıklarda, geç ve zor kaynayan kırıklar ve alt ekstremitenin iskemik bozukluklarının tedavisinde etkili olduğu, ayrıca multiple sklerozda, periferik fasyal paralizde, kraniofasyal ağrıda, spastisitede, oftalmalojide retinanın dejeneratif hastalıklarında da umut verici olduğu bildirilmektedir.

Literatürde diyabet komplikasyonlarından özellikle diyabetik nöropatide de birçok araştırma yapılmıştır. Biz çalışmamızda daha sınırlı sayıda çalışmaya konu olan diyabette oluşan oksidatif stress ve antioksidan mekanizmalar üzerine PEMA'nın etkilerini inceledik. PEMA'nın diyabet gruplarıyla karşılaştırıldığında SOD, TAS, GSH değerleri üzerinde olumlu etkiler yarattığı MDA, NO, TOS, OSİ ortalamalarını da diyabet gruplarına göre düşürdüğünü gözlemledik. Oksidatif stresi azaltıp antioksidanların artışıını desteklediğini düşünmekteyiz. Diyabette PEMA'nın antioksidan etkilerini inceleyen ilk çalışma olan bu tez çalışmasının sonuçlarının daha uzun sürelerde, farklı frekanslarda, farklı puls trenleri ve farklı puls zamanları ile çalışılacak araştırmalara ışık tutmasını umuyoruz. Çalışmamızı destekleyecek araştırmaların PEMA'nın diyabet ve komplikasyonlarına yönelik non-invaziv bir tedavi seçeneği olarak daha geniş yer almasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

1. Yenigün M, Altuntaş Y. Her yönüyle diabetes mellitus. Nobel Tıp Kitapevleri, 2001.
2. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2005;59:365-373
3. Borodaco A. Classification and diagnosis of diabetes. *Terapia*. 2007;15(5):6-11.
4. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol*. 2003;17(1):24-38.
5. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem*. 1995;41(12):1819-1828
6. Naomi MS. Therapeutic uses of pulsed magnetic-field exposure: A review. *The Radio Science Bulletin*. 2003;307:9-32
7. Markov MS. Expanding use of pulsed electromagnetic field therapies. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2007;26:257-264.
8. Mert T, Gunay I, Ocal I. Neurobiological effects of pulsed magnetic field on diabetes-induced neuropathy. *Bioelectromagnetics*. 2010;31:39-47 .
9. Cumhuri M. Temel anatomi. Ankara: METU Press, 2001:s.248-250.
10. Abacı A, Böber E, Büyükgediz A. Tip 1 diyabet. *Güncel Pediatri*. 2007;5:1-10.
11. Quinn L. Mechanism in the development of type II diabetes mellitus. *J Cardiovasc Nurs*. 2002;16(2):1-16.

12. Başkal N. Diyabet tedavisinde yeni açılımlar. Endokrinolojide Diyalog. 2007;4:215-222.
13. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları Kuzucular Ofset, 1995.
14. Karahan İ, Yılmaz S, Ateşşahin A. Ratlarda cisplatin ve gentamisinin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri. FÜ Sağlık Bil Dergisi. 2006;20(1):39-43.
15. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. Diabetes Care. 2003;26:1589-1596
16. Boyunağa H, Celik C. Serbest radikaller ve hücrel denge. Bilim Teknik Dergisi. 1996;347:98-100.
17. Berryman AM, Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Influence of treatment of diabetic rats with combinations of pycnogenol, beta-carotene, and alpha-lipoic acid on parameters of oxidative stres. Journal Of Biochemical And Molecular Toxicology. 2004;18(6):345-352.
18. Walter RM Jr, Uriu-Hare JY, Olin KL et al. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. Diab Care 1991;14:1050-1056.
19. Koca C, Altan N, Sepici D, Aylin Kosova F,Şahin D, Arslantürk M. Oxidative stress and serum leptin levels in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus. Klinik Biyokimya Dergisi. 2008; 6(3): 99-107
20. Viktorínová A, Toserová E, Krizko M, Duracková Z. Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus. Metabolism. 2009;58:1477-1482.

21. Elmalı E, Altan N, Bukan N. Effect of the sulphonylurea glibenclamide on liver and kidney antioxidant enzymes in streptozocin-induced diabetic rats. *Drugs*. 2004;5:203-208.
22. Memişoğulları R, Taysi S, Bakan E, Çapaoğlu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct*. 2003;21:291-296.
23. Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;53:33-39.
24. Aliciguzel Y, Özen I, Aslan M, Karayalçın U. Activities of xanthine oxidoreductase and antioxidant enzymes in different tissues of diabetic rats. *J Lab Clin Med*. 2003;142(3):172-177.
25. Limaye Pv, Raghuram N, Sivakami S. Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 2003;243:147-152.
26. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec JL. Free radicals and antioxidant systems in health and diseases. *British J Hosp. Med*. 1990;43:334-344.
27. Musalmah M, Nizrana MY, Fairuz AH et al. Comparative effects of palm vitamin E and alpha-tocopherol on healing and wound tissue antioxidant enzyme levels in diabetic rats. *Lipids*. 2005;40:575-580.
28. Mc Lennan SV, Heffernan S, Wright L, Rae C, Fisher E, Yue DK, Turtle JR. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*. 1991;40:344-348.
29. Kılçıkız S, Demirel C. Oksidatif stres, radyasyona bağlı hasar ve radyokoruyucu olarak N-Asetil-Sistein'in potansiyel rolü. *Türk Onkoloji Dergisi*. 2008;23(4):200-207.

