



Darbeli elektromanyetik Alan Jeneratörü ile Sürülen Bobin Tasarımları ve Sıçanlarda Yara İyileşme Etkileri

Design of Coils Driven by Pulsed Electromagnetic Field Generator and the Effect of Wound Healing in Rats

Mehmet GÜMÜŞAY¹, Fulya GÜLBAĞÇA², Suna SAYĞILI², Işıl AYDEMİR², Adnan KAYA², M. İbrahim TUĞLU²
¹Biyomedikal Teknolojileri ABD, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir, Türkiye
{mehmet.gumusay, adnan.kaya}@ikc.edu.tr
²Histoloji ve Embriyoloji ABD, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Türkiye
{fulya.gulbagca, suna.saygili, isil.aydemir, ibrahim.tuglu}@cbu.edu.tr

Özetçe— Kronik yara iyileşmesi özellikle diyabetli ve yaşlılarda önemli bir sorun olup yapılmakta olan tedavilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Elektromanyetik alanların (EMA) vücudumuz üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Bu alanlar fizyoterapi amaçlı olarak kemik problemlerinde, kırıldak rejenerasyonunda ve ağrı gideriminde kullanılmaktadır. Son zamanlarda EMA *in vitro* ve *in vivo* deneylerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, tasarladığımız Helmholtz bobin dizisi sistemi ile yapılan darbeli elektromanyetik alanlar (PEMF) *in vivo* deney sonuçları verilmiştir. Deneysel bir model olarak sıçan derisinde yapılan yara iyileşmesi bu tür tedavi etkinliğinde ve mekanizmalarının araştırılmasında önemli bilgiler vermektedir. Bu amaçla deneysel deri iyileşmesinde kontrole göre PEMF etkisi makroskobik olarak etkinliği açısından incelendi. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 75 Hz frekansında PEMF grubunda daha hızlı bir yara kapanma süreci izlenmiştir.

Anahtar Kelimeler — *epitelizasyon; yara kapanması; darbeli elektromanyetik alanlar, PEMF, kronik yaralar.*

Abstract— Chronic wound healing is an important problem especially in diabetic and the elderly which is needed development of the current treatment methods. Electromagnetic fields (EMF) has a significant impact on our body. These fields are being used for bone problems, cartilage regeneration, and pain removal for physiotherapy purposes. Lately, EMFs are often used in *in vitro* and *in vivo* assays. In this study, *in vivo* test results of the applied pulsed electromagnetic fields (PEMF) with our designed Helmholtz coil array system are given. The skin wound healing conducted in rats as an experimental model provides

important information for evaluating the efficacy and mechanism of these kind of treatments. For this purpose, effectiveness of PEMF compared to control groups on experimental skin healing effect was examined macroscopically. Compared with the control groups a faster wound healing process was followed by PEMF application at 75 Hz frequency.

Keywords — *epithelialization; wound closure; pulsed electromagnetic fields, PEMF; chronic wounds.*

I. GİRİŞ

Son yıllarda farklı EMA uygulamalarının farklı biyolojik dokular üzerindeki etkisi yoğun bir şekilde çalışılmaktadır [1-4]. Bu süreçte PEMF tedavisine maruz kalan dokularda metabolik değişimlerin hücresel boyutta olduğu görüldü [2]. Ancak kemik ve diğer dokulardaki EMA mekanizması henüz tespit edilememiştir. Literatürde PEMF tedavisinin çeşitli kemik kırıklarında osteojenik etkisinin olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır [4]. Bu çalışmaların yapıldığı hastalar üzerinde yapılan incelemelerde kemik iyileşmesiyle birlikte tedavi alanındaki deri lezyonlarında da gelişmelere rastlanmıştır.

Sıçanlar derilerinde yapılan bazı PEMF etkisinin *in vivo* yara iyileşmesi üzerindeki çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Bu çalışmaların bazılarında, yaraya uygulanan PEMF etkisi ile yaralarda daralma [5], hücresel organizasyonda iyileşme [6] ve erken kollajen [7] ve olgunlaşma oluşumu [8] görülmüştür. Buna karşın bazı çalışmalar PEMF etkisinin sıçan derisinde açılan yaralar üzerindeki etkisine rastlanmamıştır [9]. Köpeklerde açılan yaralar üzerinde yapılan bir çalışmada PEMF etkisi ile yara epitelizasyonunun artırdığı görülmüştür [10].

