



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**DOKTORA TEZİ**

**ELEKTRİKSEL UYARIM ile SİNİR HÜCRESİ BÜYÜMESİNİN İNCELENMESİ**

**Sarper KARA**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Mukden UĞUR**

**II. DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Aydın AKAN**

**Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Biyomedikal Mühendisliği Programı**

**Temmuz, 2022**

## TEZ KABUL VE ONAYI

**Sarper KARA** tarafından, **Prof. Dr. Mukden UĞUR** danışmanlığında hazırlanan " ELEKTRİKSEL UYARIM ile SİNİR HÜCRESİ BÜYÜMESİNİN İNCELENMESİ " başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **04/07/2022** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
<b>DANIŞMAN</b>	Prof. Dr.Mukden UĞUR	<input checked="" type="checkbox"/>
	Türk-Alman Üniversitesi Robotlar ve Sistemler Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Prof. Dr. Fırat KAÇAR	<input checked="" type="checkbox"/>
	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Elektronik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Prof. Dr. Osman Nuri UÇAN	<input checked="" type="checkbox"/>
	Altınbaş Üniversitesi Elektronik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Doç. Dr. Abdurrahim AKGÜNDOĞDU	<input checked="" type="checkbox"/>
	Medeniyet Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Doç. Dr. Pınar OBAKAN	<input checked="" type="checkbox"/>
	Medeniyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları 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 olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Sarper KARA  
(İmza)

Aileme ithaf ediyorum...

## **BÜTÇE DESTEKLERİ**

### **ELEKTRİKSEL UYARIM ile SİNİR HÜCRESİ BÜYÜMESİNİN İNCELENMESİ**

Bu tez çalışması için Türk Alman Üniversitesi'nden bütçe desteği alınmıştır.



## TEŞEKKÜR

Tüm süreçte katkılarını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Mukden UĞUR'a, Doç.Dr. Cengiz Polat UZUNOĞLU'na, Dr. Esra AYDEMİR'e ve Op. Dr. Evren İŐÇİ'ye, ayrıca deney süreçlerinde canla başla projemize destek olan Dr. Betül POLAT BUDAK ve Dr. Kemal BAYAT'a, simülasyonlar için destek olan Arş. Gör. Fatih ATALAR'a da teşekkürü borç bilirim. Sürekli yanımda olup bana destek olan eşim Burcu KARA'ya, anneme ve babama da teşekkür ederim.

Temmuz 2022

**Sarper KARA**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN .....	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ .....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ .....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE .....</b>	<b>3</b>
2.1. OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇ .....	3
2.2. OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇİNDE TEDAVİSEL YAKLAŞIMLAR .....	5
2.2.1. OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇ TEDAVİSİNDE HÜCRESEL YAKLAŞIMLAR.....	5
2.3. OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇTE ELEKTROMANYETİK ALAN UYGULAMALARI.....	5
2.4. ELEKTROMANYETİK ALAN MEKANİZMASI .....	7
2.5. ELEKTROMANYETİK ALANLAR .....	7
2.5.1 ELEKTRİK ALAN.....	8
2.5.2 MANYETİK ALAN .....	9
<b>3. YÖNTEM .....</b>	<b>11</b>
3.1. EMBRİYOLARIN ELDE EDİLMESİ VE HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI.....	11
3.2. TASARLANAN KUVVETLENDİRİCİ .....	16
3.3. TEST DÜZENEĞİ.....	22
3.4. ELEKTROMANYETİK ANALİZ .....	244
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>277</b>
4.1. MORFOLOJİK GÖZLEMLER.....	27
4.2. DRG HÜCRELERİNİN EMF UYGULANMASINDAN SONRA ÖLÇÜLMESİ.....	27

4.2.1. ÜD GRUBUNUN SHAM GRUBU İLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	28
4.2.2. KD GRUBUNUN SHAM GRUBU İLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	30
4.2.3. TD GRUBUNUN SHAM GRUBU İLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	32
4.3. ELEKTROMANYETİK ANALİZ BENZETİM SONUÇLARI .....	35
4.3.1. ÜD ALTINDA DRG HÜCRELERİ BENZETİM SONUÇLARI.....	41
4.3.2. KD ALTINDA DRG HÜCRELERİ BENZETİM SONUÇLARI.....	46
4.3.3. TD ALTINDA DRG HÜCRELERİ BENZETİM SONUÇLARI.....	51
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>57</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>58</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>60</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>67</b>
<b>İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI .....</b>	<b>68</b>
<b>ETİK KURUL İZİN YAZISI .....</b>	<b>69</b>
<b>KURUM İZİN YAZILARI.....</b>	<b>70</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>71</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

Şekil 2.1 : Elektrik Alan Çizgileri (a) Pozitif Yükün Elektrik Alan Çizgileri (b) Negatif Yükün Elektrik Alan Çizgileri (c) Elektrik Dipolü Elektrik Alan Çizgileri [1].....	9
Şekil 2.2: İletken Telden Bir Akım Geçtiğinde Manyetik Alanın Yönü [1].....	10
Şekil 3.1: Diseksiyon mikroskobu.....	12
Şekil 3.2: Yenidoğan fare.....	12
Şekil 3.3: İğne ile sabitlenmiş fare.....	13
Şekil 3.4: Kostanın açılması.....	13
Şekil 3.5: DRG'lerin toplanması.....	14
Şekil 3.6: Petriye aktarılan DRG hücreleri .....	14
Şekil 3.7: DRG'lerden izole edilen hücreler petriye ekilerek çoğaltılır.....	15
Şekil 3.8: a) PEMF uygulanan bakır levha alanlara ayrılmış durumda, b) bakır levha üzerine hücreler yerleştirilmiş.....	16
Şekil 3.9: İşaret Üretici.....	17
Şekil 3.10: Kuvvetlendirici Diyagramı.....	18
Şekil 3.11: Tek Kat Kuvvetlendirici Yapısı.....	18
Şekil 3.12: Kaskad Kuvvetlendirici Yapısı.....	19
Şekil 3.13: Besleme Transformatörü.....	20
Şekil 3.14: Doğrultucu Katı.....	20
Şekil 3.15: FR-4 Bakır Levha.....	21
Şekil 3.16: Pens Ampermetre.....	21
Şekil 3.17: Osiloskop.....	22
Şekil 3.18: Test Düzenegi.....	23
Şekil 3.19: Üçgen Dalga İşareti.....	23

<b>Şekil 3.20:</b> Kare Dalga İşareti.....	24
<b>Şekil 3.21:</b> Testere Dişi Dalga İşareti.....	24
<b>Şekil 3.22:</b> Bakır Levha Üzerinde Oluşan a) Elektrik Alan b) Manyetik Alan.....	25
<b>Şekil 4.1:</b> EMF etkisi ile uzama gösteren hücreler.....	27
<b>Şekil 4.2:</b> EMF uygulanmadan önce her yöne akson uzatan DRG hücresi.....	28
<b>Şekil 4.3 (a ve b):</b> EMF uyguladıktan sonra her yöne akson uzatan DRG hücreleri.....	29
<b>Şekil 4.4:</b> Sham grubu ile ÜD grubunun oransal karşılaştırılması.....	30
<b>Şekil 4.5 (a ve b):</b> EMF uyguladıktan sonra ağırlıklı olarak kuzey-güney yönüne akson uzatan DRG hücresi.....	31
<b>Şekil 4.6:</b> Sham grubu ile KD grubunun oransal karşılaştırılması.....	32
<b>Şekil 4.7.a :</b> EMF uyguladıktan sonra ağırlıklı olarak kuzey yönüne akson uzatan DRG hücresi.....	33
<b>Şekil 4.7.b :</b> EMF uyguladıktan sonra ağırlıklı olarak kuzey yönüne akson uzatan DRG hücresi.....	34
<b>Şekil 4.8:</b> Sham grubu ile TD grubunun oransal karşılaştırılması.....	35
<b>Şekil 4.9:</b> Üçgen Dalga Boş Bakır Levha Potansiyel Dağılımı.....	36
<b>Şekil 4.10:</b> Üçgen Dalga Boş Bakır Levha Elektrik Alan ve Potansiyel Dağılımı.....	37
<b>Şekil 4.11:</b> Kare Dalga Boş Bakır Levha Potansiyel Dağılımı.....	38
<b>Şekil 4.12:</b> Kare Dalga Boş Bakır Levha Elektrik Alan ve Potansiyel Dağılımı.....	38
<b>Şekil 4.13:</b> Testere Dişi Dalga Boş Bakır Levha Potansiyel Dağılımı.....	39
<b>Şekil 4.14:</b> Testere Dişi Dalga Boş Bakır Levha Elektrik Alan ve Potansiyel Dağılımı.....	40
<b>Şekil 4.15:</b> DRG Sınır Hücrelerinin Petri Kabına Yerleşimi.....	41
<b>Şekil 4.16:</b> Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan (a) ve Potansiyel Dağılımı (b).....	41
<b>Şekil 4.17:</b> Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) A4 Sırası, b) B3 Sırası.....	42

<b>Şekil 4.18:</b> Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) C2 Sırası, b) D2 Sırası.....	42
<b>Şekil 4.19:</b> Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) E3 Sırası, b) F1 Sırası.....	42
<b>Şekil 4.20:</b> Üçgen Dalga Altında A4 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	43
<b>Şekil 4.21:</b> Üçgen Dalga Altında B3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	44
<b>Şekil 4.22:</b> Üçgen Dalga Altında C2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	44
<b>Şekil 4.23:</b> Üçgen Dalga Altında D2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	45
<b>Şekil 4.24:</b> Üçgen Dalga Altında E3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	45
<b>Şekil 4.25:</b> Üçgen Dalga Altında F1 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	46
<b>Şekil 4.26:</b> Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan (a) ve Potansiyel Dağılımı (b).....	46
<b>Şekil 4.27:</b> Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) A4 Sırası, b) B3 Sırası.....	47
<b>Şekil 4.28:</b> Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) C2 Sırası, b) D2 Sırası.....	47
<b>Şekil 4.29:</b> Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) E3 Sırası, b) F1 Sırası.....	48
<b>Şekil 4.30:</b> Kare Dalga Altında A4 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	48
<b>Şekil 4.31:</b> Kare Dalga Altında B3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	49

<b>Şekil 4.32:</b> Kare Dalga Altında C2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	49
<b>Şekil 4.33:</b> Kare Dalga Altında D2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	50
<b>Şekil 4.34:</b> Kare Dalga Altında E3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	50
<b>Şekil 4.35:</b> Kare Dalga Altında F1 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	51
<b>Şekil 4.36:</b> Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan (a) ve Potansiyel Dağılımı (b).....	51
<b>Şekil 4.37:</b> Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) A4 Sırası, b) B3 Sırası.....	52
<b>Şekil 4.38:</b> Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) C2 Sırası, b) D2 Sırası.....	52
<b>Şekil 4.39:</b> Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) E3 Sırası, b) F1 Sırası.....	53
<b>Şekil 4.40:</b> Testere Dişi Dalga Altında A4 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	53
<b>Şekil 4.41:</b> Testere Dişi Dalga Altında B3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	54
<b>Şekil 4.42:</b> Testere Dişi Dalga Altında C2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri. ....	54
<b>Şekil 4.43:</b> Testere Dişi Dalga Altında D2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	55
<b>Şekil 4.44:</b> Testere Dişi Dalga Altında E3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	55
<b>Şekil 4.45:</b> Testere Dişi Dalga Altında F1 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.....	56

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
<b>A</b>	: Manyetik vektör potansiyeli
<b>B</b>	: Manyetik akı yoğunluğu
<b>D</b>	: Elektriksel akı yoğunluğu
<b>E</b>	: Elektrik alan
<b>F</b>	: Elektriksel kuvvet
<b>FR-4</b>	: Cam takviyeli epoksi laminat
<b>H</b>	: Manyetik alan
<b>I</b>	: Akım
<b>J</b>	: Akım yoğunluğu
<b>g</b>	: Yük
<b>k</b>	: Coulomb sabiti
<b>V</b>	: Elektrostatik potansiyel
$\sigma$	: İletkenlik
$\epsilon$	: Dielektrik sabiti
$\mu$	: Manyetik geçirgenlik sabiti
$\nabla$	: Gradient operatörü

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>AA</b>	: Alternatif akım
<b>BNC</b>	: Bayonet Neil Concelman
<b>DRG</b>	: Dorsal Root Ganglion
<b>EMF</b>	: Elektromanyetik alan
<b>MOSFET</b>	: Metal oksit yarı iletkenli alan etkili transistör
<b>PEMF</b>	: Darbeli elektromanyetik alan
<b>PMF</b>	: Darbeli manyetik alanlar
<b>RMS</b>	: Etkin değer
<b>SC</b>	: Omurilik
<b>SCI</b>	: Omurilik zedelenmesi/yaralanması

**TD** : Testere dişi dalga  
**ÜD** : Simetrik üçgen dalga



## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

#### ELEKTRİKSEL UYARIM İLE SİNİR HÜCRESİ BÜYÜMESİNİN İNCELENMESİ

Sarper KARA

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Biyomedikal Mühendisliği Programı

Danışman : Prof. Dr. Mukden UĞUR

II. Danışman : Prof. Dr. Aydın AKAN

Elektromanyetik alanlar insanlarda terapi amaçlı uzun zamandır kullanılmakta olup etkinliği bilinmektedir. Bu günlerde doku rejenerasyonu için kullanımı önerilmektedir. Sinir rejenerasyonu için elektrik kullanılması dahili olarak veya cilt dışı olarak uygulanmaktadır. Sinir hücrelerinde akson uzamasını ve sinir rejenerasyonunu uyarmak için doğru akım (DC) elektrik alanlarının kullanımı çeşitli çalışmalarda uygulanmıştır. Çalışmamızda DRG sinir hücrelerinin kontrollü ve yönlü büyümesi elektromanyetik alan kullanılmıştır. Önceki başarılı çalışmalarda kullanılan sistemlere ve sinyal özelliklerine benzer tipte sinyal üretebilecek kuvvetlendirici tasarlanmıştır. Sinir hücrelerinin uzamasının tek bir yöne olması planlandığı için asimetrik dalga formu şeklinde üretilmiş sinyal hücrelere uygulanmıştır. DRG hücrelerinin seçilme sebebi ise bu tip sinir hücrelerinin rejenerasyon yeteneğinin diğer sinir hücrelerine göre daha fazla olmasıdır. Birçok çalışmada DRG sinir hücreleri tercih edilmiştir.

Temmuz 2022 , 87 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Sinir rejenerasyonu, PEMF, DRG

## **ABSTRACT**

**[Ph.D. THESIS]**

**[INVESTIGATION OF NEURON GROWTH WITH ELECTRICAL STIMULATION |**

**[SARPER KARA]**

**İstanbul University-Cerrahpaşa**

**Institute of Graduate Studies**

**Department of Biomedical Engineering**

**Biomedical Engineering Programme**

**[Supervisor : Prof. Dr. Mukden UĞUR**

**Co-Supervisor: Prof. Dr. Aydın AKAN |**

Electromagnetic fields have been used for therapy in humans for a long time and their effectiveness is known. These days, its use is recommended for tissue regeneration. The use of electricity for nerve regeneration is applied internally or extracutaneously. The use of direct current (DC) electric fields to stimulate axon elongation and nerve regeneration in nerve cells has been applied in various studies. In our study, electromagnetic field was used for controlled and directional growth of DRG nerve cells. An amplifier is designed that can produce a signal type similar to the systems and signal properties used in previous successful studies. Since the elongation of the nerve cells is planned to be in one direction, the signal produced in the form of an asymmetric waveform was applied to the cells. The reason for choosing DRG cells is that this type of nerve cells have a higher regeneration ability than other nerve cells. DRG nerve cells have been preferred in many studies.

July 2022, [87] pages.

**Keywords:** [Nerve regeneration, PEMF, DRG |



## 1. GİRİŞ

Elektromanyetik alan uygulamaları uzun zamandır insanlarda terapi için kullanılmakta ve son birkaç yıldır doku rejenerasyonu için önerilmektedir. Bu konuyla ilgili ilk çalışmalar Basset tarafından ortaya konulmuştur [2]. Sinir rejenerasyonu için elektrik kullanımı elektrotlar aracılığıyla ya dahili olarak (invaziv olarak) veya harici olarak (invaziv olmayan şekilde) elektrik veya elektromanyetik alanlar şeklinde uygulanır. Uygulamalarda elektrik akımı ve ortaya çıkan elektrik alan doğrudan üretilerek dokulara verilir. Bu şekilde yürütülen çalışmalar McCaig ve Borgens tarafından ortaya konulmuştur [3], [4].

Sinir hücrelerinde akson uzamasını ve sinir rejenerasyonunu uyarmak için doğru akım (DC) elektrik alanları çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır [5]–[9]. Elektrotlar elektrik alanını sağlamak için kullanıldığından, bu yöntemler invazivdir. İnvaziv olmayan darbeli manyetik alanlar (PMF-Pulsed Magnetic Fields), çeşitli hücre tiplerinin hem in vitro hem de in vivo büyümesini sağlamak için başarıyla uygulanmıştır [10]–[14].

Hücre kültürlerini düşük frekansa maruz bırakmak için kullanılan çoğu bobin sistemi PMF için düzenlenmiş dairesel bobinler (Helmholtz bobinleri çifti) olarak kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda, civciv embriyo dorsal kök ganglionlarından (DRG-Dorsal Root Ganglia) sinir hücresi büyümesi üzerindeki PMF etkilerini incelemek için dairesel Helmholtz bobinleri kullanılmıştır. PMF'ye maruz bırakılan kuş DRG'sinde sinir hücresi uzunluğu artışı ve yönlenmesi gözlemlenmiştir [15], [16].

Yatay olarak yerleştirilmiş, bobinler, bobinler arasındaki düzleme dik hücre kültürü ortamında nispeten homojen bir manyetik akı yoğunluğu (B) üretir. İndüklenen elektrik alan (E) ve akım yoğunluğu (J) ortamdaki dairesel yolları takip eder. Bobinlerdeki akım da (I) aynı zamanda dairesel yol izler. Battocletti ve arkadaşları PMF ile biyolojik dokunun uyarılması için bir kutu şeklinde bobin sistemi önermişlerdir [17].

Bu tez çalışmasında DRG sinir hücreleri bakır levha üzerine yerleştirilerek uygulanan değişik dalga formlarında hücre uzama ve yönelim durumlarına bakılmıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak bir sargı (Helmholtz bobinleri, kutu yapısı vb.) oluşturmak yerine düz bir levha üzerinde elektrik alan (eşlik eden manyetik alan) etkilerine odaklanılmıştır. PMF

tipinde 10kHz üçgen, kare ve testere dişi dalga formları kuvvetlendirilerek üzerinde hücrelerin olduğu bakır levhaya uygulanmıştır. Uygulama sırasında hücrelerin ortam şartlarını sağlamak için bakır levhanın inkübatör içinde olması gerekliliği vardır ve test düzeneği bu yapıya uygun olarak hazırlanmıştır.

Kuvvetlendirici katı, bakır levhaya uygulanan güç değerinin artırılmasını sağlayacak (sağladığı yüksek akımları devamlı verebilecek yapıda) ve uzun süreler çalışabilecek şekilde tasarlanmıştır. DRG sinir hücrelerinin bir gün alana maruz bırakıldığı testler yapılmıştır. Sistem kuvvetlendiriciyi besleyebilecek güçte bir transformatör, kuvvetlendiricinin beslemesini sağlayan doğrultucu, kuvvetlendirici ve gerekli soğutucu elemanlardan oluşmaktadır. Gerekli dalga formları işaret üreticiden sağlanarak kuvvetlendirici ile kuvvetlendirilip bakır levhaya verilmiştir.