30. Kanat M, Donma O, Aygün C, Sardoğan E, Ekmekçi Ö, Sipahioğlu MH, Özaras R. Oxygen-dependent bactericidal activity of leukocytes in diabetes. *Turk Jem.* 2009;13:20-24.
31. Delibaş N, Kılınç İ. İnsulin ve gliklazid tedavisinin streptozotosin diabetik rat hipokampuslerinde lipid peroksidasyonuna etkisi. *Klinik Biyokimya Derg.* 2003;1:33-39.
32. Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli Rbg, Mccarthy A. 3-d structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, sability, solubility and crystallizability. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2007;58(3):347-53.
33. Aviram M. Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Today.* 1999;5:381-6.
34. Reljanovic M. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): A two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial. *Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. Free Radic Res.* 1999.
35. Hegazy SK, Tolba OA, Mostafa TM, Eid MA, El-Afify DR. Alpha-lipoic Acid improves subclinical left ventricular dysfunction in asymptomatic patients with type 1 diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2013;10(1):58-67
36. Cengiz M, Cengiz S. The Effects of vitamine C administration on erythrocyte glutathione and HbA1c levels of type 2 diabetic patients. *Cerrahpaşa J Med.* 2000;31(4):211-215.
37. Ming-Hoang. Antioksidant effects and insülin resistance improvement of chromium combined with vitamin c and e supplementation. November: *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2008;43:191-198
38. Noyan T, Balahoroğlu R, Kömüroğlu U. Diyabetik sıçanlarda insülinle kombine edilmiş a, e, ve c vitamini tedavisinin antioksidan enzimler üzerine etkileri. *Türk. Klinik Biyokimya Derg.* 2004;2(3):113-119

- 39.Sadi G, Kartal Dİ, Güray T. Regulation of Glutathione S-transferase mu with type 1 diabetes and its regulation with antioxidants. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2013;38(1):92-100
40. Akkaya H, Çelik S. Ratlarda diyabet öncesi ve sonrası oksidan-antioksidan durum. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*. 2010;24(1):5-10
41. Asayama K, Nakane T, Uchida N, Dobashi K, Nakazawa S. Serum antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res*. 1994;26:313-315.
42. Vadde R, Rama J. Oxidative stress in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patients. *Acta Diabetol*. 2008;45:41-46
43. Karasu C, Ozansoy G, Bozkurt O, Erdogan D, Omeroglu S. Changes in isoprenaline-induced endothelium-dependent and -independent relaxations of aorta in long-term stz-diabetic rats: reversal effect of dietary vitamin E. *Gen Pharmacol*. 1997;29:561-567.
44. Bremner JD, McCaffery P. The neurobiology of retinoic acid in affective disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008;32:315-331.
45. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*. 1994;74:139-162.
46. Hennekens CH. Risk factors for coronary heart disease in women. *Cardiol Clin*. 1998;16(1):1-8.
47. Memişoğulları R, Kurt YH, Coşkun A, Şahin İE, Yavuz Ö. Renal fonksiyonları normal tip 2 diyabetli hastalarda serum ürik asit düzeyleri. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2007;32(2):72-75.
48. Memişoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2004;18:193-197.

49. Özmen M, Tombuloğlu M. Tip 2 diabetes mellitus hastalarında serum transferin reseptör düzeyleri. Ege Tıp Dergisi. 2003;42(2):103-106.
50. Mccord Jm. Iron, free radicals, and oxidative injury. Semin Hematol. 1998;35(1):5-12.
51. Cooksey Rc, Jouihan Ha, Ajioka Rs, Hazel Mw, Jones Dl, Kushner Jp, Mcclain Da. Oxidative stress, beta-cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. Endocrinology. 2004;145(11):5305-5312.
52. Okutur SK, Bes C, Erkalayla Y, Erol G, Borlu F. Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda vücut demir depolarının metabolik kontrol, insülin rezistansı ve mikroalbuminüri üzerine etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2008;9(1):23-30.
53. Hatfield GL, LR Barclay. Bilirubin as an antioxidant: Kinetic studies of the reaction of bilirubin with peroxy radicals in solution, Micelles, And Lipid Bilayers. Org Lett. 2004;6(10):1539-1542.
54. Onat A, Özhan H, Karabulut A, Albayrak S, Can G,Hergenç G. Türk yetişkinlerinde bilirubin düzeyleri insülin direnci ve obezite ile ters ilişki içinde, metabolik sendromla ise ilişkili değil. Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol. 2007;35:28-36.
55. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006;160(1):1-40.
56. Reiter Rj, Tan Dx, Kim Sj, Wenbo Q. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and dna. Proc West Pharm Soc. 1998;41:229-23
57. Cam M, Yavuz O, Guven A, Ercan F, Bukan N And Ustundag N. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Pineal res. 2003;35:212-220