Cihaz Tasarımı 1

1. Gün / 27 Ekim 2016, Perşembe

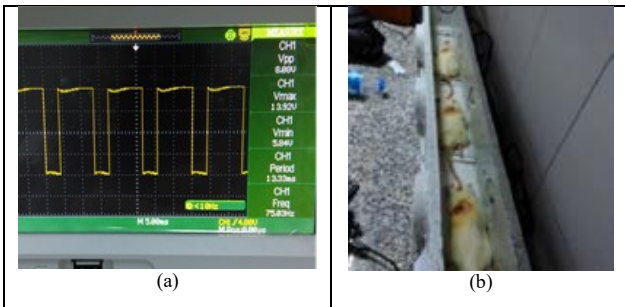
PEMF'in aynı zamanda klinik olarak insanlarda kronik deri ülserleri üzerindeki etkilerine de bakılmıştır. Bu çalışmalardan bir tanesinde PEMF uygulanan grupta ülserler kötüleşmezken, kontrol grubunda dört tane ülser hastasının durumu daha kötü hale gelmiştir [11]. Bu çalışmanın sonunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulama grubunda yara iyileşmesi artarken ülserlerin tekrarlanması azalmıştır.

Daha önce yapılmış çalışma sonuçlarının kullanılan yöntem farklılıkları ve frekans, dalga formu ve süre gibi çeşitli parametrelerin değişkenliği nedeniyle kıyaslanması zordur. Ancak genel olarak düşük frekans ve düşük enerjili EMA uygulamaları yara iyileşmesinde olumlu sonuçlar vermiştir. Bu çalışmada, tasarladığımız bir Helmholtz bobin dizisi sisteminde 75 Hz frekansında PEMF etkisinin sıçan derilerinde oluşturulan yaralar üzerindeki etkisi incelendi.

II. MALZEME VE YÖNTEM

Bu deney kapsamında 200±50 g ağırlığında üç adet kontrol ve üç adet PEMF uygulaması gören toplam altı adet erkek sıçan kullanıldı. Bütün hayvanlar standart kafeslerde tutularak beslenmeleri kısıtlanmadı. Oda sıcaklığı 20 ± 2 °C olarak sabit tutuştu. Anestezi için periton içi olarak ketamin ve ksilazin uygulandı. Sırtları traşlanan hayvanlarda derideki yara yaklaşık 1x1 cm² boyutunda kare şeklinde açılarak kapatılmadan iyileşmeye yönlendirildi.

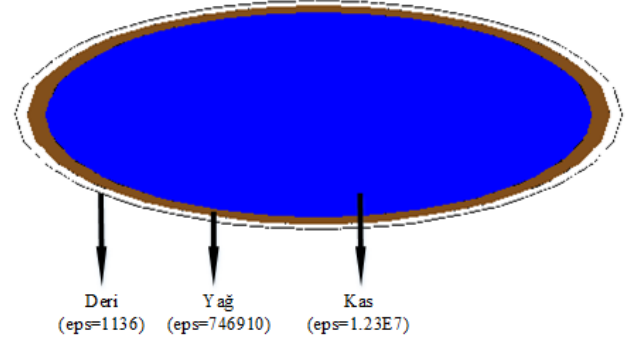
Birbirine seri olarak bağlanan bobin çiftlerine 75 Hz frekans, 1.3 ms puls süresi, kare dalga formu ve 1 mT manyetik alan intensitesi oluşturacak şekilde bir sinyalle beslendi (Şekil 1(a)). Manyetik alan büyüklüğü sistemin ortasına yerleştirilen bir Hall Effect (Pasco, Roseville, CA, USA) sensörü ile ölçüldü. Sıçan derisinde yara oluşturulduktan sonra hayvanlara 9 gün boyunca Helmholtz bobin dizisi sistemi ile PEMF uygulaması yapıldı (Şekil 1(b)). Yara alanın hesaplanması için 0, 3, 6 ve 9. günlerde bir dijital kamera ile resimler çekildi (Nikon D80; Nikon, Tokyo, Japan).



Şekil 1. (a) 75 Hz Kare Dalga formunun osiloskop görüntüsü, (b) Hücre kültürüne Helmholtz bobin dizisi sistemi ile yapılan PEMF uygulaması.