Yapılan çalışmanın benzetim sonuçlarını ölçülen değerlerle karşılaştırabilmek için Comsol programında elektromanyetik analizler yapılmıştır. Bu aşamada boş bakır levha için üç ayrı dalga formunda (üçgen dalga, kare dalga ve testere dişi dalga) gerçekte uygulanan işaretler benzetim ortamında uygulanarak levha üzerindeki alan ve potansiyel değişimleri incelenmiştir. Daha sonra hücrelerin bakır levhaya yerleşimi sonucu hücreler üzerindeki alan ve potansiyel değerleri incelenmiştir. Hücrelerdeki uzamaların boyutu ve yönleriyle ilgili olarak benzetim sonuçları ile karşılaştırmalar yapılmıştır.

Bizim çalışmamızda levhaya uyguladığımız elektromanyetik alan asimetrik testere dişi şeklindeki üçgen dalga ile modüle edilmiştir. Çalışmamızın önceki çalışmalardan farklı olan tarafı ve neticede de önemli değişiklikler beklediğimiz diğer iki sinyal tipinden (üçgen dalga ve kare dalga) ziyade bu sinyal tipidir. Testere dişi sinyalinin yapısı gereği, sinyalin yükselme bölgesinde süresi uzun, indüklenme düşüktür. Sinyalimizin düştüğü bölgede ise süre kısa ve indüklenme yüksektir. Hipotezimizde uygulanacak olan her iki durumun sinir hücresinin uzamasını nasıl etkileyeceği değerlendirilecektir. Yani incelenmek istenen, uzun süre ama düşük indüklenme değeri mi yoksa kısa süre ve yüksek indüklenme değeri mi sinir hücrelerinin yönelmesinde etkili olduğudur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile sinir hasarlarının iyileşmesinde PMF kullanılarak tek bir yönde iyileşme sağlanması ve normal koşullarda iyileşmesi mümkün olmayan sinir hasarlarının tedavi edilmesi için çalışmamız önemli bir referans olacaktır.

## 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

### 2.1. OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇ

Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık omurilik yaralanması (SCI) insidansı, her yıl yaklaşık 12.500 yeni vaka olup, mevcut tahmin milyonda 853'tür[18]. Birincil travmatik SCI, omurgaya mekanik darbeden kaynaklanır, bu da yer değiştirmiş kemik veya intervertebral diskten spinal kanalın akut sıkışmasına veya kaza anında omuriliğin (SC) akut bükülmesine yol açar [19]. İlk yaralanmadan sonra, SC'deki hasar, travmayı takip eden saatlerde devam eder ve ikincil SCI'ye yol açar. Bu ikincil hasar, artan serbest radikallerin varlığından, hücre zarı işlev bozukluğundan, hücre ölümü ve nöroinflamasyondan kaynaklanır, sadece hasarlı alan içinde değil, aynı zamanda bozulmamış komşu SC'den de nörodejenerasyona yol açar [20]–[25]. Yaralanmış omurilik nadiren düzgün bir şekilde iyileşir. Pro-inflamatuvar makrofajlar, uzun süreli bir inflamatuvar fazı güçlendirir ve yeniden yapılanma uygun şekilde başlatılmaz, bu nedenle makrofaj aktivasyonunun muhtemel bir katkı sağladığı görülür [26]. SCI'den sonraki ilk 24 saat içinde mikroglia fagositoz hasarlı materyal[27]. 2-3 gün sonra dolaşımdan periferik makrofajlar yaralı omuriliğe aktığında, hemen hasarlı aksonları ve diğer döküntüleri fagosite etmeye başlarlar. 7. günde, maksimum sayılara ulaştıklarında, hasarlı dokuyu fagosite etmede mikroglia'nın çok ötesine geçerler [27]. Hem makrofajların hem de mikroglianın belirsiz varlığı, SCI'nin ikincil etkilerine katkıda bulunabilir, bu sayede nöroinflamasyon skarlaşmaya [28] ve sinir hasarına [29] yol açar.

Omurilik keskin bir delici kuvvetle yırtıldığında veya yumuşatıldığında, künt bir kuvvetle (en yaygın olarak ezildiğinde veya sıkıştırıldığında) veya bir vasküler hasar ile enfarktüs oluştuğunda, omurilikte normalde “birincil yaralanma” olarak adlandırılan nörolojik bir hasar başlar[30]

Yaralı insan omuriliğinin görüntülenmesi ve histolojisine dayanarak, travmatik SCI, Bunge ve meslektaşları tarafından “boşluk oluşumu ile kontüzyon (çürüme), büyük sıkıştırma veya yırtılma” olarak sınıflandırılmıştır. [31]

Mekanik yaralanma, dakikalar ve haftalar içinde meydana gelen ve daha fazla nörolojik hasara yol açan “ikincil yaralanma” olarak tanımlanan bir dizi biyolojik olaya yol açar. Son olarak, yaralanmadan günler veya yıllar sonra ortaya çıkabilen ve beyin bölgeleri de dahil

olmak üzere hem ortograd hem de retrograd yönlerde nörolojik bozukluklara yol açan kronik bir fazın başlangıcı vardır. [32]

İkincil ve kronik fazı oluşturan biyokimyasal ve hücresele olayları anlamak, lezyon yayılmasını en aza indirecek ve rejenerasyonu iyileştirecek umut verici tedavilere yol açabilecek önemli bilgiler sağlayabileceğinden son derece önemlidir. [33]

Bu ikincil olaylar aşağıdakiler gibidir:

Vasküler değişikliklere kanama, vazospazm, tromboz, otheregölasyon kaybı, kan beyin bariyerinin yıkılması ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu dahildir. Bu ödem, nekroz ve iskemiye yol açar. [34]–[36]

Serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonu - omurilik nöronlarında oksidatif ölüme neden olur [37] omurilik kan akışı tekrar ödem ve inflamatuvar yanıtı yol açar [38], [39]. Serbest radikaller, hücre zarının çoklu doymamış yağ asidi ile reaksiyona girerek, hücresele ve hücre altı organel zarlarının normal fosfolipid mimarisinin peroksidasyonuna ve bozulmasına yol açar.

Apoptoz-travmatik yaralanmalar da dahil olmak üzere çeşitli gelişimsel ve hastalık durumlarında görülen programlanmış hücre ölümünün bir şeklidir. SCI'den sonra apoptozun varlığını gösteren güçlü morfolojik ve biyokimyasal kanıtlar vardır [40]

İnflamatuvar yanıt – travmayı takiben yerleşik mikroglia aktive olurken, hızla infiltre olan lökositler artan miktarda sitokin ve reaktif oksijen türleri (ROS) salmaya başlar [41]. Bu, daha yüksek lökosit ekstravazasyonuna ve daha fazla doku hasarına izin verecektir[42].

Son olarak, kronik faz, beyaz cevher demiyelinizasyonu, gri cevher çözünmesi, bağ dokusu birikimi ve glial skar oluşumuna yol açan reaktif gliosis gibi olayları içerir. Glial yara izi, aksonların içinden büyümesini engelleyen fiziksel bir bariyer gibi davranır. Ağırlıklı olarak reaktif astrositler, mikroglia/makrofajlar ve hücre dışı matris molekülleri, özellikle kondroitin sülfat proteoglikanlar tarafından oluşturulur [43]–[45]

## **2.2 OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇİNDE TEDAVİSEL YAKLAŞIMLAR**

Merkezi sinir sistemi oluşabilecek hasar durumlarına iyileşme yönünde tepki verebilmektedir. Öğrenme süreci, beceri edinme ve özellikle bir yaralanmaya tepki, nöronal yeniden organizasyona, sinaptik yeniden düzenlemelere, nöronal aktivasyon modelinde değişikliklere ve sağlam veya lezyonlu akson kollateral filizlenmesine yol açar.[33]

### **2.2.1. Omurilik Hasarına Bağlı Felç Tedavisinde Hücresel Yaklaşımlar**

Hücre terapötikleri, omurilik yaralanmasını (SCI) tedavi etmek için en umut verici yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır. Hücre terapötiklerinin mekanizması, yaygın olarak, nakledilen hücreler ve konakçı hücreler arasındaki, yerel mikro ortamı değiştiren ve dolayısıyla SCI sonrası histolojik veya fonksiyonel sonuçları etkileyen doğrudan etkileşim olarak tanımlanır. Şimdiye kadar, farklı araştırma grupları tarafından geliştirilen birçok deneysel onarım stratejisi, kaçınılmaz merkezi sinir sistemi (CNS) ortamını iyileştirerek çeşitli hücre nakilleri için aksonal büyümeyi teşvik etmeye odaklanmıştır. Özetle, farklı SCI modellerinin farklı deneylerde farklı avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Kontüzyon ve kompresyon modelleri, klinik uygulamada SCI'li hastaların patofizyolojisi ile yakından ilişkilidir, oysa hemiseksiyon ve transeksiyon, spinal aksonal rejenerasyon çalışması için daha değerlidir. Bu nedenle, hayvan modelini daha değerli kılmak için, omurilik transeksiyonunun primat modeli en iyi araştırma modellerinden birisidir.

## **2.3. OMURİLİK HASARINA BAĞLI FELÇTE ELEKTROMANYETİK ALAN UYGULAMALARI**

Elektrik alanlar zamana bağlı olarak değişen manyetik alanlar vasıtası ile indüklenebilirler [46], [47]. Elektromanyetik alanın hücre zarında enzim veya iyon akışını tetiklediği ve nöronun gelişiminin bu sayede olduğu bilinmektedir [48]. Uygun kültür koşullarında tutulan ve elektromanyetik alan uygulanan Dorsal Kök Gangliyonu (DRG) hücrelerinin, elektromanyetik alan uygulanmayan hücrelere göre birkaç kat daha fazla büyüdüğü bilinmektedir [49]. DRG hücre organları duyuşal sinir hücrelerini içerir. Bu hücreler

tek kutuplu, çevre dokular, deri, kas ve iç organların merkezi sinir sistemi ile “spinal dorsal boynuz” üzerinden bağlandığı iki aksonlu nöron türüdür. Duyusal sinir hücreleri dokunma, ağrı, termal gibi duyumlar da dahil olmak üzere somatik duyu iletim sistemini oluşturur. Bu nedenle, DRG hücre kültürü yaygın olarak duyu sinir hücreleri mekanizmaları, duyu sinir hücreleri ve sinirsel gelişim fizyolojik fonksiyonları incelemek için kullanılır. Nöronal hücre kültürü elektrofizyoloji, sinyal iletimi, nörotransmitter ya da kalsiyum görüntüleme ile ilgili çalışmalarda uygulanabilir. Toplamda 808 DRG hücresi kullanılan bir çalışmada hücreler tepe değeri 4 mT olan elektromanyetik alana tabi tutulmuşlardır. Bahsedilen elektromanyetik alan karşılıklı yerleştirilmiş Helmholtz tipi bobinler vasıtası ile hücrelere uygulanmıştır. DRG büyüme yönlerini incelenmek için hücreler petri kaplarına ekilmiştir. Ekilen kaplar dört bölgeye ayrılıp bu bölgeler numaralandırılmıştır. DRG büyümesi kontrol gruplarında tüm bölgelerde birbirine çok yakın gözlemlenirken, darbeli manyetik alanın (Pulsed Magnetic Field-PMF) uygulandığında, manyetik alan çizgileri ekseninde DRG’lerin her iki yönde daha fazla geliştiği gözlemlenmiştir [50].

Çeşitli çalışmalarda, yaralanmadan sonra omurilik dokusunda plastisitenin gerçekleştiği doğrulanabilmiştir. Bu çalışma ilk olarak tam omurilik transeksiyonlu felçli kedilerin bir koşu bandında yürümek için eğitilebileceğinin gözlemlenmesiyle önerildi[51]

Nöronal plastisitenin arkasındaki spesifik biyolojik mekanizmalar hala tam olarak bilinmemektedir. SCI'den kaynaklanan ikincil gelişimin bileşenleri, gözlemlenen plastisitede önemli bir rol oynayabilir. Hasarlı kan beyin bariyeri ve SCI sonrası bağışıklık tepkisi, sinir dokusunu omuriliğin hücresel seviyesinde değişikliklere neden olan yüksek konsantrasyonda sitokinlere ve büyüme faktörlerine maruz bırakır [52].

Omurilik hasarından dolayı oluşan felç için henüz bir tedavi bulunamamıştır [53]. Bugüne kadar, ikincil SCI gelişimini önleyen ve omuriliği iyileştirmeyi ve nörolojik işlevi eski haline getirmeyi amaçlayan rejeneratif süreçleri indükleyen Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı bir farmakolojik ajan yoktur [54], [55]. Epidural olarak veya doğrudan lezyonlu omuriliğe uygulanan elektrik alanların (EF'ler) uygulandığı tedavilerin faydalı etkileri belgelenmiştir [56]. Bununla birlikte, bu tekniğin bir dezavantajı, cerrahiye ve implante edilmiş bir elektrota ihtiyaç duymasındır, bu da yan etki oluşma riskine neden olur. Omurilik yapısında mevcut olan elektrik devrelerine benzer yapıyı elektriksiz olarak etkinleştirmek için alternatif bir yöntem, bozulmamış omurlar üzerinde invaziv olmayan bir elektromanyetik alan (EMF) uygulamasıdır. Darbeli EMF, elektrik ve manyetik alan oluşumunu sağlayarak ve sağlam dokuları aşarak

alttaki yapıların derinliklerine iletilebilir. Bu özelliği sayesinde tam motor ve duyu SCI'li hastalarla yapılan çalışmalarda kullanılmıştır [57]. Yaralanmış insanlarda [58] ve beyinleri bozulmuş kedilerde [59], göğüs seviyesindeki EMF'nin bacaklarda lokomotor benzeri hareketleri indüklediği gözlemlenmiştir. SCI mevcut olan kemirgenlerde [60] ve kedilerde [61], omuriliğe tekrarlanarak uygulanan EMF faydalı fonksiyonel sonuçlar sağlamıştır. Özellikle, darbeli elektromanyetik alanın (Pulsed Electro Magnetic Field, PEMF) sinir büyümesini ve rejenerasyonunu ve ayrıca hem in vitro hem de in vivo olarak periferik sinirlerin fonksiyonel iyileşmesini uyardığı gösterilmiştir [62]–[67]. Bununla birlikte, çok az araştırma EMF'nin merkezi sinir sistemi (CNS) üzerindeki etkilerini incelemiştir. PEMF'nin in vitro olarak spinal nöronlar ve dorsal kök ganglionlarında nörit büyümesini arttırdığı rapor edilmiştir [68], [69]. Sinir dokusunun yanı sıra tüm yumuşak dokuların büyümesini ve yenilenmesini desteklemek için in vivo olarak kullanılan PEMF sinyallerinin frekansı 100 Hz (hertz) civarları ve oluşturdukları akı yoğunluğu 5 mT (mili tesla) civarları olduğu görülmüştür. Ezilme yaralanmasına maruz kalan sinirler, transeksiyon yaralanmasına maruz kalan sinirlere göre daha hızlı yenilenir ve uygun hedeflere daha iyi ulaşır[70].

#### **2.4. ELEKTROMANYETİK ALAN MEKANİZMASI**

PMF'nin sinir hücresi gelişimine olan etkilerinin anlatıldığı diğer bir çalışmada bobinler yerine özel bir kutu tasarlanmış ve kullanılmıştır. Bu düzenek ile yapılan deneyde uzama etkisinin daha yönlendirilebilir olduğu görülmüş, manyetik alanın kutunun neredeyse tüm yüzeylerinde homojen kalması sağlanmıştır. Böylece sinir hücresi büyümesinin değerlendirildiği bir çalışmada büyümenin elektrik alana paralel (+) ve (-) yönlerde olduğu gösterilmiştir [71], [72]. Yapılan bir diğer çalışmada sinir hücrelerine birbirinden farklı özelliklerde sinyaller ile üretilmiş elektromanyetik alanlar uygulanmıştır. Bunlar arasında PMF'in etkisi sadece uzama ile sınırlı kalmamış aynı zamanda nörotransmitter salınımını da tetiklemiştir [73]. Bahsedilen PMF'leri üretmek için kullanılan sinyallerin şekli kare dalga biçiminde yani simetrik atımlar şeklindedir [71]–[74].

#### **2.5. ELEKTROMANYETİK ALANLAR**

Elektromanyetik alan, elektrik alan ve manyetik alanın kombinasyonudur. Elektromanyetik dalgalar birbirine dik elektrik alan ve manyetik alanın belli yönde hareketi ile meydana gelir. Maxwell denklemlerinden olan Faraday Yasası ve Ampere Yasası elektrik alan

ve manyetik alanın ilişkisini ortaya koyar [75]. Değişken manyetik akıların elektrik alan ve değişken elektriksel akıların manyetik alan oluşturduğu ortaya konulmuştur. Faraday Yasası Denklem 2.1’de ve Ampere Yasası Denklem 2.2’de verilmiştir.

$$\oint E dl = - \frac{d\phi_B}{dt} \quad (2.1)$$

$$\oint B dl = \mu_0 I + \mu_0 \epsilon_0 \frac{d\phi_E}{dt} \quad (2.2)$$

### 2.5.1 Elektrik Alan

Durgun yüklü parçacıklar, yük durumlarına göre birbirlerine elektriksel itme veya çekme kuvveti uygularlar. Bu parçacıkların arasındaki uzaklık  $d$  ve yük değerleri  $q_1, q_2$  olması durumunda iki parçacık arasındaki hesaplanan elektriksel kuvvet Coulomb kanunu verilebilir ve Denklem 2.3’de bu durum ifade edilmiştir [1], [76].

$$F = k \frac{|q_1||q_2|}{d^2} \quad (2.3)$$

Denklemden  $k$ , Coulomb sabitidir. SI (Système international d'unités) birim sisteminde Coulomb sabitinin aşağıdaki değeri alır.

$$k = 8,9875 \times 10^9 \text{ N.m}^2/\text{C}^2 \quad (2.4)$$

$$k = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \quad (2.5)$$

Denklemlerdeki  $\epsilon_0$  boşluğun dielektrik sabiti olup, değeri  $8,8542 \times 10^{-12} \text{ C}^2/\text{N.m}^2$ ’dir.