58. Baydaş G, Canatan H, Turkoğlu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin e on streptozocin-induced diabetes mellitus. J. Pineal Res. 2002;32:225–230.
59. Güler Çağatay, Zakir Çobanoğlu. Elektromanyetik Radyasyon. Ankara: Aydoğdu Ofset, 1994.
60. Ahlbom A, Green A, Kheifets L, Savitz D, Swerdlow A; ICNIRP (International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection) Standing Committee on Epidemiology. Epidemiology of health effects of radiofrequency exposure. Environ Health Perspect. 2004;112:1741-54.
61. Aksoy C. Manyetik alan tedavisi. Tuna N.(Editör). Elektroterapi’de.1. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001:s.119-27.
62. Thomas Jaermann, Fabian Suter, Diego Osterwalder Roger Luechinger. Measurement and analysis of electromagnetic fields of pulsed magnetic field therapy systems for private use. J. Radiol. Prot. 2011;31:107-116
63. Blank M, Goodman R. Electromagnetic initiation of transcription at specific DNA sites. J Cell Biochem, 2001;81:689-692.
64. Malmivuo J, Plonsey R. Bioelectromagnetism. Oxford University Press.1995;33-42.
65. Panagopoulos N, Messini N, Karabarbounis A, Alexandros L. Mechanism for Action of Oscillating Electric Fields on Cells. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2000;272:634-640.
66. Oğuz H. Dursun N. Dursun E. Tıbbi Rehabilitasyon Lazer, Manyetik Alan Tedavisi Ve Akupunktur. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2004.
67. Şeker S, Çerezci O. Çevremizdeki radyasyon ve koruma yöntemleri. Boğaziçi Üniv. Yayınları, İstanbul, 1997.

68. Pulsed magnetic therapy. The Lorenz and Hall effect. Newsletter Archives 2005. [www.pulsed magnetic therapy.com](http://www.pulsed magnetic therapy.com)
69. Griffiths, D.J. Elektromanyetik teori. Lappin MS. İstanbul: Arte Güven, 1996:s404.
70. Ramey DW. Magnetic and electromagnetic therapy. *Scientific Review of Alternative Medicine*. 1998;2(1):13-9.
71. Villa M, Mustarelli P, Caprotti M. Biological effects of magnetic field. *Life Sciences*.1991;49:85-92.
72. Lei T, Jing D, Xie K, Jiang M, Li F. Correction: Therapeutic Effects of 15 Hz Pulsed Electromagnetic Field on Diabetic Peripheral Neuropathy in Streptozotocin-Treated Rats. *Plos One*. 2013;8(12):10.
73. Del Seppia C, Ghione S, Luschi P, Ossenkopp KP, Choleris E, Kavaliers M. Pain perception and electromagnetic fields. *Neurosci Biobehav Rev*. 2007;31(4):619-642.
74. Basford JR. A historical perspective of the popular use of electric and magnetic therapy. *Arch Phys Med Rehabil*. 2001;82:1261-1269.
75. Finegold L. Magnet therapy. *BMJ*. 2006;332:4.
76. Fernandez MI, Watson PJ, and Rowbotham DJ, Effect of pulsed magnetic field therapy on pain reported by human volunteers in a laboratory model of acute pain. *British Journal of Anaesthesia*. 2007;99(2):266–269.
77. Vellbona C, Hazlewood CF, Jurida G. Response of pain to static magnetic fields in postpolio patients. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997;78(11):1200-1203.
78. Vavken P, Arrich F, Schuhfried O, Dorotka R. Effectiveness of pulsed electromagnetic field therapy in the management of osteoarthritis of the knee: a metaanalysis of randomized controlled trials. *J Rehabil Med*. 2009;41:406-411.



79. Özgüçlü E, Çetin A, Çetin M, Calp E. Additional effect of pulsed electromagnetic field therapy on knee osteoarthritis treatment: a randomized, placebo-controlled study. *Clin Rheumatol.* 2010;29:927-931
80. Charles E. Argoff, B. Eliot Cole, David A. Fishbain. Treatment guidelines for diabetic peripheral neuropathic pain. *Medical Journal of the Mayo Clinic, College of Medicine.* 2006;81(4,suppl):12-25.
81. Assiotis A, Sachinis NP, Chalidis BE. Pulsed electromagnetic fields for the treatment of tibial delayed unions and nonunions. A prospective clinical study and review of the literature *Journal of Orthopaedic Surgery and Research.* 2012;7:24
82. Massari L, Caruso G, Sollazzo V, Setti S. Pulsed electromagnetic fields and low intensity pulsed ultrasound in bone tissue. *MScb Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism.* 2009;6(2):149-154
83. Walker NA, Denegar CR, Preische J. Low-intensity pulsed ultrasound and pulsed electromagnetic field in the treatment of tibial fractures: A systematic review train. 2007;42(4):530–535.
84. Bassett CAL, Pilla AA, Pawluk R. A non-surgical salvage of surgically-resistant pseudoarthroses and non-unions by pulsing electromagnetic fields. *Clin Orthop.* 1977;124:117-131
85. Bassett CA. Beneficial effects of electromagnetic fields. *Journal of Cellular Biochemistry.* 1993;51:387-393.
86. Huang Li-Qun, He Hong-Chen, He Cheng-Qi, Chen Jian, Yang Lin. Clinical update of pulsed electromagnetic fields on osteoporosis. *Chinese Medical Journal.* 2008;121(20):2095-2099
87. Olav P, Jacqueline C, Jan H, Jan AN. Systemic treatment with pulsed electromagnetic fields do not affect bone microarchitecture in osteoporotic rats. *International Orthopaedics (SICOT).* 2012;36:1501-1506