A. Bobinlerde Oluşan Manyetik Alan

Bu sistem seri olarak bağlanan üç çift Helmholtz bobin dizisinden olup her bir bobinde 30 sarım bulunmaktadır. Benzetim çalışmaları için sıçanlar bir elipsoit şeklinde çizilmiş ve biyolojik dokuların dielektrik özellikleri ile birlikte Şekil 2'de gösterilmiştir.

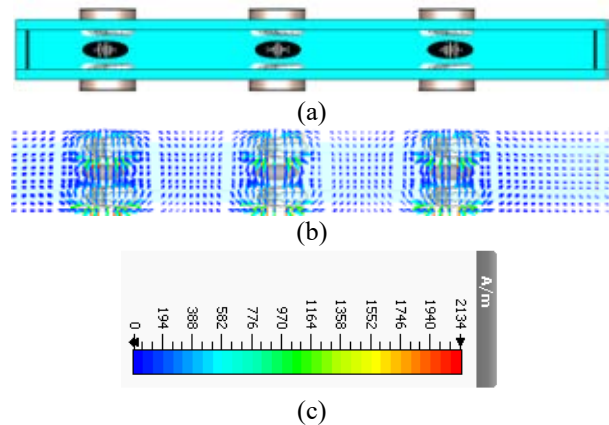


Şekil 2. Elipsoit şeklinde çizilen sıçanın dielektrik özelliklerine göre modellenmesi

Akım taşıyan bir iletkenin herhangi bir noktasında oluşan manyetik alan Biot-Savart yasasına göre aşağıda verilen denklem ile bulunabilir. Bu hesaplama yönteminde helikal bobinin spin sayısı küçük bölmelere ayrılarak herhangi bir noktadaki manyetik alan her bir bölmenin vektörel toplamı ile bulunmaktadır. Denklemdeki \vec{d}_i akım elemanını, r ise akım elemanı ile ölçülmek istenen manyetik alandaki referans noktası arasındaki mesafedir. \vec{d}_i akım elemanını i akımının yönüne doğru yönlendirilmiştir. Burada telin uzunluğu boyunca düzgün bir akım taşıdığı varsayılmıştır.

$$\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{\vec{d}_i \times \vec{r}}{r^3} (1)$$

Helmholtz bobindeki manyetik alan dağılımı deneyleri yapmamız için uygun olup test edilmesi istenen sıçanlar iki bobinin tam ortasına yerleştirildi. Biot-Savart denklemiyle teorik olarak yatay düzlemdeki x-ekseni boyunca hesaplanan z-yönündeki manyetik alan şiddeti CST Studio Suit programı ile hesaplandı (Şekil 3).



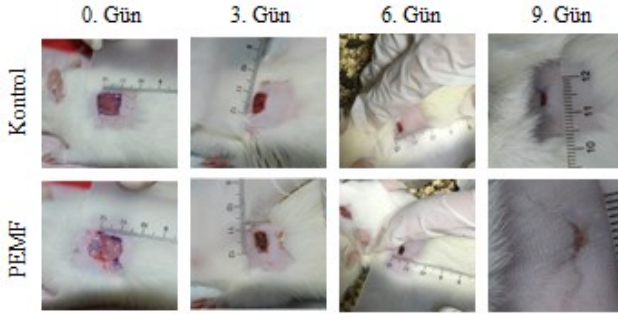
Şekil 3. (a) Sıçanlara Helmholtz bobin dizisi sistemi ile yapılan PEMF uygulaması, (b) CST Studio Suit programıyla Helmholtz bobin dizisi sisteminde meydana gelen manyetik alanın dağılımı. (c) Manyetik alanın renk skalasına göre A/m cinsinden büyüklüğü