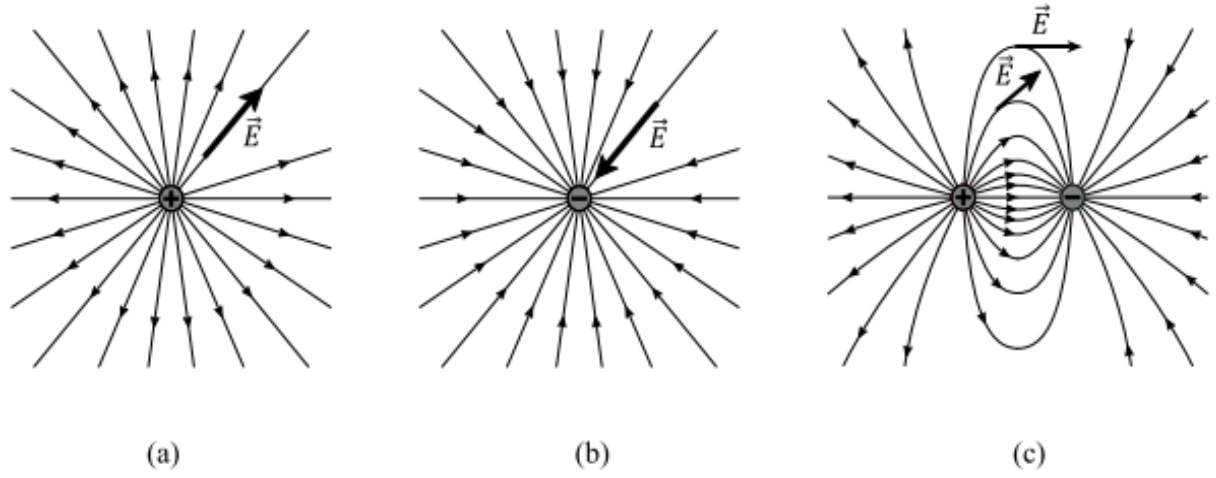
Bir parçacığın belirli bir uzaklıkta meydana getirdiği elektrik alanın büyüklüğü o noktadaki  $q$  birim yüküne ne kadar kuvvet uygulanacağını göstergesidir [76].

$$E = \frac{F}{q} \quad (2.6)$$

Elektrik alan, vektörel bir büyüklük (yönlü) olup, Şekil 2.1’de oluşturduğu alan çizgileri verilmiştir. Elektrik alan vektörü elektrik alan çizgilerine her noktada teğettir ve alan çizgileri hiçbir noktada birbirlerini kesmezler. Elektrik alan çizgileri artı yükten çıkıp bir eksi yükte sonlanırlar. Elektrik alan çizgilerinin sayısı yük miktarıyla doğru orantılıdır [1], [76]. Elektriksel akı yoğunluğu Elektrik alan ile dielektrik sabiti üzerinden ilişkilidir.

$$D = \epsilon E \quad (2.7)$$





**Şekil 2.1 :** Elektrik Alan Çizgileri (a) Pozitif Yükün Elektrik Alan Çizgileri (b) Negatif Yükün Elektrik Alan Çizgileri (c) Elektrik Dipolü Elektrik Alan Çizgileri [1].

### 2.5.2 Manyetik Alan

Manyetik alan hareketli yüklerin varlığında oluşur ve elektrik alan ve manyetik alan birbirini tetikler. Herhangi bir noktadaki  $\vec{B}$  manyetik akı yoğunluğu (dolayısıyla manyetik alanı),  $\vec{V}$  hızıyla hareket eden yüklü bir parçacığa bir manyetik kuvvet uygular [77].

$$\vec{F}_B = q\vec{V} \times \vec{B} \quad (2.7)$$

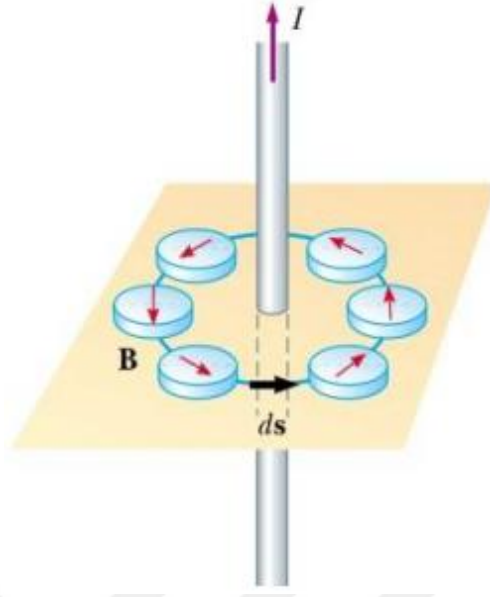
Manyetik akı yoğunluğunun SI birim sisteminde birimi Tesla (T) veya  $\text{wb/m}^2$ 'dir.

$$B = \mu H \quad (2.8)$$

Biot-Savart yasasına göre I akımını taşıyan L uzunluğunda bir iletken tel düşünüldüğünde telden d kadar uzakta akımın telin etrafında oluşturduğu manyetik alanın büyüklüğünü Denklem (2.9)'da verilmiştir [1].

$$B = \frac{\mu_0 I}{4\pi d} \frac{L}{\sqrt{(\frac{L}{2})^2 + d^2}} \quad (2.9)$$

Elektrik Alan nokta yükten çıkan doğrular boyunca olmasına karşın akım elemanının oluşturduğu manyetik alanın yönü ise vektörel çarpım gereği elektrik alana diktir. Etrafına pusula iğnesi yerleştirilen iletken telin üzerinden bir akım geçtiğinde manyetik alanın yönü Şekil 2.2'de verilmiştir. Görüldüğü üzere; dairesel bir manyetik alan oluşmaktadır.



**Şekil 2.2:** İletken Telden Bir Akım Geçtiğinde Manyetik Alanın Yönü [1].

Kapalı dairesel bir yol boyunca değeri her yerde aynı olan manyetik alan hesabı için Ampere Yasası kullanılabilir.

### 3. YÖNTEM

#### 3.1. EMBRİYOLARIN ELDE EDİLMESİ VE HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

Hücrelerin içinde bekletilecek olan petrilerin kaplanması ilk aşamadır. Petriler 35 mm çapında olup, 750 µl %10'luk poly-L-lysine, (75µl pll+675 µl sterile distile su) ile kaplanır. İki saat oda sıcaklığında kabin içinde bekletilir. İki saatin sonunda 3 kez steril distile su ile yıkanır. Kurumaya bırakılır. Polilizinler yüzeylerin hidrofilik hale getirilmesinde kullanılır. Periferik nöronların ekstraselüler matrisinde bulunan bir protein olan lamininin kaplamasında ise; 500µl %0.1 'lik laminin (5µl laminin + 495 steril distile su) 35mm'lik steril petrinin ortasına yayılır. Bir gece 37 C'de bekletilir. Hücreler ekilmeden önce 3 sefer steril distile suyla yıkanır ve kurumaya bırakılır.

Kültür yapılmadan önce vasatların yapılması gereklidir. Diseksiyon vasatının yapılma şekli şöyledir; yaklaşık 15ml RPMI'a %1 glutamaks ve %1 antibiyotik eklenir. Diseksiyona kadar +4°C'de tutulur. Diseksiyon soğuk ortamda yapılırsa dokuların bozulma süreci yavaşlayacaktır. Kültür vasatı için ise; yaklaşık 10 ml NBA'ya, %1 glutamaks, %1 antibiyotik,%2 B27 eklenir. Etüvde, kapağı yarım açık şekilde muhafaza edilir. Vasatların taze hazırlanması gereklidir. Glutamax ilavesinden sonra 3 gün içinde kullanılmalıdır. Hücrelerin ekileceği petri bölgeleri matrigel damlatılarak kaplanır. Bu madde hücrelerin tutunma oranını artıracaktır.

En az 15 Dorsal Root Ganglia (Dorsal Kök Gangliası, DRG) hızla çıkarılır. Hücrelerin çıkartılması aşamasında şekil 3.1'deki AmScope marka SM-4NTP diseksiyon mikroskobu kullanılmıştır.

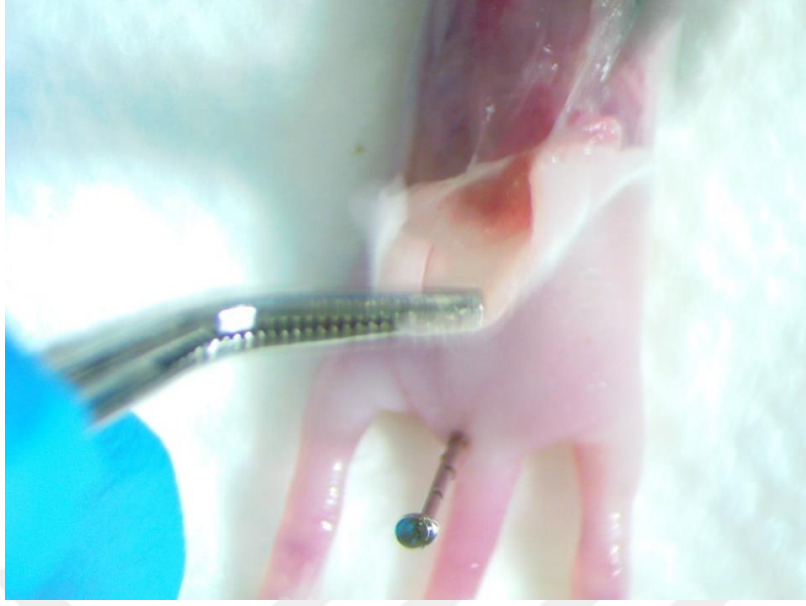


Şekil 3.1. Diseksiyon mikroskobu.



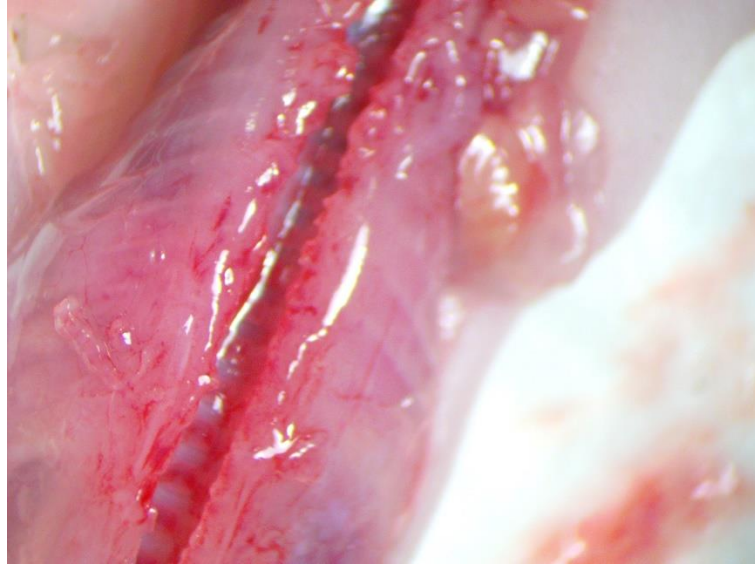
Şekil 3.2: Yenidoğan fare.

Şekil 3.2’de görülen yenidoğan balb-c cinsi farelerin kafaları makasla hassas bir şekilde kesilmek suretiyle ötenazi edilir. Ötenazi edilen fare DRG hücreleri çıkartılmak için şekil 3.3’de gösterildiği gibi iğne ile sabitlenir.



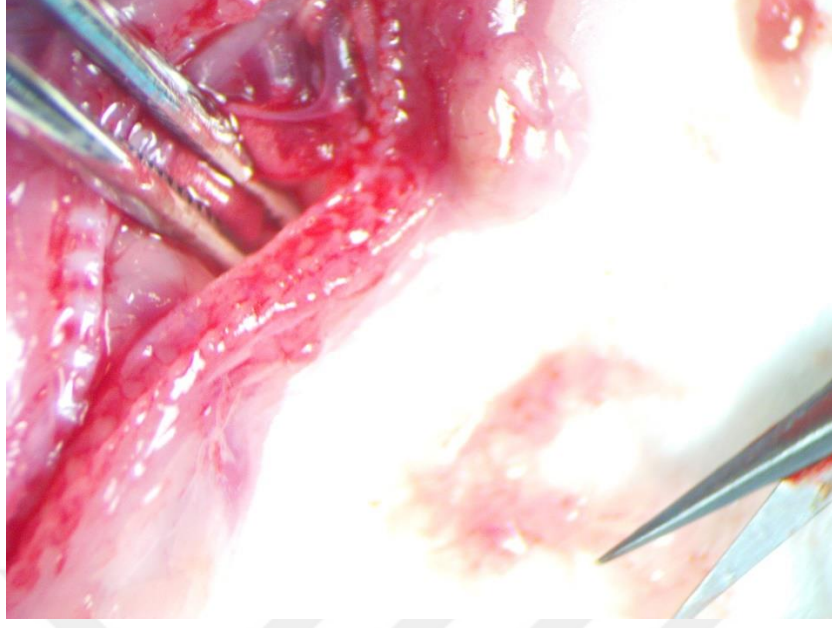
**Şekil 3.3.** İğne ile sabitlenmiş fare.

Fare sabitlendikten sonra kosta bölgesi Şekil 3.4'deki gibi yarılarak sırt bölgesine ulaşılır.



**Şekil 3.4.** Kostanın açılması.

DRG hücrelerinin konumu gereği ön bölgenin açılarak omurgaya ulaşılması ve bu açıdan DRG'lerin toplanması başarı oranını yükseltmektedir. Şekil 3.5'de DRG'lerin toplanma aşaması görülmektedir.



**Şekil 3.5.** DRG'lerin toplanması.

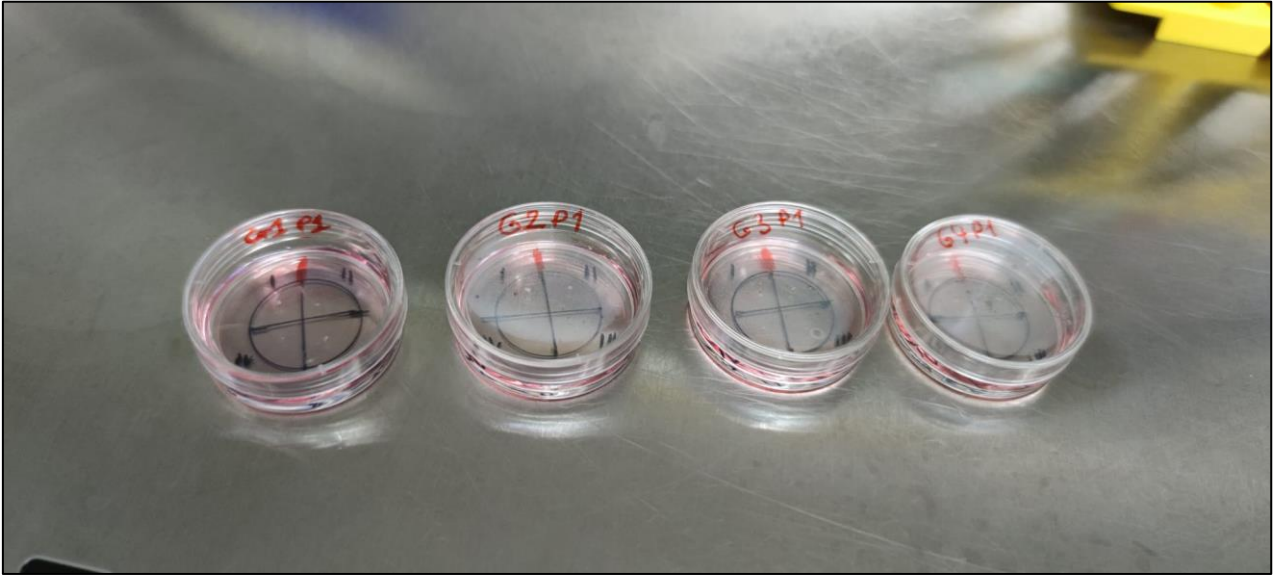
Gangliyonlar şekil 3.6'de görüldüğü gibi toplandıktan sonra diseksiyon vasatı ile doldurulmuş petriye aktarılır.



**Şekil 3.6.** Petriye aktarılan DRG hücreleri.



Elde edilen hücreler istenen metotla sayılır. Bu protokolle 20 adet DRG'den  $3-5 \times 10^5$  nöron elde edilebilmektedir. Çıkarılan gangliyonun/hücresinin sayısı veya yapılacak deneyin ihtiyaçları göz önünde bulundurularak hücreler 400 ila 700  $\mu$ l kültür vasatı ile seyreltilir. Yıkayıp kurutulmuş petriye Şekil 3.7'de olduğu gibi ekilir.



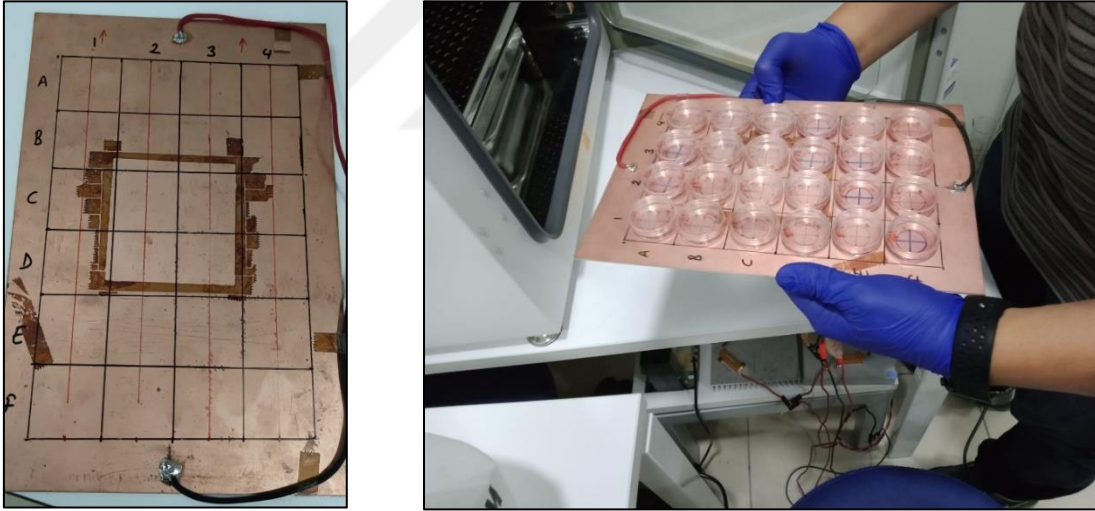
**Şekil 3.7:** DRG'lerden izole edilen hücreler petriye ekilerek çoğaltılır.

Şekilde görüldüğü gibi her bir petri dört parçaya ayrılmış ve her parçanın tam merkezine hücreler ekilmiştir. Bu işlemden sonra hücrelerin petrilere tutunması için bir gün boyunca dinlenme süresi olmalıdır. Hücrelerin gelişebilmeleri ve uygulanacak elektromanyetik alanın etkilerini gözlemlenebilmesi için öncelikle tutunma gerçekleşmelidir. Bir günün sonunda deney grupları oluşturmak amacıyla hücreler gruplara ayrılmışlardır. Grupları 1) EMF'ye tabi tutulan ve 2) Kontrol grubu, şeklinde belirtilmiştir. Daha sonra manyetik alanın tipini değiştirerek farklı durumlar incelenecektir. Ayrıca farklı deney gruplarında elektromanyetik alanın aktarıldığı levhaya elektromanyetik alan uygulamadan da bazı hücreleri inkübatörde bekleterek SHAM grubu oluşturulmuştur.

İlk deney gruplarında EMF uygulanacak hücreler arasında da aşağıdaki alt gruplar oluşturuldu;

1. grup ilk 24 saat EMF uygulaması, sonraki 72 saat dinlenme,
2. grup ilk 48 saat EMF uygulaması, sonraki 48 saat dinlenme,
3. grup ilk 24 saat dinlenme, sonraki 24 saat EMF uygulaması, son 48 saat yine dinlenme
4. grup ilk 24 saat dinlenme, sonraki 48 saat EMF uygulaması, son 24 saat yine dinlenme şeklinde olacaktır.

Önceki çalışmalardan ve bu deney gruplarından elde ettiğimiz sonuçlara dayalı olarak EMF uygulamasının tek bir şekli olmasına karar verildi. Deneylerde ilk 24 saat dinlenme, sonraki 24 saat EMF uygulaması, son 24 saat yine dinlenme şeklinde olmuştur. Bu karardan sonra EMF uygulanacak levha üzerinde (Şekil 3.8.a) hücreler aşağıdaki şekildeki gibi (Şekil 3.8.b) yerleştirilmiştir.



**Şekil 3.8:** a) PEMF uygulanan bakır levha alanlara ayrılmış durumda, b) bakır levha üzerine hücreler yerleştirilmiştir.