88. Shen W, Zhao JH. Pulsed electromagnetic fields stimulation affects bmd and local factor production of rats with disuse osteoporosis. *Bioelectromagnetics*. 2010;31:113-119.
89. Jing D, Cai J, Shen G, Huang J, Li F, Li J, Lu L, Luo E, Xu Q. The preventive effects of pulsed electromagnetic fields on diabetic bone loss in streptozotocin-treated rats *Osteoporosis International*. 2011;22(6):1885-1895
90. Sütbeyaz ST, Sezer N, Köseoğlu BF. The effect of pulsed electromagnetic fields in the treatment of cervical osteoarthritis. *Rheumatol Int*. 2006;26:320-4.
91. Collacott EA, Zimmerman JT, White DW, Rindone JP. Bipolar permanent magnets for the treatment of chronic low back pain. *JAMA*. 2000;284(5):566.
92. Kulcu Geler D, Gulşen G, Altınok EC. Short term efficacy of pulsed electromagnetic field therapy on pain and functional level in knee osteoarthritis: A randomised controlled study. *Turk J Rheumatol*. 2009;24:144-8.
93. Fitzsimmons RJ, Ryaby JT, Magee FP, Baylink DJ. Combined magnetic fields increased net calcium flux in bone cells. *Calcif Tissue Int*. 1994;55(5):376-80.
94. Jacobson JJ, Gorman R, Yamanashi WS, Saxena BB, Clayton L. Low-amplitude, extremely low frequency magnetic fields for the treatment of osteoarthritic knees: A Double-blind Clinical Study. *Altern Ther Health Med*. 2001;7(5):54-64,66-69.
95. Harlow T, Greaves C, White A, Brown L, Hart A, Ernst E. Randomised controlled trial of magnetic bracelets for relieving pain in osteoarthritis of the hip and knee. *BMJ*. 2004;329(7480):1450-1454.
96. Patrick Vavken, Ferdi Arrich, Othmar Schuhfried, Ronald Dorotka. Effectiveness of pulsed electromagnetic field therapy in the management of osteoarthritis of the knee: a meta-analysis of randomized controlled trials *J Rehabil Med*. 2009;41:406-411

97. Segal NA, Toda Y, Huston J, Saeki Y, Shimizu M, Fuchs H et al. Configurations of static magnetic fields for treating rheumatoid arthritis of the knee. *Arch Phys Med Rehabil.* 2001;82(10):1453-1460.
98. Trock DH, Bollet AJ, Markoll R. The effect of pulsed electromagnetic fields in the treatment of osteoarthritis of the knee and cervical spine. Report of randomized, double blind, placebo controlled trials, *J. Rheumatol.* 1994;21:1903-1911.
99. Sanseverino ER, Vannini A, Castellacci P. Therapeutic Effects of Pulsed Magnetic Fields on Joint Diseases. *Panminerva Medico.* 1992;34(4):187-196.
100. Konrad K, Sevcic K, Foldes K, Piroaska E, Molnar E. Therapy with pulsed electromagnetic fields in aseptic loosening of total hip prostheses: A prospective study. *Clinical Rheumatology.* 1996;15(4):325-328.
101. Binder A, Parr G, Hazleman B, Fitton-Jackson S. Pulsed Electromagnetic field therapy of persistent rotator cuff tendinitis: a Double-blind controlled assessment. *The Lancet.* 1984;1(8379):695-698
102. Thomas AW, Graham K, Prato FS. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial using a lowfrequency magnetic field in the treatment of musculoskeletal chronic pain. *Pain Res Manage.* 2007;12(4):249-258.
103. Ishida M, Fujioka M, Takahashi KA, Arai Y, Kubo T. Electromagnetic fields a novel prophylaxis for steroid-induced osteonecrosis. *PhD Clin Orthop Relat Res.* 2008;466:1068-1073
104. Seber S, Meroğlu H, Etünkana H, Nusret K. The efficacy of pulsed electromagnetic fields used alone in the treatment of femoral head osteonecrosis: A report of two cases. *SEActa Orthop Traumatol Turc.* 2003;37(5):410-413
105. Boopalan, Arumugam S, Livingston A, Mohanty M, Chittaranjan S. Pulsed electromagnetic field therapy results in healing of full thickness articular cartilage defect. *P. R. J. V. C. International Orthopaedics (SICOT).* 2011;35:143-148