Cihaz Tasarımı 1

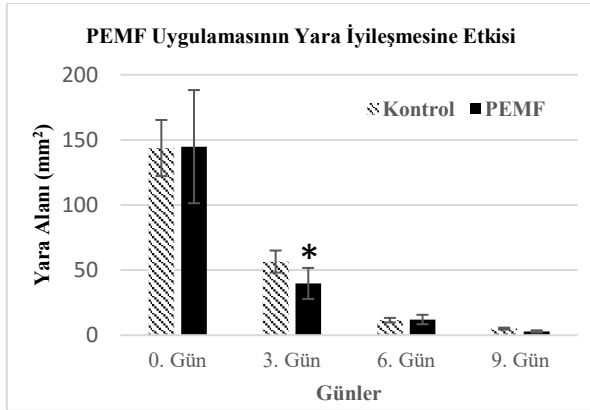
1. Gün / 27 Ekim 2016, Perşembe

III. SONUÇLAR

Deride 1 cm x 1 cm yapılan yara iyileşmesinde makroskopik olarak gözlemlenen yara alanının 3. gününde başlayan, 6. gününde anlamlılığını kaybeden PEMF etkisi altında hızlandığı görüldü (Resim 1). Bu alanların morfometri olarak değerlendirilmesi amacıyla kapanma yüzdesi 0. güne göre ImageJ yazılımı yardımıyla bulunmuş ve sonuç olarak 3. günde görülen anlamlı ($P<0.05$) hızlanma etkisinin 6. günde kaybolduğu ve 9. gün her iki yaranın da kapandığı bulundu (Şekil 5).



Şekil 1. Üç gün ara ile yaranın yapıldığı zaman diliminde olmak üzere çekilen fotoğraflar üzerinden yapılan morfometrik analizde PEMF etkisinin anlamlı bir şekilde yara iyileşmesini hızlandırdığı izlendi.



Şekil 1. Fotoğraflar üzerinden dijital ortamda yapılan morfometrik ölçümlerde PEMF etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konuldu.

IV. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi, diyabet veya ilaç kullanımına bağlı yan etki veya yaşlılık gibi sebeplerle bazen zor ve zahmetli bir durumdur. Böyle durumlarda destek tedavinin ihtiyaç olduğu bilinmekte ve son zamanların popüler konusu elektromanyetik alanlar bu anlamda ümit verici olmaktadır [12]. Bu çalışmada, PEMF uygulaması yapılan sıçan deri yarasında 3. günde başlayan ve 6. günde kaybolan hızlandırıcı bir etki saptandı.

Önceki çalışmalarda diyabet yara modelinde, PEMF uygulamasının zamana, şiddete ve sıklığına bağlı olmak üzere farklı şekillerde etkili ve hızlı bir iyileşme saptanmış ve çalışmaların ortak bir bulgusu olarak erken dönemde başlayan iyileşmedeki hızlilik daha sonra ortadan kalkmıştır

[13]. Makroskopik sonuçlar bu durumu tespit ederken, mikroskopik sonuçlar da iyileşme sürecini daha sonra devam ettiğine işaret etmiştir [14, 15]. Benzer bulgular sıçan ve köpek gibi farklı türlerde önce başlayan sonra kaybolan bir etki şeklinde bulunmuştur [16]. Ayrıca kortizon uygulaması yapılan sıçanlarda bu etkinin daha da azaldığı saptanmış her ne kadar fibroblast sayısında PEMF etkisiyle istatistiksel olarak bir artış bulunsa da kortizon varlığında bu etki fonksiyonel olmamıştır [17].

PEMF etkisinin inflamasyonlu ortamlarda ve özellikle başlangıcında etkili olduğu önceki çalışmalardan bilinmektedir. Bu nedenle PEMF uygulamasına bağlı ortamdaki interlökin, büyüme faktörü, adezyon molekülü ve tamir hücrelerinin davranışını değiştirdiği ve buna bağlı olarak hızlı bir iyileşme elde edildiği düşünülmektedir. Ortamdaki büyük kargaşa, oksidatif stres ve paralelinde gelişen apoptoz sakinleştiğinde PEMF'in bu etkisi ve fibroblast fonksiyonundaki artış azalmaktadır. PEMF sisteminin kullandığı mekanizmalar anlaşıldığında çok daha etkin bir tedavi sağlayacağı düşünülmektedir.

Düşük frekans EMA uygulamaları inflamasyon başlangıcındaki etkileri açısından değişik frekans, süre ve genlik kullanılarak fonksiyonel yönden incelenmeli ayrıca inflamasyon faktörleri açısından da hangi parametrelerin değiştiği ortaya konmalıdır. Bu çalışmalar tamamlandığında EMA uygulamalarının var olan tedaviye çok önemli katkılar sağlayacağı kesinlik kazandırmaktadır.