### 3.2. TASARLANAN KUVVETLENDİRİCİ

Yeni doğan fare DRG sinir hücrelerinin uyarımı için elektromanyetik alan değerinin yükselmesi ve uygun sinyal genliğinde ve frekans değerinde etkileşime girmesi gerekmektedir. Bu amaçla daha önce denenmemiş üç ayrı dalga (üçgen, kare ve testere dişi) formunda işaret üretilmiştir. Dalga şekillerini üretmek ve kuvvetlendiricinin giriş sinyali olarak



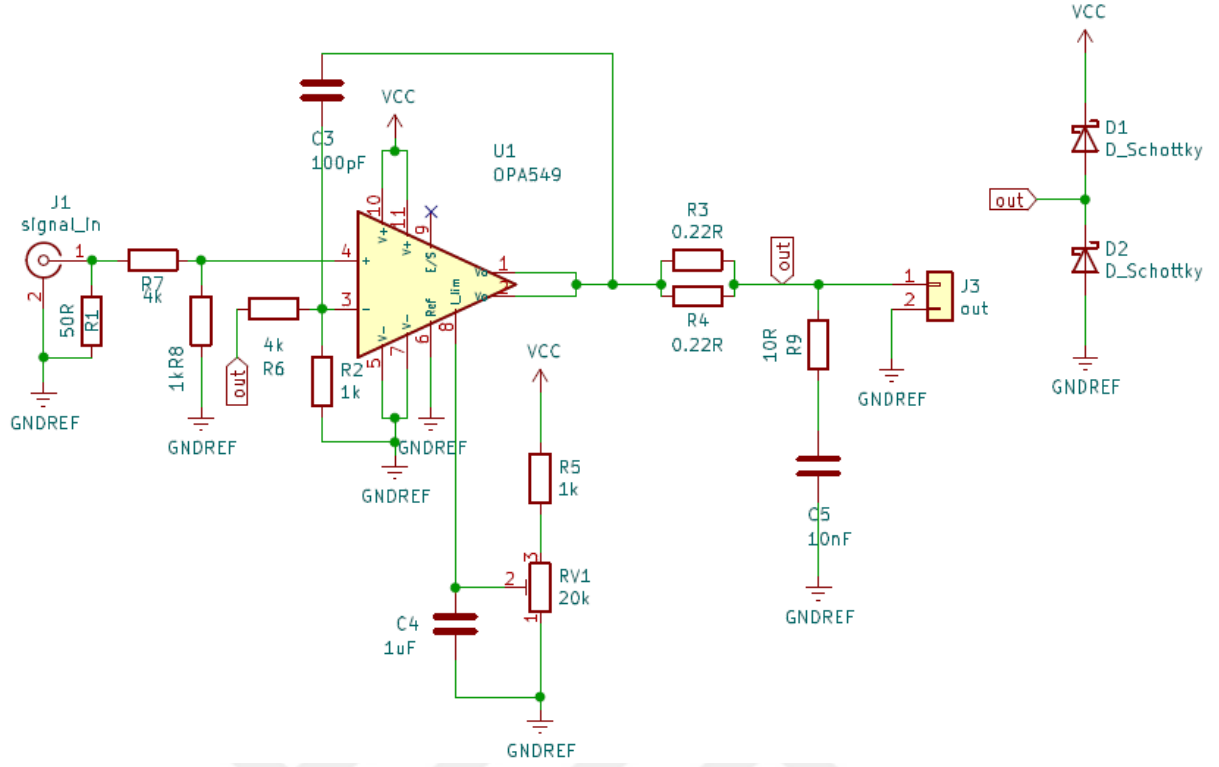
kullanabilmesini sağlamak için GW Instek AFG-2125 model işaret üretici kullanılmıştır. Şekil 3.9’de işaret üretici verilmiştir.



**Şekil 3.9:** İşaret Üretici.

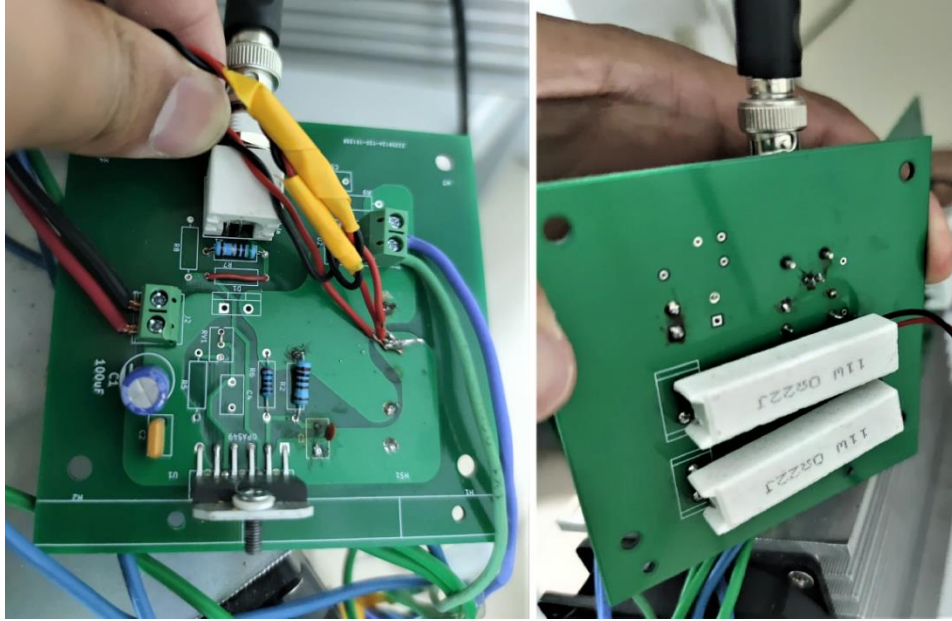
İşaret üretici 1Hz Çözünürlükte 0.1Hz’den 5/12/25 MHz’e kadar bant genişliği sağlayabilmektedir ve  $10V_{pp}$  (tepeden tepeye) genlik verebilmektedir. Cihazın gücü 15VA değerindedir. İşaret üretici çıkış olarak istenen değerlerde güçlere ulaşamadığı için kuvvetlendirme katına ihtiyaç duyulmuştur. İşaret üreticiden  $4V_{pp}$  üçgen,  $5V_{pp}$  kare ve  $5,3V_{pp}$  testere dişi olmak üzere 10kHz frekansında alternatif akım (AA) işaretleri çıkış olarak alınmıştır. Bu işaretler kırpmaya uğramadan kuvvetlendiriciden çıkış alınabilen üst limitlerdir. İşaretin genlik değerleri gerçekleştirilen kuvvetlendirici çıkışında bozulma olmadan alınabilecek en uygun değerler olarak seçilmiştir.

Kuvvetlendirici ile işaret üreticiden alınan işaretler kuvvetlendirerek sinir hücrelerinin yerleştirildiği test plakalarına uygulanmıştır. Yüksek akım değerlerine (düşük plaka direnci nedeniyle) ulaşıldığı için yüksek elektromanyetik alan değerleri elde edilmiştir. Bu aşmada kullanılan kuvvetlendiricinin devre şeması Şekil 3.10 de verilmiştir.



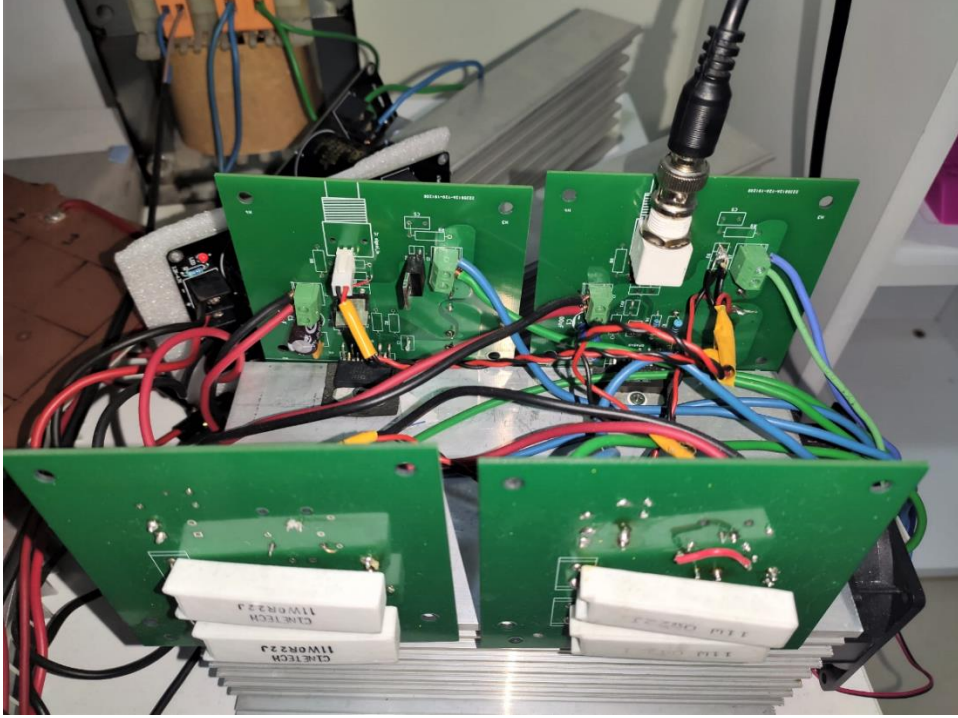
Şekil 3.10: Kuvvetlendirici Diyagramı.

BNC konektöründen alınan giriş işaretinin gücü kuvvetlendirilir. Gerçeklenen Kuvvetlendirici gücü yükseltmek için kaskad ve 4 katlı olarak gerçekleştirilmiştir. Tek kat yapısı Şekil 3.11’de görülmektedir.



Şekil 3.11: Tek Kat Kuvvetlendirici Yapısı.

Kuvvetlendiricinin 6mT manyetik alan değerine ulaşabilmesi için kuvvetlendiricinin çıkış akım değerinin 25A üzeri olması gerekmektedir. Bu nedenle dört katlı kuvvetlendirici tasarlanmıştır. Yeterince soğutma sağlanabilmesi için kaskad yapıya soğutucu fan ve alüminyum soğutucu eklenmiştir. Kaskad kuvvetlendirici yapısı Şekil 3.12’de verilmiştir.

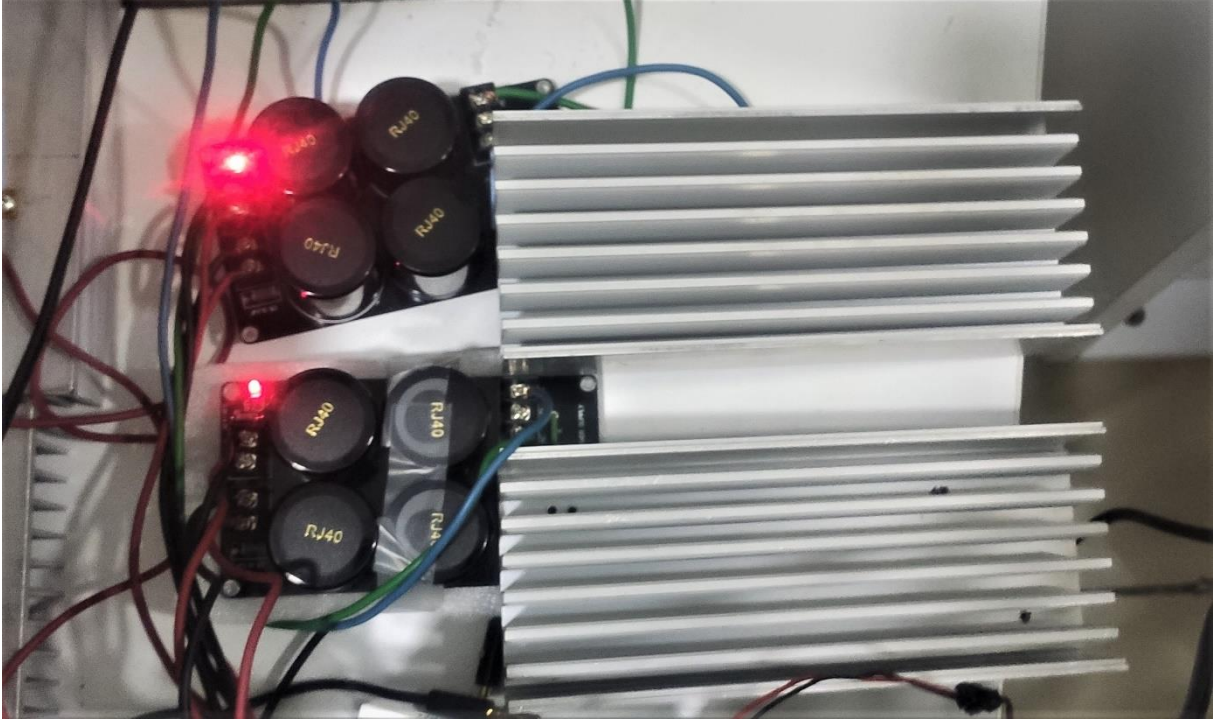


**Şekil 3.12:** Kaskad Kuvvetlendirici Yapısı.

Kuvvetlendirici yapısında bulunan güç Mosfetleri için yüksek güç girişine ihtiyaç duyar. Bunu sağlayabilmek için kuvvetlendiricinin güç katı Şekil 3.13’de verilen 500VA gücünde ve 12V çıkış gerilimine (sekonder) transformatör ile beslenmektedir. DRG hücrelerine uygulama sırasında uzun test süreleri gerektiği için beslemenin daimi ve yüksek güç kapasiteli olması gerekmektedir. Transformatör çıkışı kuvvetlendiriciyi besleyebilmesi için AA-DA dönüşümü yapılarak (doğrultularak) kuvvetlendiriciye verilir. Doğrultucu katı Şekil 3.14’de görülmektedir.



Şekil 3.13: Besleme Transformatörü.



Şekil 3.14: Doğrultucu Katı.

Kuvvetlendirici çıkışı DRG sinir hücrelerine elektromanyetik alan uygulamak için Fr-4 (cam takviyeli epoksi laminat) 20cm x 30cm tek taraflı bakır levha (plaket) uygulanmıştır. DRG sinir hücrelerinin yerleştirildiği bakır levha (plaket) Şekil 3.15’de görülmektedir. Bakır levha



üzerinde oluşan gerilim ve yüksek akım nedeniyle homojen bir elektromanyetik alan oluşması beklenmektedir.



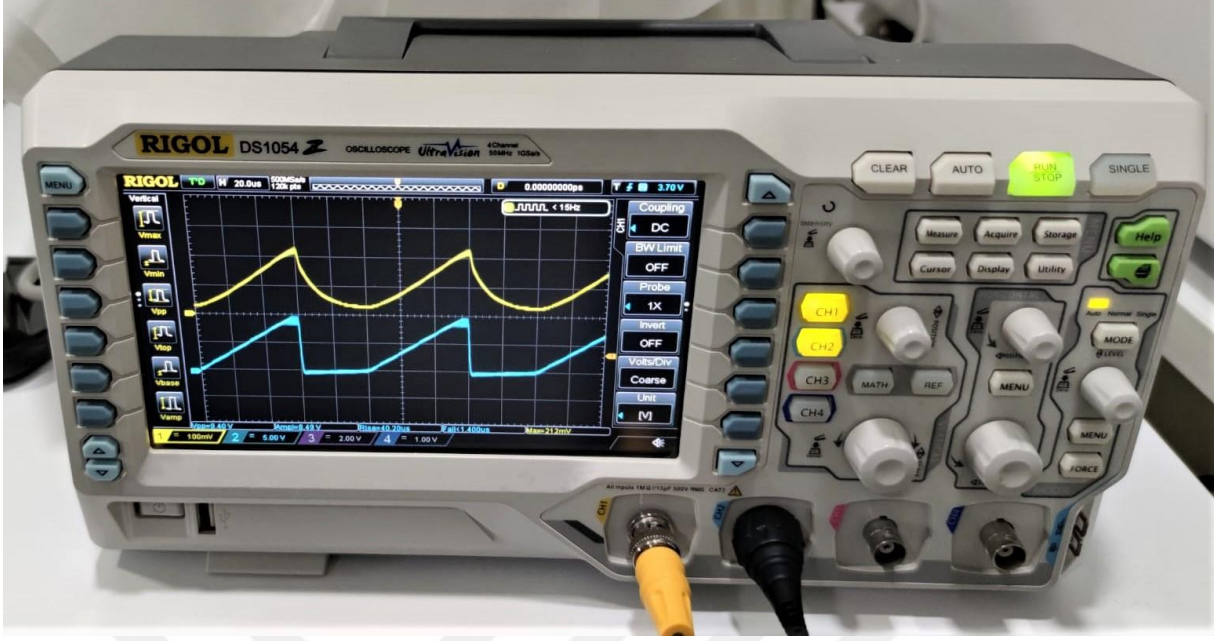
**Şekil 3.15:** FR-4 Bakır Levha.

Kuvvetlendirici çıkışında elektromanyetik alanın uygulanacağı bakır levhanın sistemden çektiği akımı ölçmek için Pico TA018 model pens ampermetre kullanılmıştır. Temassız olarak 60A ölçüm alabilme kapasitesine sahip olan pens ampermetre Şekil 3.16'de verilmiştir.



**Şekil 3.16:** Pens Ampermetre.

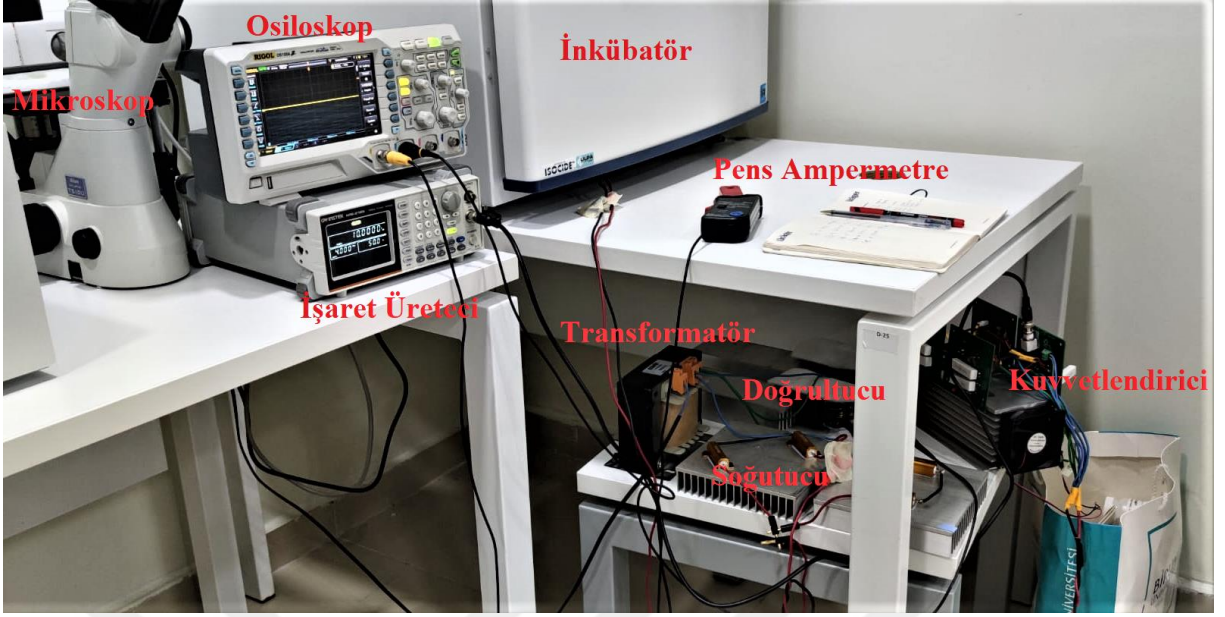
İşaret şekillerini gözlemlemek için RIGOL DS1054Z osiloskop kullanılmıştır. Cihaz dört kanallı, 50Mhz bant genişliğinde olup 1GS/s örnekleme yapabilmektedir. Osiloskop Şekil 3.17'de verilmiştir.