106. Massari L, Fini M, Cadossi R, Setti S, Traina GC. Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* 2006;88:56-60.
107. Devereaux MD, Hazleman BL, Thomas PP. Chronic lateral humeral epicondylitis - A double-blind controlled assessment of pulsed electromagnetic field therapy. *Clinical and Experimental Rheumatology.* 1985;3:333-336.
108. Uzunca K, Birtane M, Taştekin N. Effectiveness of pulsed electromagnetic field therapy in lateral epicondylitis. *Clin Rheumatol.* 2007;26(1):69-74.
109. Benazzo F, Zanon G, Pederzini L, Modonesi F, Cardile C, Falez F, Ciolli L, Cava FL, Giannini S, Buda R, Setti S, Caruso G, Massari L. Effects of biophysical stimulation in patients undergoing arthroscopic reconstruction of anterior cruciate ligament: prospective, randomized and double blind study *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2008;16:595-601
110. Mooney V. A randomized double-blind prospective study of the efficacy of pulsed electromagnetic fields for interbody lumbar fusions. *Spine.* 1990;15(7):708-712.
111. Karasek M, Czernicki J, Woldanska-Okonska M, Zylinska K, Swietoslowski J. Chronic exposure to 25-80-microT, 200-Hz magnetic field does not influence serum melatonin concentrations in patients with low back pain. *J Pineal Res.* 2000 ;29(2):81-5.
112. Kumar S, Kumar K, Behari J. The therapeutic effect of a pulsed electromagnetic field on the reproductive patterns of male wistar rats exposed to a 2.45-GHz microwave field clinics. 2011;66(7):1237-1245
113. Mann K, Wagner P, Brunn G, Hassan F, Hiemke C, Röschke J. Effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on the neuroendocrine system. *Neuroendocrinology.* 1998;67:139-144.

114. Carvalho MLL, Motta R, Konrad G, Battaglia MA, Bricchetto G. A randomized placebo-controlled cross-over study using a low frequency magnetic field in the treatment of fatigue in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2012;18(1):82-89
115. Kim SS, Shin HJ, Eom DW, Huh JR, Woo Y, Kim H, Ryu SH, Suh PG, Kim MJ, Kim JY, Koo TW, Cho YH, Chung SM. Enhanced expression of neuronal nitric oxide synthase and phospholipase C-gamma1 in regenerating murine neuronal cells by pulsed electromagnetic field. *Exp Mol Med.* 2002;34(1):53-9.
116. Delhez M, Legros JJ. No influence of 20 and 400 mt, 50 hz magnetic field exposure on Cognitive function in human. *Bioelectromagnetic.* 2004;25:592-598.
117. Jacobs G, Amanda R, Pendleton R, Monson K, Murray, Kim, O'neil decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics.* 2002;23:106-112.
118. Pena-Philippides JC, Yang Y, Bragina O, Hagberg S, Nemoto E, Roitbak T. Effect of pulsed electromagnetic field (pemf) on infarct size and inflammation after cerebral ischemia in mice. *Transl Stroke Res.* 2014.
119. YuanY, Wei L, Li F, Guo W, Li W, Luan R, Anlin Lv, Wang H. Pulsed magnetic field induces angiogenesis and improves cardiac function of surgically induced infarcted myocardium in sprague-dawley. *Rats Cardiology.* 2010;117:57-63.
120. Adey WR. Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields *Physiol Rev.* 1981;61(2):435-514.
121. Cadossi R, Bersani F, Cossarizza A, Zucchini P, Emilia G, Torelli G, Franceschi C. Lymphocytes and low frequency electromagnetic fields. *FASEB Journal.* 1992; 6: 2667-2674.
122. Walleczek, J. Electromagnetic field effects on cells of the immune system: The role of calcium signaling. *The FASEB Journal.* 1992;6:3177-3185.

123. Frey AH. Electromagnetic field interactions. Biophysical aspects of electromagnetic field effects on mammalian cells. Ch. 1995;3:32-33.
124. Balcavage WX, Alvager T, Swez J, Goff CW, Fox MT, Abculyava S, King MW. A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological system. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1996;222:374-378.
125. Breckenridge DG, Stojanovic M, Marcellus RC Shore.GC. J. Cell Biol. 2003;160:1115-1127.
126. Tunik S, Ayaz E, Akpolat V, Nergiz Y, Isen K, Celik MS, Seker U. Effects of pulsed and sinusoidal electromagnetic fields on MMP-2, MMP-9, collagen type IV and E-cadherin expression levels in the rat kidney: an immunohistochemical study. Anal Quant Cytol Histol. 2013;35(5):253-60.
127. Reichtein L, Labrenz S, Ziegler D, Martin S. Effective treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy by high-frequency external muscle stimulation. Diabetologia 2005; 48:824-28.
128. Sakurai T, Yoshimoto M, Koyama S, Miyakoshi J. Exposure to extremely low frequency magnetic fields affects insulin-secreting cells. Bioelectromagnetics. 2008;29(2):118-24.
129. Pieber K, Herceg M, Paternostro-Sluga T. Electrotherapy for the treatment of painful diabetic peripheral neuropathy: A review. PhDJ Rehabil Med. 2010;42:289-295
130. Weintraub MI, Wolfe GI, Barohn RA. Static magnetic field therapy for symptomatic diabetic neuropathy: A randomized, double- blind, placebo-controlled trial. Arch Phys Med Rehabil. 2003;84:726-46.
131. Jaermann T, Suter F, Osterwalder D, Luechinger R. Measurement and analysis of electromagnetic fields of pulsed magnetic field therapy systems for private use. J. Radiol. 2011;31:107-116