V. TEŞEKKÜR

Bu çalışma 11E490 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] S. Ghodbane, A. Lahbib, M. Sakly, and H. Abdelmelek, "Bioeffects of static magnetic fields: oxidative stress, genotoxic effects, and cancer studies," *BioMed research international*, vol. 2013, 2013.
- [2] M. L. Pall, "Electromagnetic fields act via activation of voltage-gated calcium channels to produce beneficial or adverse effects," *Journal of cellular and molecular medicine*, vol. 17, pp. 958-965, 2013.
- [3] A. Yadollahpour and M. Jalilifar, "Electromagnetic Fields in the Treatment of Wound: A Review of Current Techniques and Future Perspective," *J pure appl microbio*, vol. 8, pp. 2863-77, 2014.
- [4] A. Ongaro, A. Pellati, L. Bagheri, C. Fortini, S. Setti, and M. De Mattei, "Pulsed electromagnetic fields stimulate osteogenic differentiation in human bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stem cells," *Bioelectromagnetics*, vol. 35, pp. 426-436, 2014.



Cihaz Tasarımı 1

1. Gün / 27 Ekim 2016, Perşembe

- [5] M. J. Callaghan, E. I. Chang, N. Seiser, S. Aarabi, S. Ghali, E. R. Kinnucan, *et al.*, "Pulsed electromagnetic fields accelerate normal and diabetic wound healing by increasing endogenous FGF-2 release," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 121, pp. 130-141, 2008.
- [6] C. Bassett, "Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields (PEMFs)," *Crit Rev Biomed Eng*, vol. 17, pp. 451-529, 1989.
- [7] S. Ahmadian, S. R. Zarchi, and B. Bolouri, "Effects of extremely-low-frequency pulsed electromagnetic fields on collagen synthesis in rat skin," *Biotechnology and applied biochemistry*, vol. 43, pp. 71-75, 2006.
- [8] G. Yen-Patton, W. F. Patton, D. M. Beer, and B. S. Jacobson, "Endothelial cell response to pulsed electromagnetic fields: stimulation of growth rate and angiogenesis in vitro," *Journal of cellular physiology*, vol. 134, pp. 37-46, 1988.
- [9] J. Milgram, R. Shahar, T. Levin-Harrus, and P. Kass, "The effect of short, high intensity magnetic field pulses on the healing of skin wounds in rats," *Bioelectromagnetics*, vol. 25, pp. 271-277, 2004.
- [10] S. F. Swaim, R. L. Gillette, E. A. Sartin, S. H. Hinkle, and S. L. Coolman, "Effects of a hydrolyzed collagen dressing on the healing of open wounds in dogs," *American journal of veterinary research*, vol. 61, pp. 1574-1578, 2000.
- [11] M. Stiller, G. H. PAK, J. Shupack, S. Thaler, C. KENNY, and L. JONDREAU, "A portable pulsed electromagnetic field (PEMF) device to enhance healing of recalcitrant venous ulcers: a double-blind, placebo-controlled clinical trial," *British Journal of Dermatology*, vol. 127, pp. 147-154, 1992.
- [12] I. J. Sosa, O. Reyes, and D. P. Kuffler, "Elimination of a pressure ulcer with electrical stimulation-a case study," *Puerto Rico health sciences journal*, vol. 27, 2008.
- [13] I. Goudarzi, S. Hajizadeh, M. E. Salmani, and K. Abrari, "Pulsed electromagnetic fields accelerate wound healing in the skin of diabetic rats," *Bioelectromagnetics*, vol. 31, pp. 318-323, 2010.
- [14] A. Athanasiou, S. Karkambounas, A. Batistatou, E. Lykoudis, A. Katsaraki, T. Kartsioni, *et al.*, "The effect of pulsed electromagnetic fields on secondary skin wound healing: an experimental study," *Bioelectromagnetics*, vol. 28, pp. 362-368, 2007.
- [15] J. Milgram, R. Shahar, T. Levin-Harrus, and P. Kass, "The effect of short, high intensity magnetic field pulses on the healing of skin wounds in rats," *Bioelectromagnetics*, vol. 25, pp. 271-277, 2004.
- [16] O. Patiño, D. Grana, A. Bolgiani, G. Prezzavento, J. Miño, A. Merlo, *et al.*, "Pulsed electromagnetic fields in experimental cutaneous wound healing in rats," *Journal of Burn Care & Research*, vol. 17, pp. 528-531, 1996.
- [17] L. S. Glassman, M. H. McGrath, and C. A. L. Bassett, "Effect of external pulsing electromagnetic fields on the healing of soft tissue," *Annals of plastic surgery*, vol. 16, pp. 287-295, 1986.