Şekil 3.17: Osiloskop.

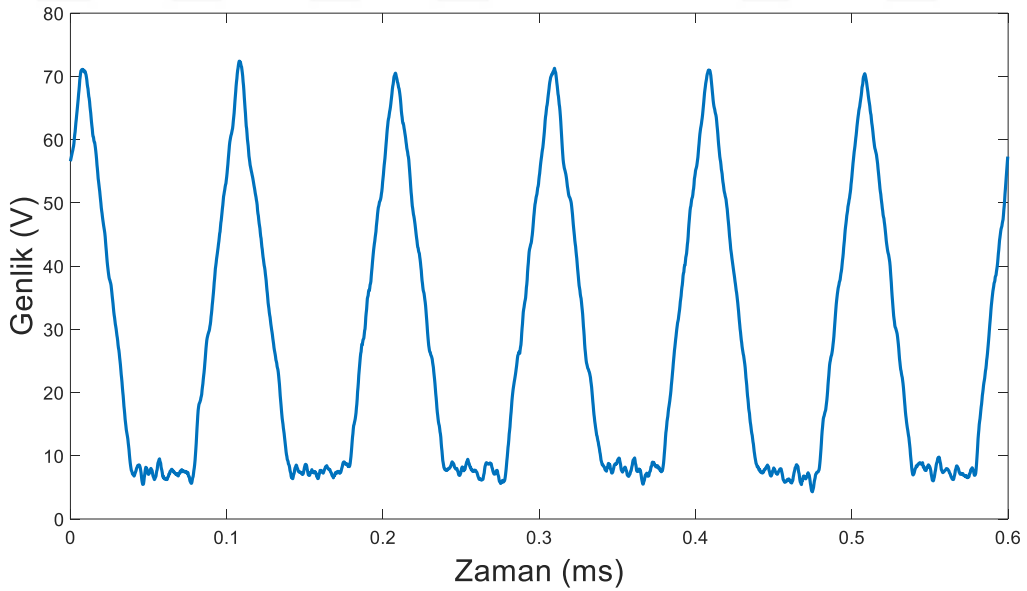
### 3.3. TEST DÜZENEGİ

DRG sinir hücrelerinin olabilecek en yüksek değerde elektromanyetik alana maruz kalması için Şekil 3.18'deki test düzeneği kurulmuştur. Sistemde şehir şebekesinden (AA, 230V, 50Hz) alınan gerilim besleme trafosu üzerinden 12V AA olarak doğrultucuya girmektedir. Doğrultulan işaret kuvvetlendiriciyi beslemektedir. Yüksek güç çeken kuvvetlendiricinin ısınmasını azaltmak için alüminyum soğutucular ve fanlar kullanılmıştır. Kuvvetlendiriciye 10kHz frekansında ve üç ayrı dalga formunda (kare, üçgen ve testere dişi) AA işaret, işaret üreticiden sağlanmaktadır. Gerekli kuvvetlendirme işlerinden sonra çıkış işareti elektromanyetik alanın oluşacağı bakır levhaya girilmektedir. Bakır levha üzerinde uygun noktalara DRG sinir hücreleri yerleştirilmektedir. Bakır levhanın DRG sinir hücreleri için uygun koşullarda korunması gerektiği için inkübatör (kuluçka makinesi) içinde olması gerekmektedir. İşaretlerin akım değeri manyetik alanı ve gerilim değeri elektrik alanı gösterdiğinden test düzeninde bu değerlerin anlık takibi için osiloskop ve pens ampermetre sisteme bağlı olarak ölçüm vermektedir. Test düzeninde DRG sinir hücrelerinin uzaması ve hücre durumları mikroskop üzerinden incelenmektedir.



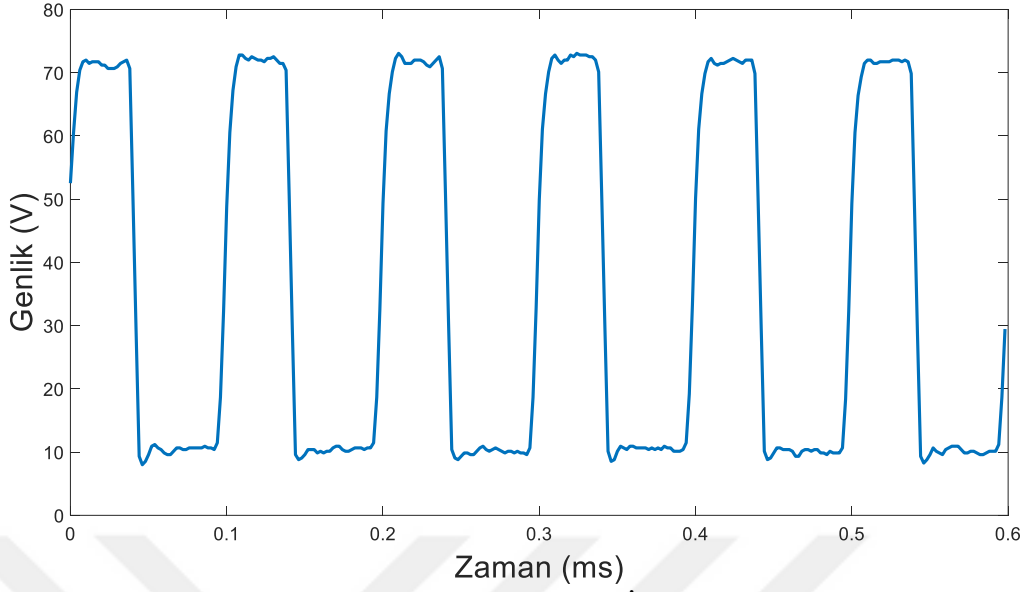
Şekil 3.18: Test Düzeneği.

Kuvvetlendirici çıkışında kuvvetlendirilmiş üç ayrı dalga formunda (kare, üçgen ve testere dişi) AA işaret Osiloskop ile kaydedilmiştir. Kayıt edilen işaretlerin dalga formları Matlab programında çizdirilmiştir. Şekil 3.19'da bakır plakaya girilen üçgen dalga formu görülmektedir.

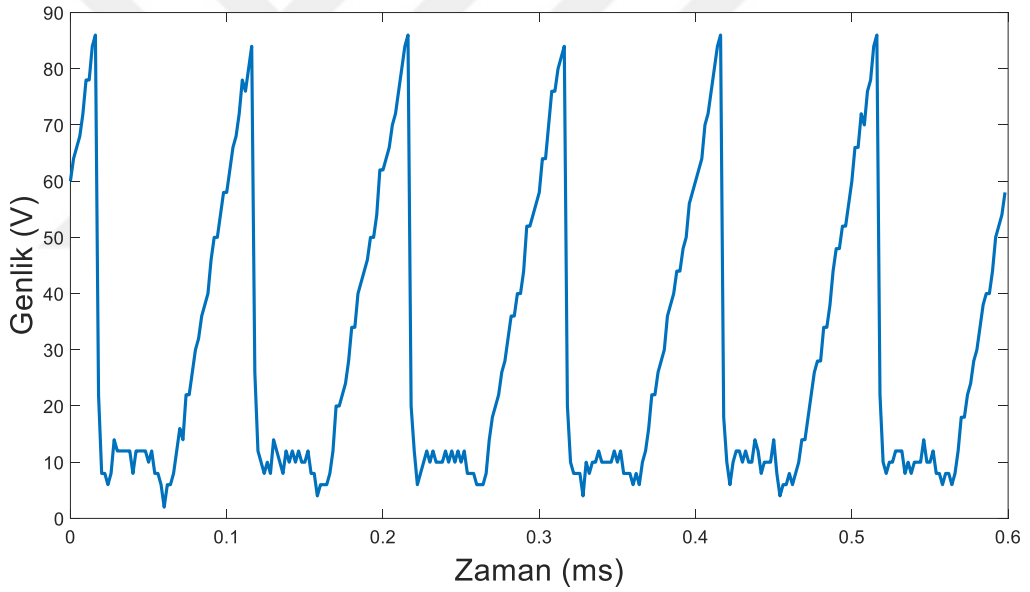


Şekil 3.19: Üçgen Dalga İşareti.

Sırasıyla kare ve testere dişi dalga formları Şekil 3.20 ve Şekil 3.21'de verilmiştir.



**Şekil 3.20:** Kare Dalga İşareti.



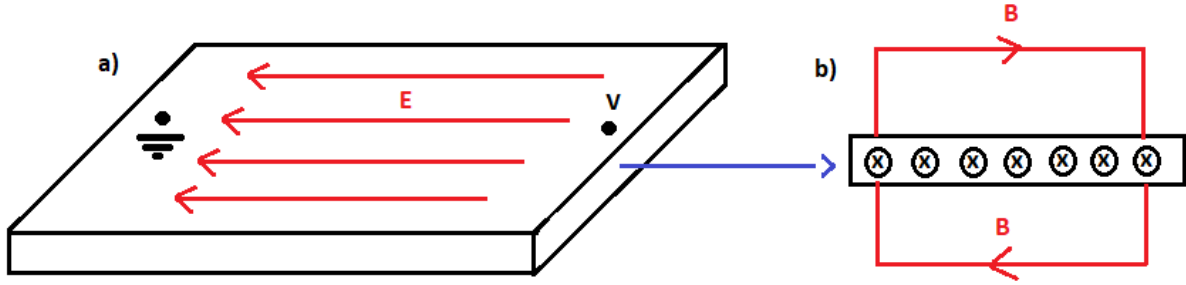
**Şekil 3.21:** Testere Dişi Dalga İşareti.

### 3.4. ELEKTROMANYETİK ANALİZ

Tez kapsamında literatürdeki çalışmalardan farklı olarak bakır levhalı sistem kullanılarak DRG sinir hücrelerinin bakır levha ile etkileşime girmesi önerilmiştir. Sargı şeklinde olan yapılarda endüktans ve dolayısıyla manyetik alan ön plandadır. Tez kapsamında önerilen sistemde kapalı bir çevrim yerine bakır levhalı yapı önerilmiştir. Bu sistemde elektrik alan etkileri ön plandadır.



İndüklenen elektrik alan ve akım yoğunluğu ortamdaki dairesel yolları takip eder. Aşağıdaki analiz ilişkiyi göstermektedir. Akım (I) nedeniyle elektrik alan (E) ve akım yoğunluğu (J) oluşur [78]. Önerilen sitemde bakır levha birbirine paralel çoklu iletken tellerden oluştuğu düşünülebilir. Bu durumda Levha üzerinde oluşan elektrik alan çizgileri ve manyetik alan çizgileri Şekil 3.22’de görülmektedir.



Şekil 3.22: Bakır Levha Üzerinde Oluşan a) Elektrik Alan b) Manyetik Alan.

Elektrik alan çizgileri levha boyunca potansiyel fark noktaları nedeniyle oluşur. Bakır levhanın yatayda yan yana (paralel olarak) akım taşıyan iletkenlerden oluştuğu kabul edilirse ve bakır levhanın sonsuz uzunlukta genişliği olduğu varsayımıyla Şekil 3.14 b’deki manyetik alan formasyonunu alır. Bir telden akan akım için manyetik vektör potansiyeli (Biot savart yasası) Denklem 3.1’de verilmiştir. Manyetik akı yoğunluğu ile manyetik vektör potansiyeli arasındaki ilişki Denklem 3.2’de görülmektedir. Denklemlerde ds kapalı çevrimde dairesel en küçük eleman ve r ise noktalar arası mesafedir.

$$A = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{ds}{r} \quad (3.1)$$

$$B = \nabla \times A \quad (3.2)$$

Elektrik alan çizgileri levha boyunca potansiyel fark noktaları nedeniyle oluşur. Bakır levhanın yatayda yan yana (paralel olarak) akım taşıyan iletkenlerden oluştuğu kabul edilirse ve bakır levha üzerinde değişken akım (darbeli akım) varsa Denklem 3.3 geçerli olur. Darbeli akım çeşitli dalga formlarında elde edilebilir.

$$E = -\frac{\partial A}{\partial t} - \nabla V \quad (3.3)$$

Zamanla değişen akım nedeniyle manyetik akı yoğunluğu da zamanla değişir. Değişken manyetik akı yoğunluğu elektrik alan oluşturmaktadır. Levha üzerinde elektrik alan olması durumunda akım yoğunluğu  $J$  Denklem 3.4'de verilmiştir.

$$J = \sigma E \quad (3.4)$$

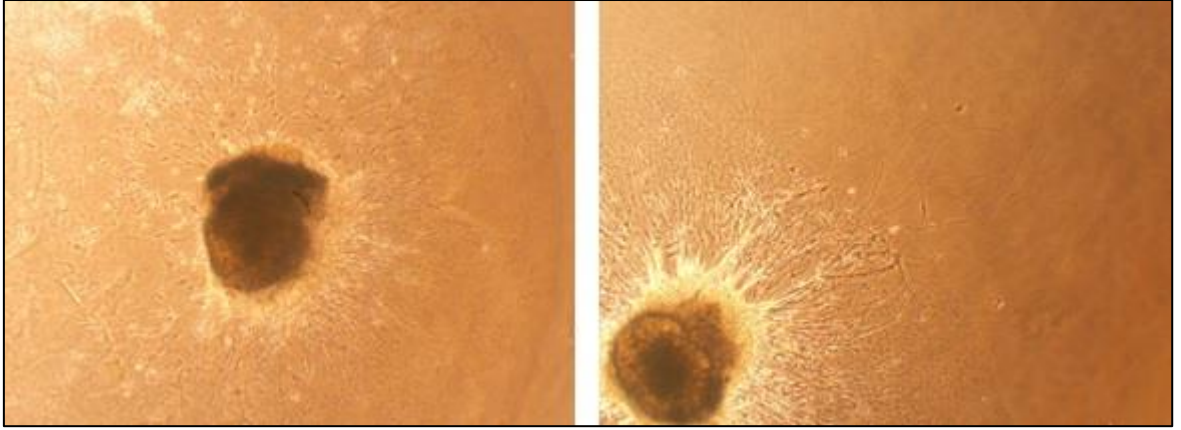
Denklemdede  $\sigma$  (mho/m) elektriksel iletkenliktir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. MORFOLOJİK GÖZLEMLER

Hücrelerin EMF uygulamasına maruz bırakılmalarının ardından gerçekleştirilen gözlem sonuçlarına göre elektrik alan yönünde uzamalar gösteren DRG hücrelerinin 72. Saatteki görüntüsü şekilde gösterildiği gibidir (**Şekil 4.1**). Buna göre birçok deney grubunda elektrik alan yönünde uzamalar gözlemlenmiştir. Hücreler rastgele gruplardan seçilmiştir.

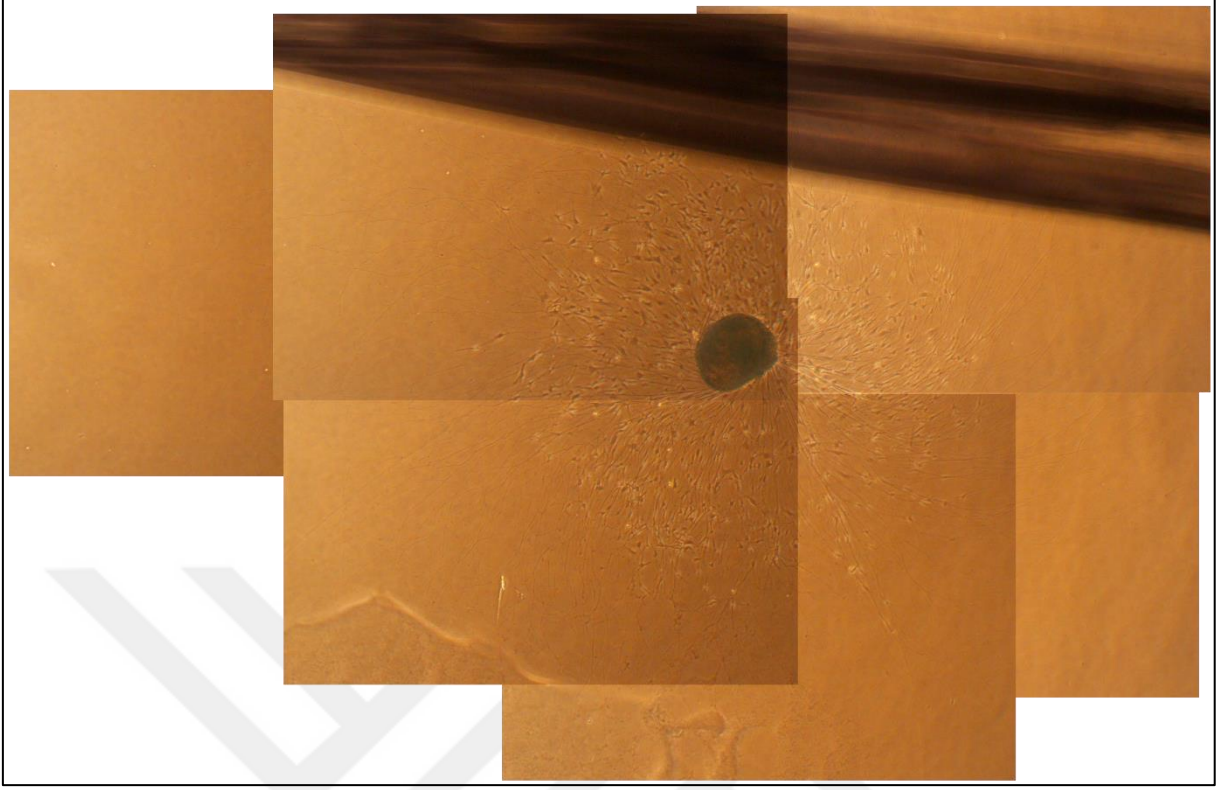


**Şekil 4.1:** EMF etkisi ile uzama gösteren rastgele seçilmiş DRG hücreleri (10X büyütme).

### 4.2. DRG HÜCRELERİNİN EMF UYGULAMASINDAN SONRA ÖLÇÜLMESİ

DRG hücreleri EMF uygulamasından sonra uygulama yapılmamış sham grubuna göre önemli oranda uzama göstermiştir.