132. Musaev AV, Gusainova SG, İmamverdieva SS. The use of pulsed electromagnetic field with complex modulation in the treatment of patient with diabetic polyneuropathy. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2003;33:8.
133. Poulter MO, Hashiguchi T, Padjen AL. Evidence for a sodium-dependent potassium conductance in frog myelinated axon. *Neuroscience*. 1995;68:487-495.
134. McIntyre CC, Richardson AG, Grill WM. Modeling the excitability of mammalian nerve fibers: Influence of afterpotentials on the recovery cycle. *J Neurophysiol*. 2002;87:995-1006.
135. Mert T, Gunay I, Dağlıoğlu YK. The roles of potassium channels in the frequency-dependent activities of the regenerating nerves. *Pharmacology*. 2004;72(3):157-166
136. Mert T. Kv1 channels in signal conduction of myelinated nerve fibers. *Rev Neurosci*. 2006;17(3):369-373.
137. Gunay I, Mert T. Pulsed magnetic fields enhance the rate of recovery of damaged nerve excitability. *Bioelectromagnetics*. 2011;32:200-208
138. Bosi E, Conti M, Vermigli C, Cazzetta G, Peretti E. Effectiveness of frequency-modulated electromagnetic neural stimulation in the treatment of painful diabetic neuropathy. *Diabetologia*. 2005;48:817-823
139. Lai H, Carino M. 60 Hz magnetic fields and central cholinergic activity: effects of exposure intensity and duration. *Bioelectromagnetics*. 1999;20(5):284-9.
140. Kotnik, T. Miklavcic, D. Theoretical analysis of voltage inducement on organic molecules. In: Kostarakis, P, ed. *Proceedings of Forth International Workshop Biological effects of electromagnetic fields*. 2006;217-226

141. Gupta A, Taly AB, Srivastava A, Kumar S, Thyloth M. Efficacy of pulsed electromagnetic field therapy in healing of pressure ulcers: A randomized control trial. 2009;57(5):622-626
142. Sailaja Devi Mm, Suresh Y, Das Un. Preservation of the antioxidant status in chemically-induced diabetes mellitus by melatonin. *J. Pineal Res.* 2000; 2:108-115.
143. Vural H, Sabuncu T, Arslan So, Aksoy N. Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *J. Pineal Res.* 2001; 31:193-198.
144. Karasek M, Woldanska-Okonska M, Czernicki J, Zylinska K, Swietoslowski J. Chronic exposure to 2.9 mT, 40 Hz magnetic field reduces melatonin concentrations in humans. *J Pineal Res.* 1998;25(4):240-244.
145. Karasek M, Czernicki J, Woldanska-Okonska M, Zylinska K, Swietoslowski J. Chronic exposure to 25-80-microT, 200-Hz magnetic field does not influence serum melatonin concentrations in patients with low back pain. *J Pineal Res.* 2000;29(2):81-5.
146. Kumar S, Kumar Kesari K, Behari J. The therapeutic effect of a pulsed electromagnetic field on the reproductive patterns of male wistar rats exposed to a 2.45-GHz microwave field. *Clinics.* 2011;66(7):1237-1245.
147. Wilson BW, Wright CW, Morris RE, Buschbom DP, Brown DP, Miller DL. Evidence for an effect of ELF electromagnetic fields on human pineal gland function. *J Pineal Res.* 1990;9:113-26.
148. Bakos J, Nagy N, Thuro'czy G, Szabo' LD. Urinary 6-sulphatoxymelatonin excretion is increased in rats after 24 hours of exposure to vertical 50 Hz, 100 microT magnetic field. *Bioelectromagnetics.* 1997;18:190-2.
149. Jentsch A, Lehmann M, Schöne E, Thoss F, Zimmermann G. Weak magnetic fields change extinction of a conditioned reaction and daytime melatonin levels in the rat. *Neurosci Lett.* 1993;157(1):79-82.



150. Ballı E. Melatoninin Fonksiyonları. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2003;4:380-385.
151. Marron MT, Goodman EM, Greenebaum B, Tipnis P. Effects of sinusoidal 60-Hz electric and magnetic fields on ATP and oxygen levels in the slime mold, *Physarum polycephalum*. *Bioelectromagnetics*. 1986;7(3):307-14.
152. Varani K, Mattei MD, Vincenzi F. Characterization of adenosine receptors in bovine chondrocytes and fibroblast-like synoviocytes exposed to low frequency low energy pulsed electromagnetic fields *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16:292-304
153. Cadossi R, Traina CG, Massarin L. Electric and magnetic stimulation of bone repair: review of the European experience R.K. Aaron, M.E. Bolander (Eds.), *Symposium of physical regulation of skeletal repair*, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, IL, USA. 2005;37-51
154. M. De Mattei, A. Caruso, G.C. Traina, F. Pezzetti, T. Baroni, V. Sollazzo Correlation between pulsed electromagnetic fields exposure time and cell proliferation increase in human osteosarcoma cell lines and human normal osteoblast cells in vitro. *Bioelectromagnetics*. 1999;20:177-182
155. Marcheggiani GM, Muccioli Grassi A, Setti S, Filardo G, Zambelli L, Bonanzinga T, Rimondi E, Busacca M, Zaffagnini S. Conservative treatment of spontaneous osteonecrosis of the knee in the early stage: Pulsed electromagnetic fields therapy *European Journal of Radiology*. 2013;82(3):530-537.
156. Elmar Peschke. Melatonin, Endocrine Pancreas And Diabetes. *J. Pineal Res*. 2008;44:26-40
157. Kobierska AL, Cieslar G, Sieron A, Grzybek H. Influence Of Alternating Extremely Low Frequency ELF magnetic field on structure and function of pancreas in rats. *Bioelectromagnetics* 2002;23:49-58