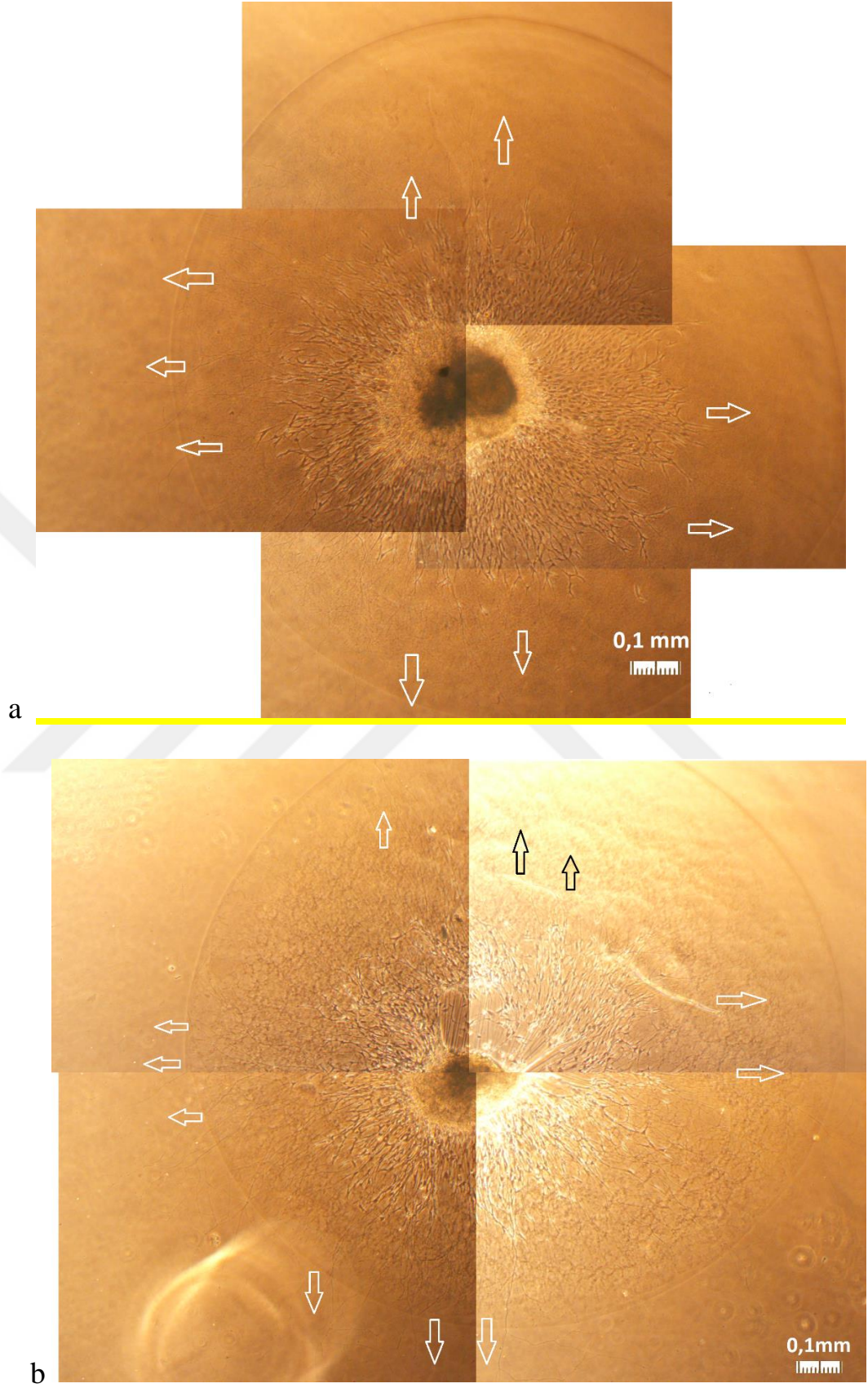
Bu karşılaştırmayı yapabilmek için DRG hücreleri ekildikten 24 saat sonra henüz herhangi bir EMF uygulanmamış iken hücrenin tutunup yayılma gösterdiği şekil 4.2.'de gösterilmiştir. EMF uygulaması hücreler petriye tutunduktan ve koloni oluşturduktan 1 gün sonra uygulanmaya başlamıştır.



**Şekil 4.2:** EMF uygulanmadan önceki ilk 24 saat her yöne akson uzatan DRG hücreleri.

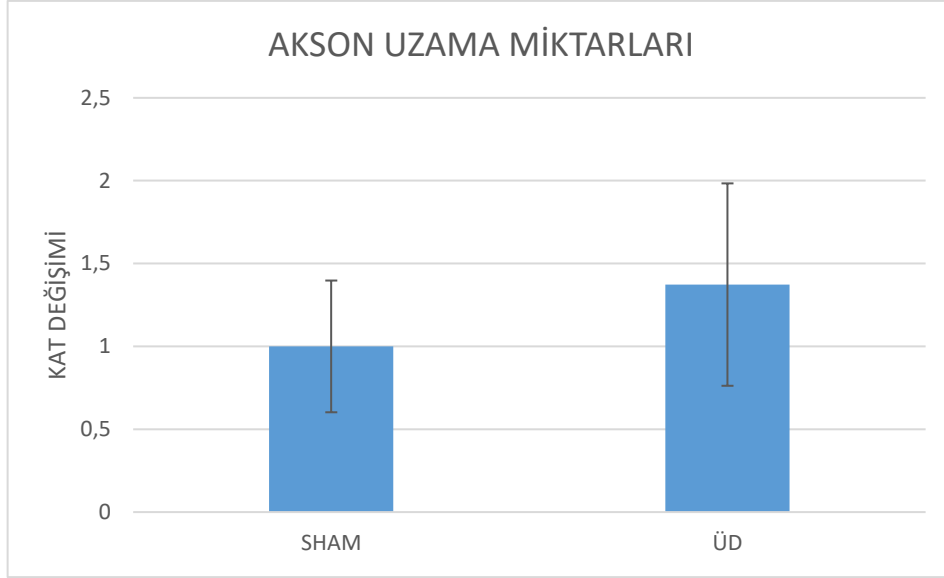
#### **4.2.1. ÜD Grubunun Sham Grubu ile Karşılaştırılması**

İlk deney grubuna uygulanan sinyal tipi simetrik üçgen dalga (ÜD) olup, her yöne uzama gözlemlenmiştir. Önceki çalışmalardan edindiğimiz bilgilere göre bu uygulama tipinde hücrelerin birbirine zıt iki yöne uzaması beklenmekteydi. Ancak uygulamamız sonucunda hücrelerin her yöne neredeyse eşit miktarlarda uzadığı görülmüştür. (Şekil 4.3 a ve b)



**Şekil 4.3 (a ve b):** EMF uyguladıktan sonra her yöne akson uzatan DRG hücreleri.





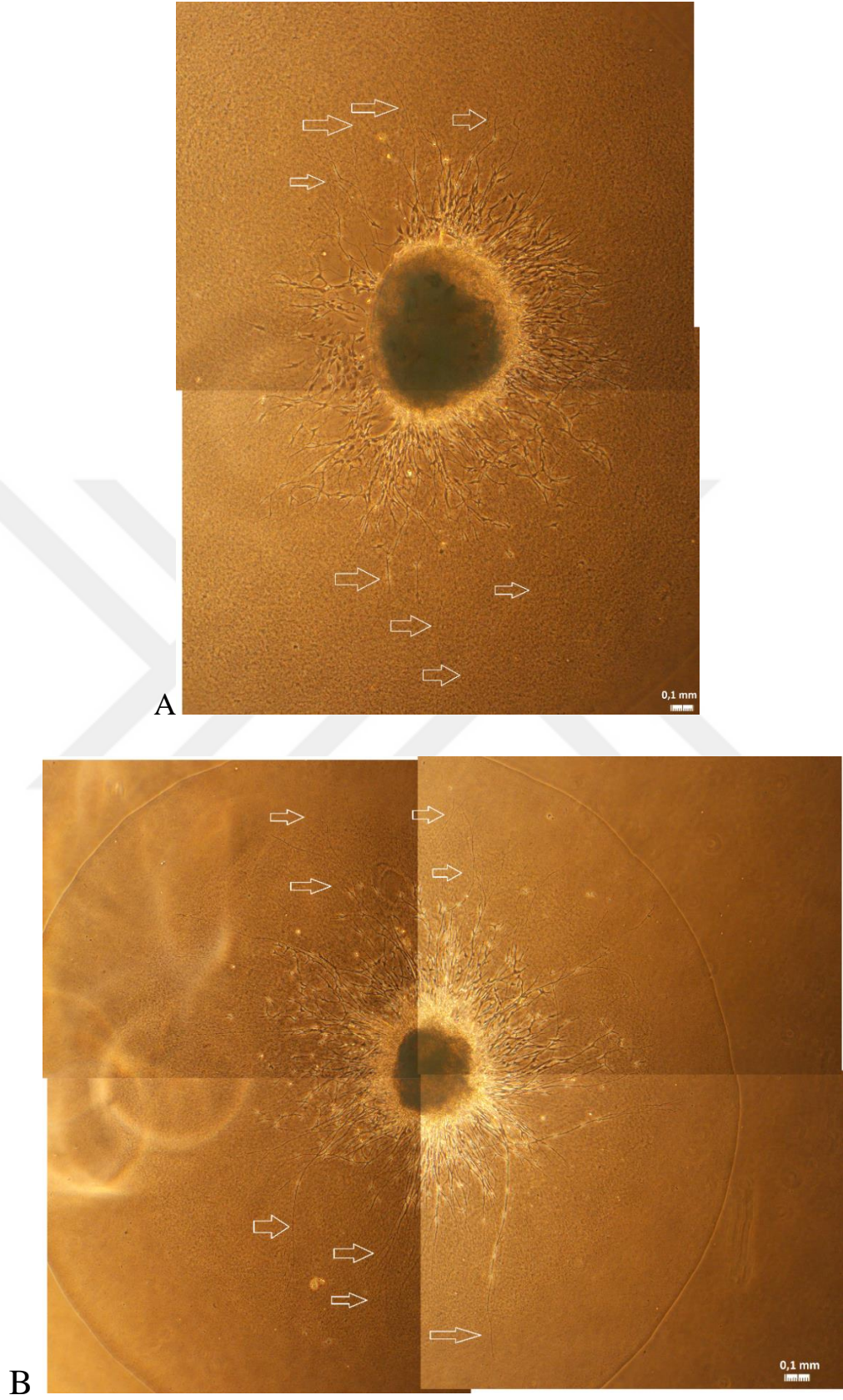
**Sekil 4.4:** Sham grubu ile ÜD grubunun oransal karşılaştırılması.

Şekil 4.4’de Sham grubuna göre normalize edilerek hesaplanan ölçümlerde ÜD grubuna maruz hücrelerin sham grubuna göre yaklaşık 1,4 oranında daha fazla uzama gösterdiği görülmüştür.

#### 4.2.2. KD Grubunun Sham Grubu İle Karşılaştırılması

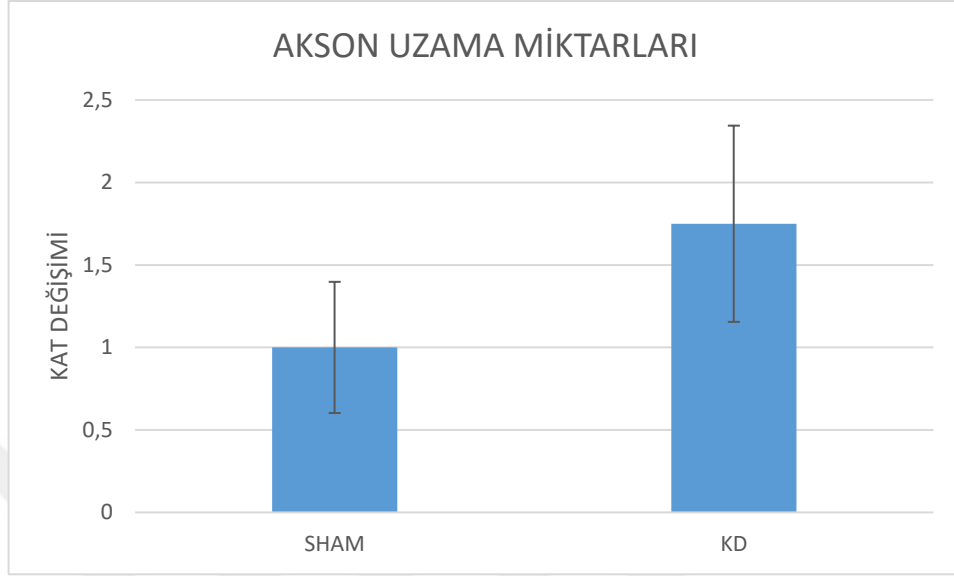
İkinci deney grubunda kare dalga uygulanmıştır. Bu deney grubunda da ÜD grubunda da olduğu gibi akson gelişiminin sadece birbirine zıt iki yöne olması beklenmekteydi. Sonuçlarımız bu beklentiyle uyumlu olmuştur.

Hücreler petriye ekildikten 1 gün sonra Şekil 4.2’de görüldüğü çoğalmaya ve akson uzatmaya başlamıştır. Takip eden 24 saatte EMF uygulanmış ve sonraki 24 saat EMF uygulanmadan dinlendirilmiş hücrelerdeki uzama görüntüleri alınmış ve analiz edilmiştir. Uzamalar belirgin bir şekilde kuzey – güney ekseninde yoğunlaşmıştır (Şekil 4.5 (a ve b)).



**Şekil 4.5 (a ve b):** EMF uyguladıktan sonra ağırlıklı olarak kuzey-güney yönüne akson uzatan DRG hücresi.

KD etikisi ile oluşan gelişimin Sham grubu ile kıyaslandığı tablo Şekil 4.6'dadır.

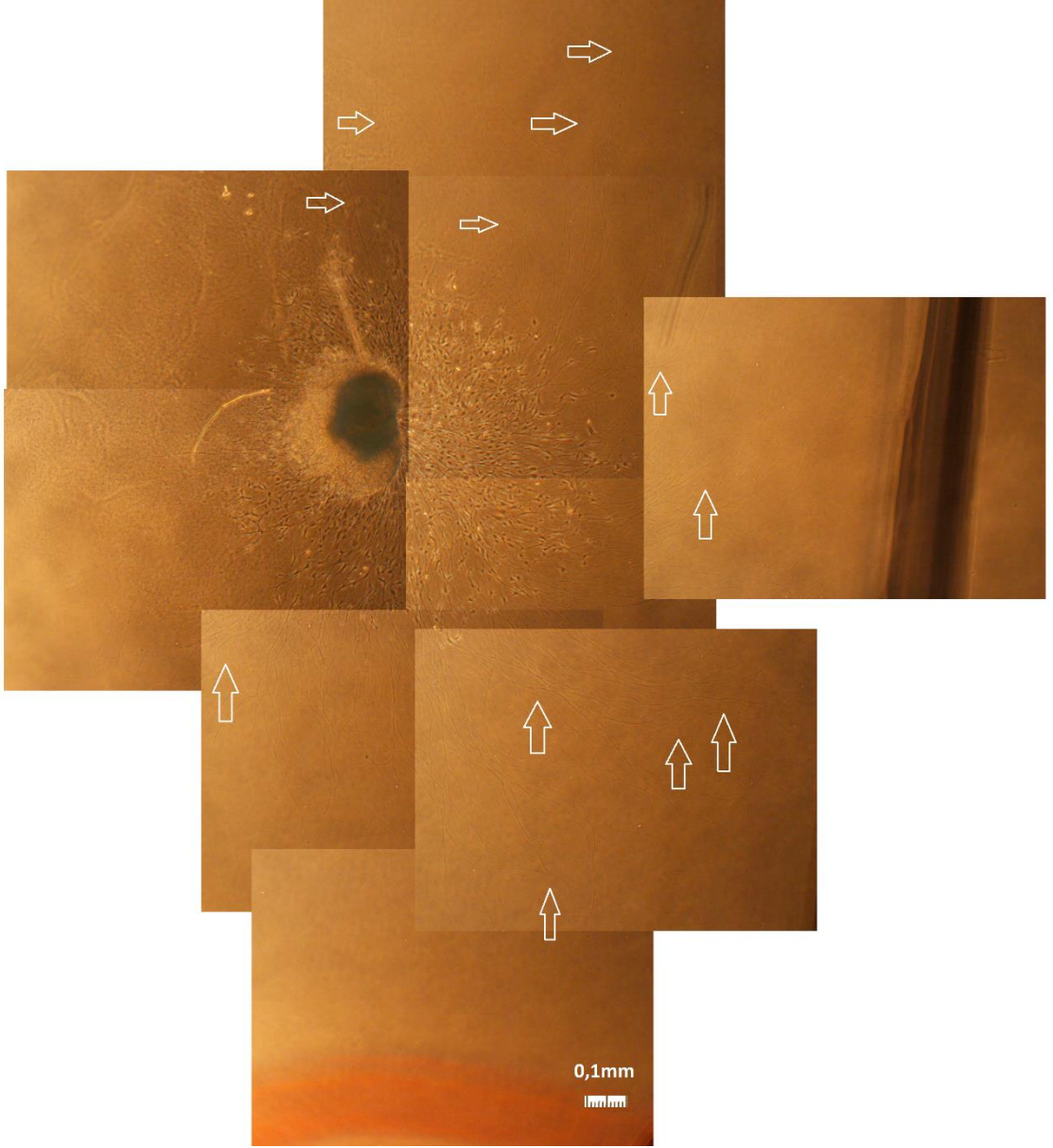


**Şekil 4.6:** Sham grubu ile KD grubunun oransal karşılaştırılması.

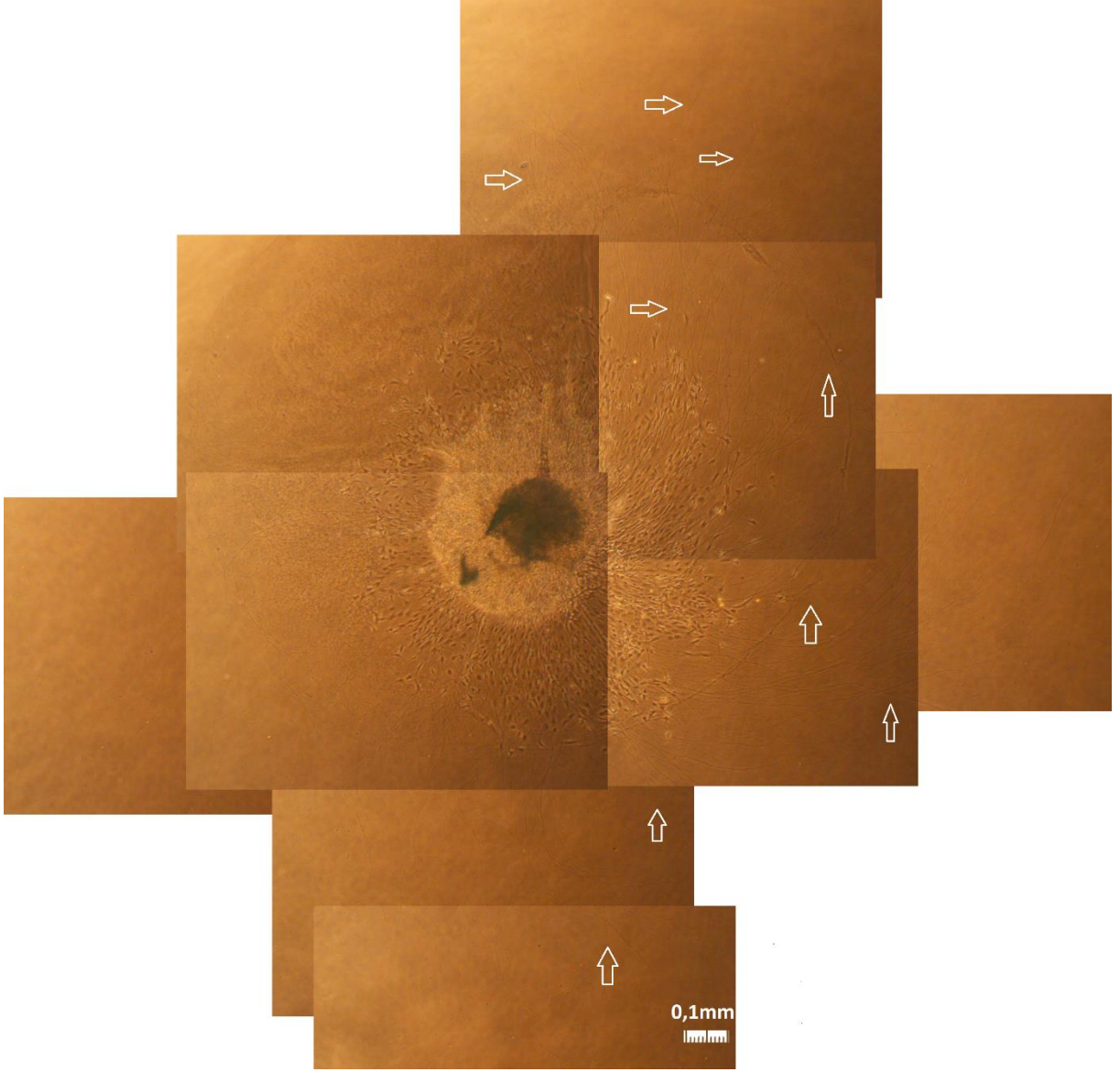
#### 4.2.3. TD Grubunun Sham Grubu İle Karşılaştırılması

Üçüncü deney grubunda testere dişi dalga (TD) uygulanmıştır. Bu deney grubunda diğer gruplardan farklı olarak sadece bir yönde uzama olması beklenmekteydi. Bakır levha üzerindeki her karede bu sonucu alamamış olsak da bir çok karede bu sonucu elde ettik. Ekli resimlerde uzama sadece kuzey yönünde olmuştur. İlk 24 saatte her yönde oluşmaya başlayan akson uzaması TD ile oluşturulmuş EMF'nin etkisi ile belirgin bir şekilde kuzey yönüne yönelim geliştirmiştir. Kuzey dışındaki yönlerde oluşmuş olan aksonlar sonradan büyük çoğunlukla kuzeye yönelmiştir (Şekil 4.7 (a) ve (b)).