158. Weintraub MI. Magnetic biostimulation in neuralgic illness. In: Weintraub MI (ed). *Alternative and complementary treatment in neurologic illness*. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2001;278-286.
159. Waxman SG, Cummins TR, Dib-Hajj SD, Black JA. Voltagegated sodium channels and the molecular pathogenesis of pain: a review. *J Rehabil Res Dev*. 2000;37:517-528.
160. Horn S, Quasthoff S, Grafe P, Bostock H, Renner R, Schrank B. Abnormal axonal inward rectification in diabetic neuropathy. *Muscle Nerve*. 1996;19:1268-1275.
161. Eglen RM, Hunter JC, Dray A. Ions in the fire: recent ionchannel research and approaches to pain therapy. *Trends Pharmacol Sci*. 1999;20:337-342.
162. Weintraub MI, Cole SD. Pulsed magnetic field therapy in refractory neuropathic pain secondary to peripheral neuropathy: electrodiagnostic parameters-pilot study. *Neurorehabil Neural Repair* 2004;18:42-46.
163. Weintraub MI, Wolfe GI, Barohn RA et al. Static magnetic field therapy for symptomatic diabetic neuropathy: A randomized, double- blind, placebo-controlled trial. *Arch Phys Med Rehabil* 2003;84:726-46.
164. Goraca A, Ciejka E, Piechota A. Effects of extremely low frequency magnetic field on the parameters of oxidative stress in heart *journal of physiology and pharmacology* 2010;61(3): 333-338
165. ShariWan A. Gharavi M, Pasalar P, Aminian O. Effect of extremely low frequency magnetic Weld on antioxidant activity in plasma and red blood cells in spot welders. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009; 82:259–266
166. Seze R, Tuffet S, Moreau JM, Veyret B. Effects of 100mT Time Varying Magnetic Fields on the Growth of Tumors in Mice. *Bioelectromagnetics*. 2000;21:107-111

167. Sayılan G. Streptozotosin İle Diyabet Geliştirilmiş Sıçanlarda Nitrik Oksit Metabolizmasının İncelenmesi. 2013, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 64 sayfa, Edirne, (Doç. Dr. Sevgi Eskiocak).
168. Abou-Seif MA, Youssef AA (). Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. Clin Chim Acta. 2004;346(2):161-170.
169. Soliman GZ. Blood lipid peroxidation superoxide dismutase, malonaldehyde, glutathione levels in egyptian type 2 diabetic patients. Singapore Med J. 2008;49(2):129-136.
170. Wu YG, Lin H, Qi XM, Wu GZ, Qian H, Zhao M, Shen JJ, Lin ST. Prevention of early renal injury by mycophenolate mofetil and its mechanism in experimental diabetes. Int Immunopharmacol. 2006;6(3):445-53.
171. Mert T, Ocal I, Cinar E, Yalcin MS, Gunay I. Pain-relieving effects of pulsed magnetic fields in a rat model of carrageenan-induced hindpaw inflammation. Int J Radiat Biol. 2014;90(1):95-103.
172. Ayşe MT. Sıçanlarda Oluşturulan Kas Yaralanmasında Vitamin E, N-Asetil Sistein Ve Terapötik Ultrason Uygulamasının Biyokimyasal Ve Histopatolojik Etkilerinin Araştırılması. 2013, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 95 sayfa, Van, (Yrd. Doç. Dr. Halil Özkol).
173. Balahoroğlu R. Deneysel Olarak Farelerde Oluşturulan Karaciğer Ve Böbrek Toksisitesinde N-Asetilsistein, Melatonin Ve C Vitamininin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. 2005, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta uzmanlık tezi, 98 sayfa, Van, (Doç. Dr. Haluk Dülger).
174. Düzgünçinar O, Yavuz B, Hazirolan T, Deniz A, Tokgözoğlu SL, Akata D, Demirpençe E. Plasma myeloperoxidase is related to the severity of coronary artery disease. Acta Cardiol. 2008;63(2):147-52.

175. Özşahin EA. Hemodiyaliz Hastalarında Bazı Kardiyovasküler Risk Faktörleri: Oksidatif Stres, Paraoksonaz Ve Hiperhomosisteinemi. 2004, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 66 sayfa, Kayseri, (Prof.Dr. Sema Kader Köse)

176. Ekşi YE. Tip2 Diyabetli Hastalarda Myeloperoksidaz Ve Glutamat-Sistein Ligaz Katalitik Albirimi Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi. 2012, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 79 sayfa, İstanbul, (Doç. Dr. H. Arzu Ergen)

177. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol, Regul Integr Comp Physiol.* 2004;286(3):431-44

178. Anderson D, Yu T-W, Wright J, Ioannides C (). An examination of DNA strand breakage in the comet assay and antioxidant capacity in diabetic patients. *Mut Res Fund Mol Mec Mut.* 1998;398(1):151-161.