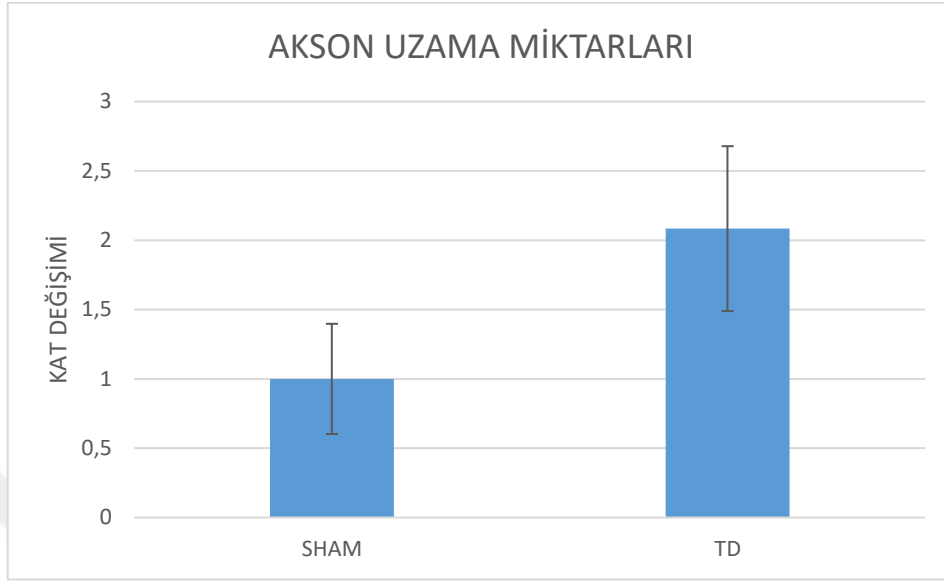


**Şekil 4.7.a** : EMF uyguladıktan sonra ağırlıklı olarak kuzey yönüne akson uzatan DRG hücresi.



**Şekil 4.7.b :** EMF uyguladıktan sonra ağırlıklı olarak kuzey yönüne akson uzatan DRG hücresi.

En yüksek gelişimin gözleendiği bu gruptaki ortalama gelişim miktarlarının Sham grubu ile karşılaştırıldığı grafik Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

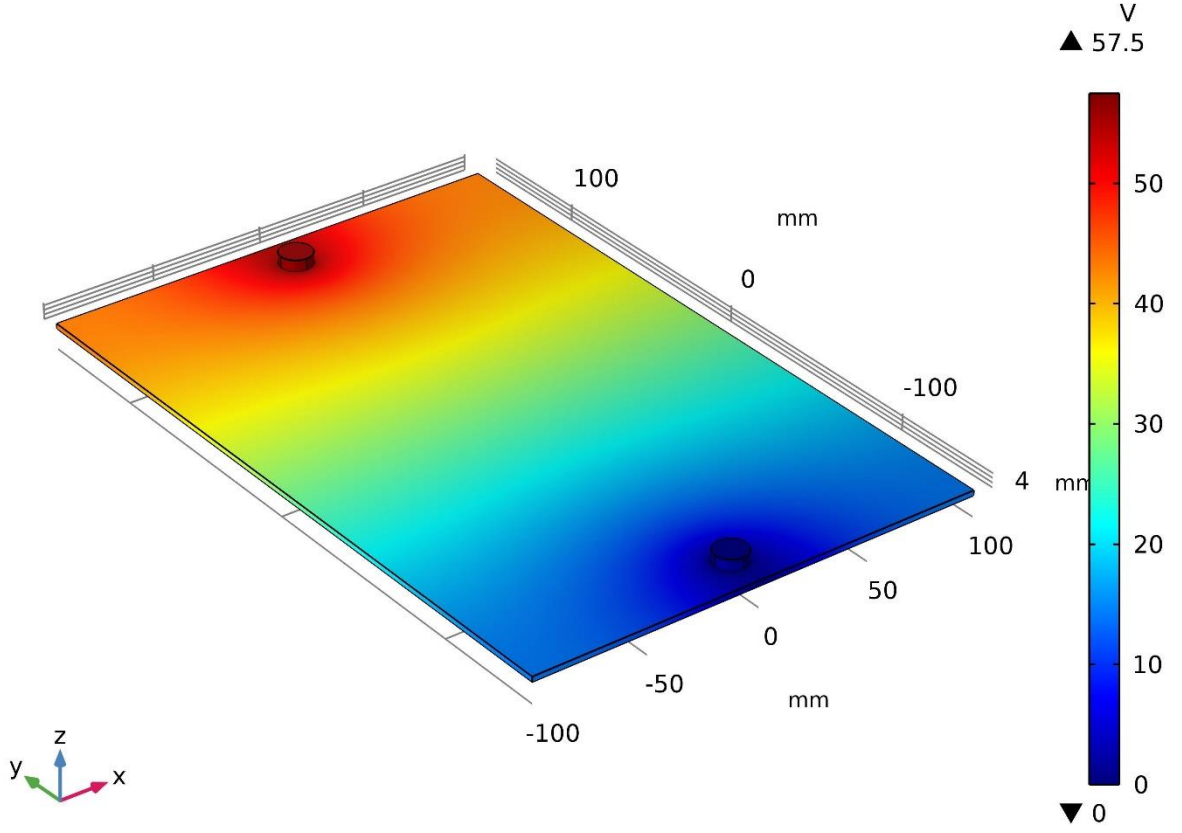


Şekil 4.8: Sham grubu ile TD grubunun oransal karşılaştırılması.

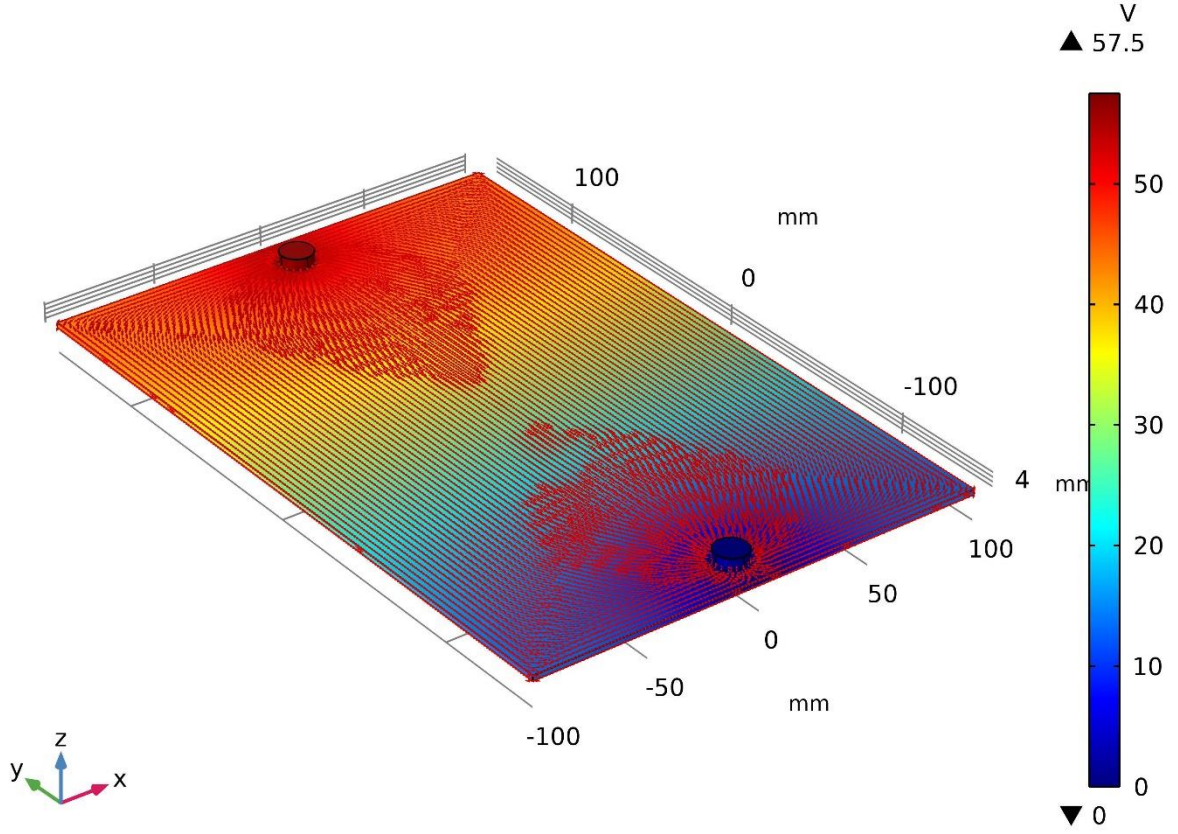
#### 4.3. ELEKTROMANYETİK ANALİZ BENZETİM SONUÇLARI

Bakır levha üzerinde oluşan elektromanyetik alan incelenirken sistemde kapalı bir sargı yapısı olmaması nedeniyle elektrik alan değerleri ön plandadır. Benzetimler COMSOL Multiphysics programı üzerinde yapılmıştır. İşaret üreticiden alınan işaretler kuvvetlendirilerek üçgen, kare ve testere dişi dalga formlarında olmak üzere 10kHz frekansında alternatif akım (AA) işaretleri bakır levhaya uygulanmıştır. Elektrik alan analizleri öncelikle boş levha için yapılmıştır. Şekil 4.9’da üçgen dalga formunda bakır levha üzerinde oluşan potansiyel dağılımı verilmiştir. Levha üzerindeki potansiyel farkı test düzeneğinde oluşturulan dalga formları uyumlu olup etkin değer (RMS-Root Mean Square) olarak verilmiştir. Potansiyel dağılımı levha üzerinde besleme noktalarından itibaren görülmektedir. Üçgen dalga için boş bakır levha elektrik alan ve potansiyel dağılımı Şekil 4.10’da verilmiştir. Elektrik alan çizgilerinin yoğunluğunun arttığı levha bölgeleri görülmektedir. Elektrik alan dağılımı incelendiğinde levhada yatayda hizada bulunan noktalar için elektrik alan değerlerinin aynı olmadığı görülmektedir. Bu nedenle levha üzerine yan yana konulan örnekler arasında elektrik alan değerleri açısından farklar görülmektedir. Üçgen dalga formunda genliğin maksimum olduğu sivri nokta kesime uğramaktadır. Bu durumda belirtilen tepe kısım düz bir çizgi haline gelmektedir. Genliği düşüren bu durum elektrik alanın da zayıflamasına neden olmaktadır.

Besleme gerilim değeri 70 V tepe değerine sahip olmasına rağmen benzetim sonucunda bu değer %17,85 kayıpla 57,5 V olarak ölçülmüştür.



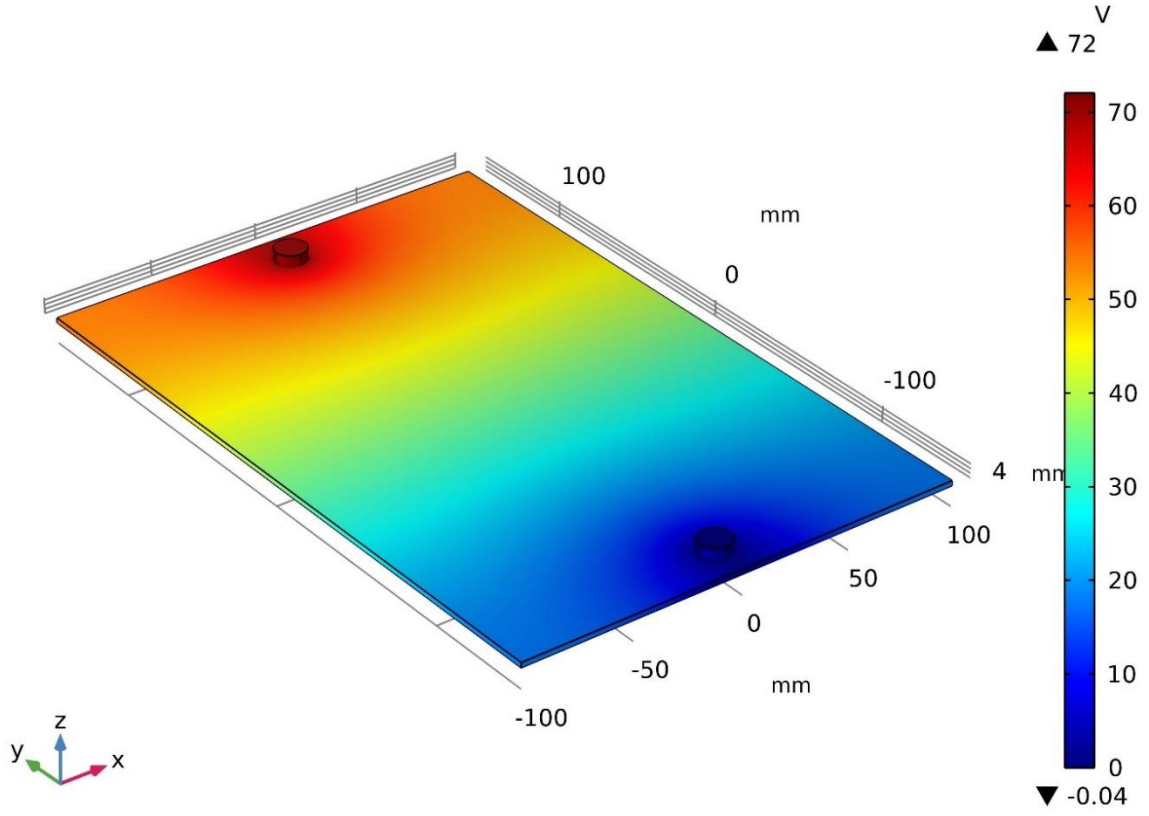
Şekil 4.9: Üçgen Dalga Boş Bakır Levha Potansiyel Dağılımı.



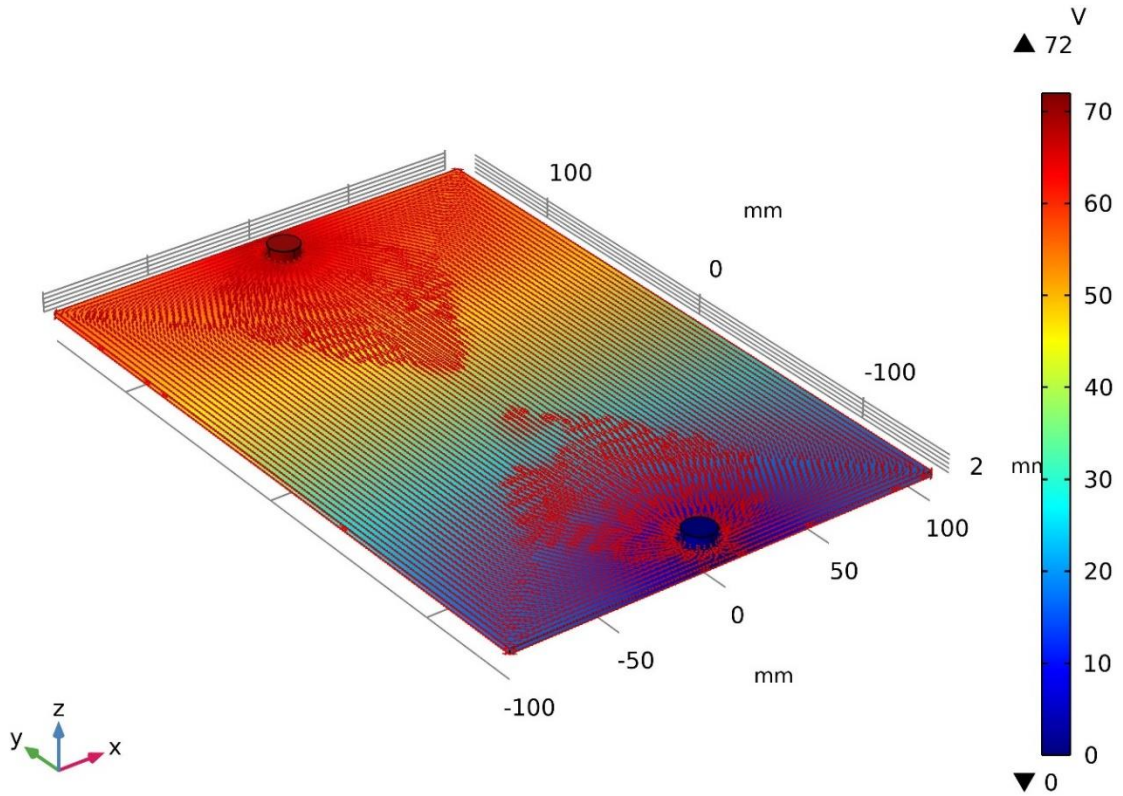
**Şekil 4.10:** Üçgen Dalga Boş Bakır Levha Elektrik Alan ve Potansiyel Dağılımı.

Şekil 4.11’de kare dalga formunda bakır levha üzerinde oluşan potansiyel dağılımı ve Şekil 4.12’de kare dalga için boş bakır levha elektrik alan ve potansiyel dağılımı verilmiştir. Üçgen dalga formuyla dağılım açısından benzerlikler göstermekle birlikte potansiyel farka bağlı alan değerleri daha yüksektir. Kare dalga üçgen dalgaya göre daha iyi sonuç vermektedir. Dalga formundan dolayı genliğin maksimum olduğu kısımlarda üçgendeki gibi kesime uğramamaktadır. Kare dalgada tepe potansiyel değerinde bir kayıp oluşmamıştır.