179. Tas S, Sarandol E, Ziyank-Ayvalik S. Vanadyl sulfate treatment improves oxidative stress and increases serum paraoxonase activity in streptozotocin-induced diabetic rats, *Nutr Res.* 2006;26:670-676.

180. Fidan AF. Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyete Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu Ve Lipid Peroksidasyonu İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması. 2007, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 137 sayfa, Afyonkarahisar (Prof.Dr. Yılmaz Dündar).

181. Yüztaş E. Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Prooksidan/Total Antioksidan Durumu Ve Vitamin Düzeyleri Üzerine Likopenin Etkisi. 2011, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.

182. Sözmen EY, Sözmen B, Delen Y, Onat T. Catalase/Superoxide dismutase (SOD) and Catalase/Paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemc control, Arch Med Res. 2001;32:283-287.
183. Gumieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z, Nikolajuk J . Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. Acta Biochimica Polonica. 2002;49(2):529-535.
184. Song F, Jia W, Yao Y, Hu Y, Lei L, Lin, J, Sun X, Liu L. Oxidative stress, antioxidant status and dna damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed type 2 diabetes. Clinical Science. 2007;112:599–606
185. Uygun . Diyabetes Mellitus'lu Hastalarda Total Oksidan-Antioksidan Düzeyleri Ve Uyku Kalitesi. 2012, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta uzmanlık tezi, 56 sayfa, Gaziantep (Yrd. Doç. Esen Savaş).
186. Keskin E. Diabetik Anne Bebeklerinde Serum S100b Protein Düzeyi Ve Total Oksidan Ve Antioksidan Kapasitenin Degerlendirilmesi 2013, Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta uzmanlık tezi, 83 sayfa, Şanlıurfa, (Doç. Dr. Alpay akmak).
187. Çiçekler H. Streptozotosinle Oluşturulmuş Diyabette D Vitamininin Etkileri. 2011, Selu Üniversitesi , Meram Tıp Fakültesi, Tıpta uzmanlık tezi, 90 sayfa, Konya, (Yrd. Doç. Dr. Said Sami Erdem).

## ÖZGEÇMİŞ

Hafıza Gözen, 30 Ağustos 1982’de Mardin ilinin Midyat ilçesinde doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini bitirdikten sonra 2005 yılında Hacettepe Üniversitesi Fizik Tedavi Ve Tedavi Bölümü’nden mezun olarak fizyoterapist ünvanını almıştır. 2011 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Fizyoterapi Bölümü’ne öğretim görevlisi olarak atandı. Aynı yıl Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Yüksek lisans eğitimini halen sürdürmektedir.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
UNIVERSITY OF GAZİANTEP, ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHICS COMMITTEE  
GAZİANTEP-TÜRKİYE

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL NO	18				
	ARAŞTIRMA ADI	Deneysel diyabette elektromanyetik alanın (PEMA) antioksidan etkileri				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI/ADI/BİRİMİ	Yrd.doç.dr.Can DEMİREL Öğr.Gör.Hafıza GÖZEN				
	DIĞER ARAŞTIRICILARIN UNVANI/ADI/BİRİMİ					
	KOORDİNATÖR MERKEZ DESTEKLEYİCİ					
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	No/ Tarih				
	DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	Var/06-07 Ocak 2005				
	BAŞVURU TAAHHÜTNAMESİ	Var/27.04.2012				
ÇALIŞMA ESASI	İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI KLAVUZU					
KARAR BİLGİLERİ	<b>Karar No: 28.05.2012/13</b> <span style="float: right;"><b>Tarih:28.05.2012</b></span>					
	Gaziantep üniversitesi Tıp Fakültesi ,Biyofizik Anabilim DalındaYapılması planlanan ve yukarıda adı geçen hayvan deneyleri araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 28.05.2012tarihli Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın yapılmasının uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı /Adı/ Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Celalettin CAMCI Başkan	Tıbbi Onkoloji	Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI
Prof.Dr.Tuncay DEMİRYÜREK Başkan Yardımcısı	Farmakoloji	Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<i>A. Demiryürek</i>
Prof .Dr.Şükran YAĞCI YÜCEL Üye	Biyoloji	Fen-Ed.Fak. Biyoloji Bölümü	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<i>Ş. Yağcı</i>
Prof .Dr.Ahmet ERBAĞCI Üye	Üroloji	Tıp Fakültesi Üroloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI
Yrd.Doç.Dr.Neşe KIZILKAN Üye/Eğitim Sorumlusu	Anatomi	Tıp Fakültesi Anatomi A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<i>N. Kızılkın</i>
Yrd.Doç.Dr.Ayhan ERALP Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<i>A. Eralp</i>
Yrd.Doç.Dr.Oral SÖKÜCÜ Üye/Raportör	Diş Hekimliği	Diş Hekimliği Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI
Avukat Murat GÜNERİ Üye	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
M.Celal ÖZSÖYLER Üye	Sivil Üye	Sivil Üye	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<i>M. Özsoyl</i>

\* Araştırma ile İlişki  
\*\* Toplantıda Bulunma