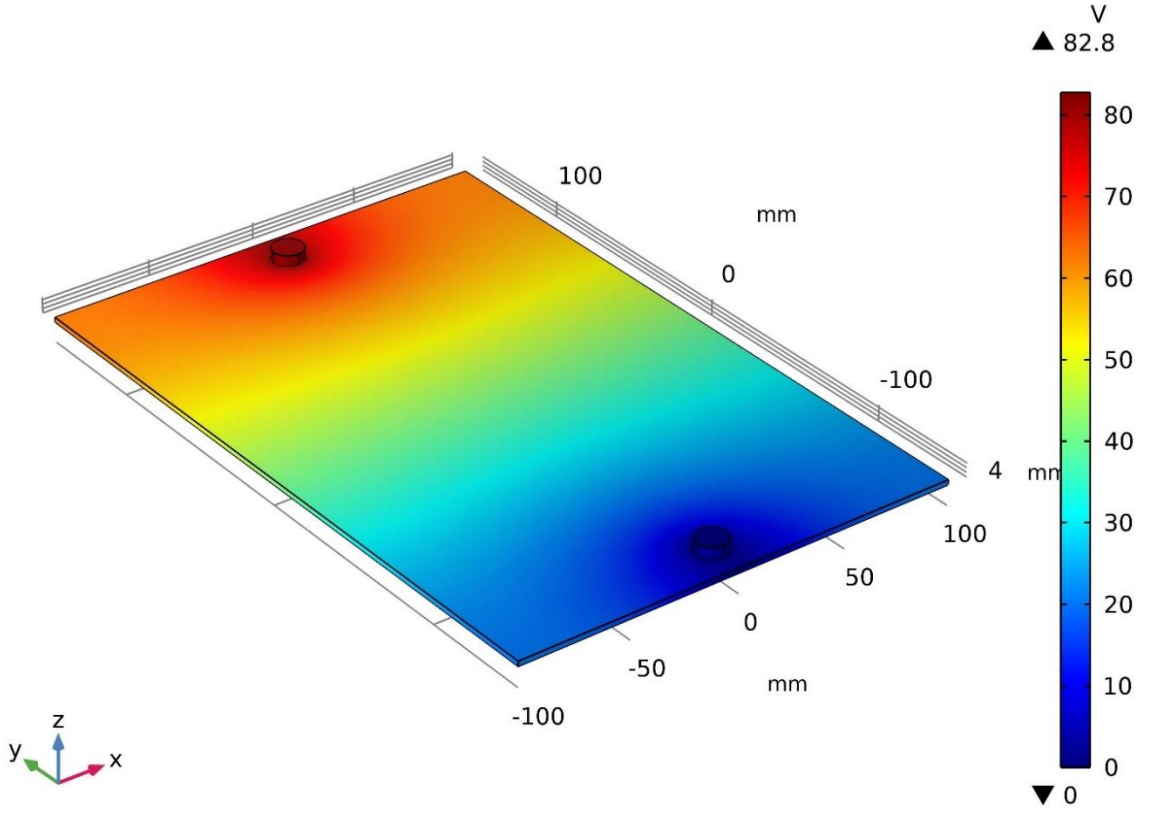


Şekil 4.11: Kare Dalga Boş Bakır Levha Potansiyel Dağılımı.

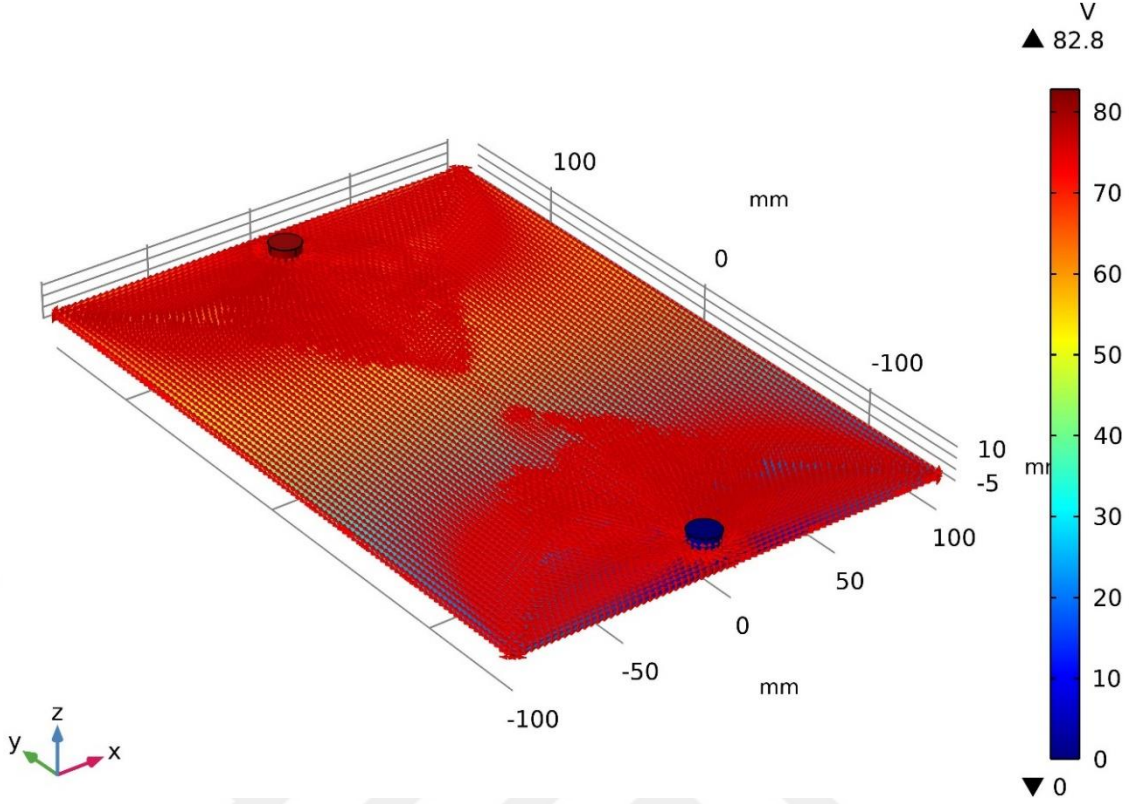


Şekil 4.12: Kare Dalga Boş Bakır Levha Elektrik Alan ve Potansiyel Dağılımı.

Şekil 4.13’de testere dişi dalga formunda bakır levha üzerinde oluşan potansiyel dağılımı ve Şekil 4.14’da testere dişi dalga için boş bakır levha elektrik alan ve potansiyel dağılımı verilmiştir. Diğer dalga formlarıyla karşılaştırıldığında hem alan değerlerinin daha yüksek hem de yatayda levha üzerinde daha geniş alanda elektrik alan etkilerinin görüldüğü belirlenmiştir.



**Şekil 4.13:** Testere Dişi Dalga Boş Bakır Levha Potansiyel Dağılımı.



**Şekil 4.14:** Testere Dişi Dalga Boş Bakır Levha Elektrik Alan ve Potansiyel Dağılımı.

Testere dişi dalgası şeklen üçgen dalgaya benzemektedir. İki dalga formunda da tepe değerinde dalga sivri uca benzer bir yapıdadır. Ancak yapılan analizlerde testere dişi dalgada bu sivri kısım üçgen dalgadaki gibi kesime uğramamıştır (Belli bir süre sabit gerilim değeri gibi düz çizgi formu oluşmamaktadır). Testere dişi dalga 86V besleme gerilimi ile sisteme verilmiş olup, bu değer %3,72 oranında azalarak 82,8 V olarak ölçülmüştür. Testere dişi dalga daha yüksek elektrik alan oluşturmuş olup en iyi yönelime neden olan dalga formudur.



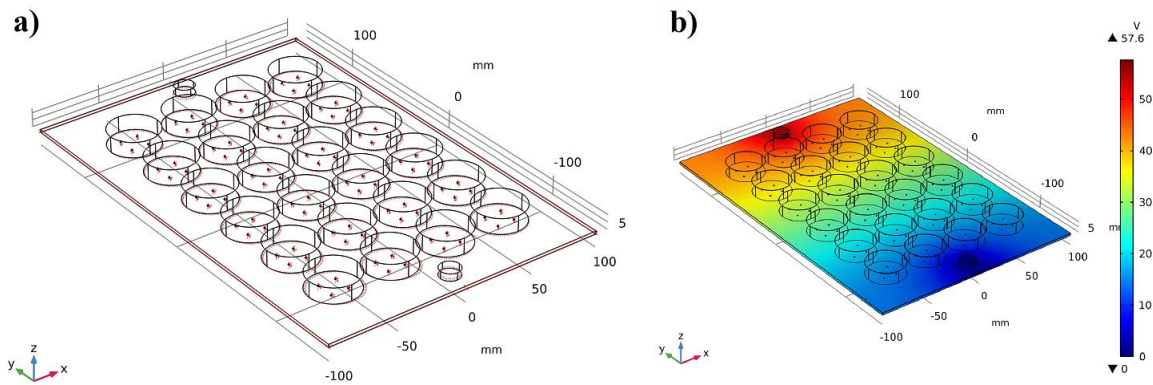
### 4.3.1 ÜD Altında DRG Hücreleri Benzetim sonuçları

DRG sinir hücrelerini barındıran petri kapları Şekil 4.15’de görüldüğü gibi levha üzerine dikeyde altı sıra (A-F) yatayda ise dört sıra (1-4) olacak şekilde yerleştirilmiştir. Hücrelerdeki uzamalar ve benzetim sonuçlarındaki alan değerleri karşılaştırılmıştır. Bir petri kabında dört adet DRG sinir hücresi kuyusu (W1-W4) olup levha üzerinde toplam 96 adet hücre mevcuttur. DRG sinir hücrelerinin petri kabına yerleşimi bakır levha üzerinde yüksek potansiyel bölgesinden başlamak üzere saat yönünde sıralı yerleştirilmiştir. DRG sinir hücrelerinin petri kabına yerleşimi Şekil 4.7’de verilmiştir.



**Şekil 4.15:** DRG Sinir Hücrelerinin Petri Kabına Yerleşimi.

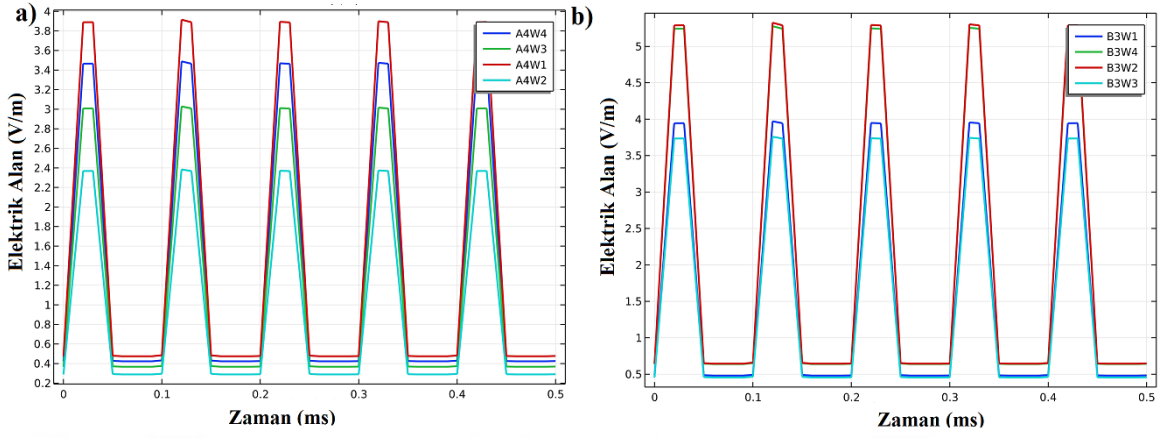
Şekil 4.16’de üçgen dalga altında DRG hücreleri üzerindeki elektrik alan ve potansiyel dağılımı levha üzerinde değişik noktalarda görülmektedir.



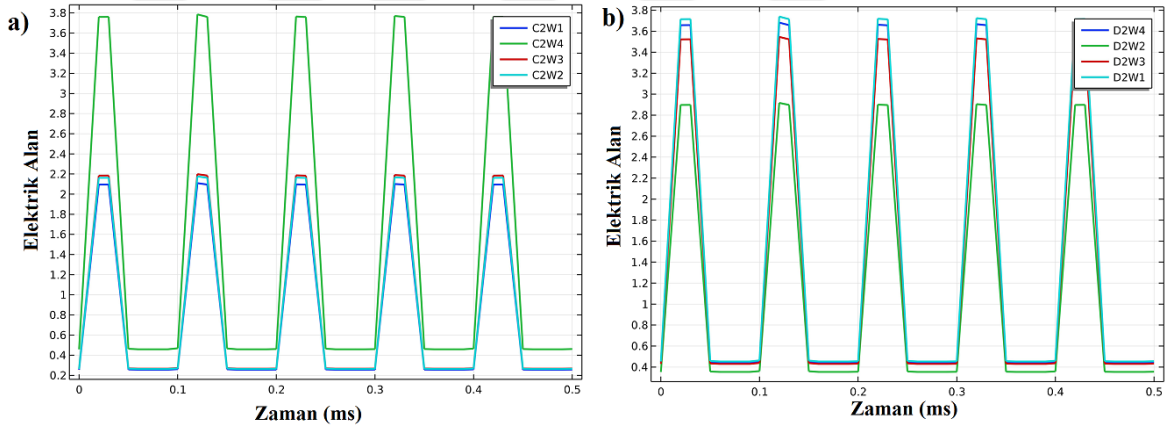
**Şekil 4.16:** Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan (a) ve Potansiyel Dağılımı (b).

DRG sinir dikey sıra, yatay sıra ve sinir hücresi numarasına göre kodlanmıştır (Örneğin B3W2 kodu B sırası üçüncü sütun ve ikinci hücreyi temsil etmektedir.). Şekil 4.17, Şekil 4.18 ve Şekil 4.19’de belirgin morfolojik uzama tespit edilen hücrelerin üzerindeki zamana bağlı

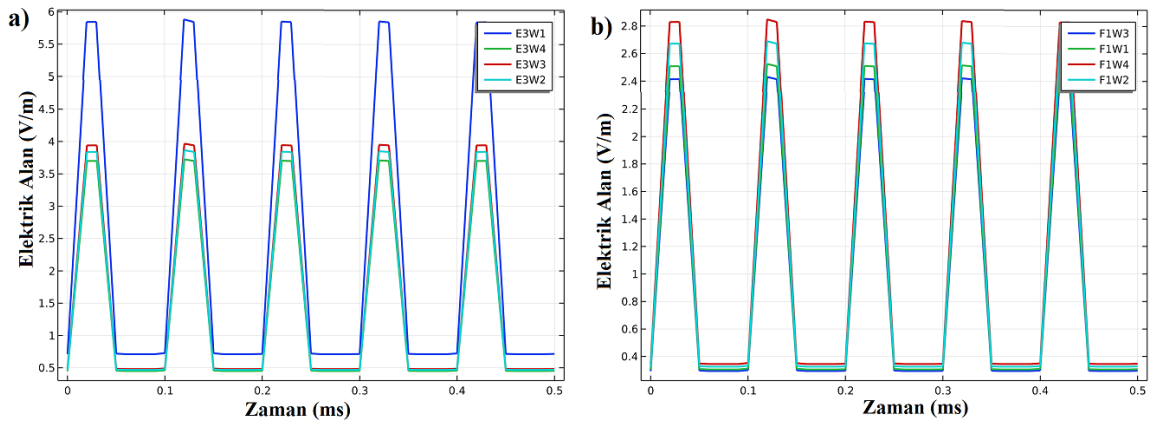
elektrik alan değerleri verilmiştir. Bu hücresellerin bulunduğu petri kapları sırasıyla A4, B3, C2, D2, E3 ve F1 olarak (her sırayı tarayacak şekilde) seçilmiştir.



Şekil 4.17: Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) A4 Sırası, b) B3 Sırası.

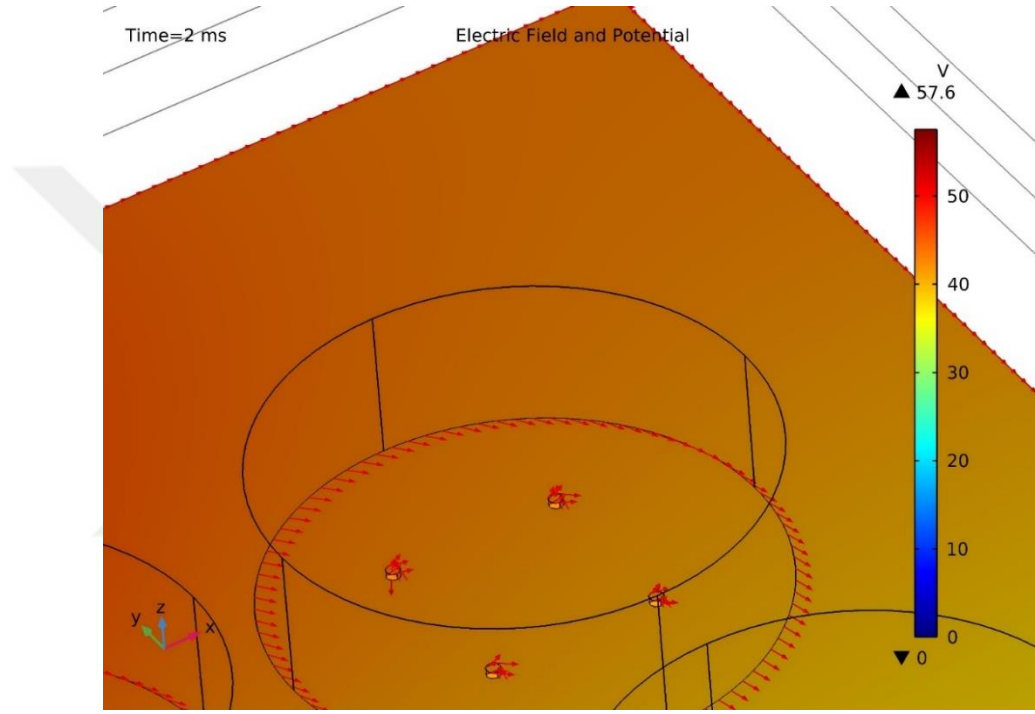


Şekil 4.18: Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) C2 Sırası, b) D2 Sırası.

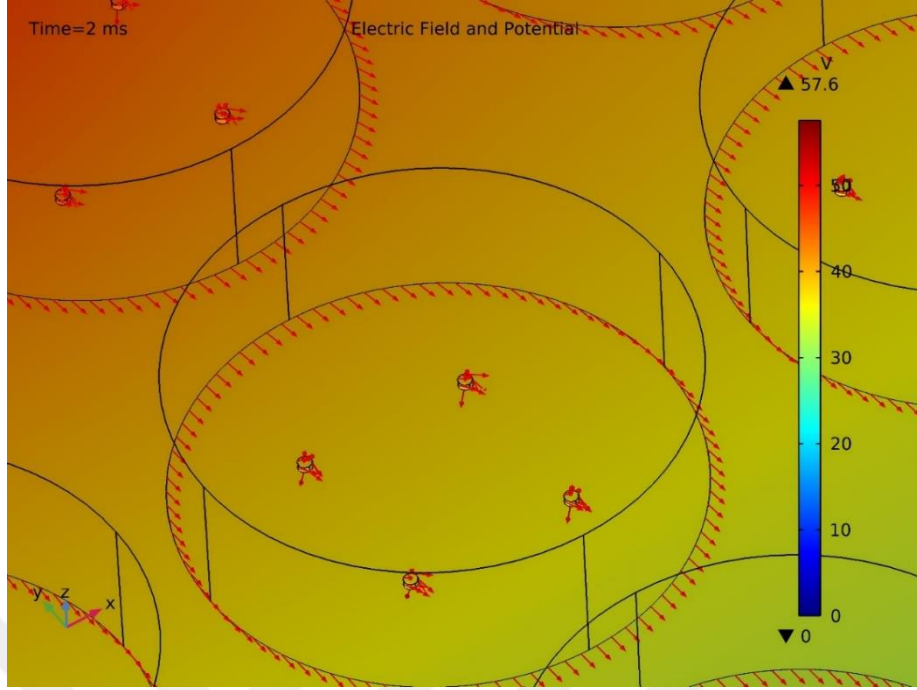


Şekil 4.19: Üçgen Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) E3 Sırası, b) F1 Sırası.

Üçgen dalga şekilleri incelendiğinde beklenin aksine en yüksek alan değerleri B ve E sırasında tespit edilmiştir. W2 ve W4 hücreleri en yüksek alan değerlerini almıştır. Üçgen formundaki bozulma (tepe noktasındaki kırpma) hücrelerin alan maruziyetini etkilemektedir. Bakır levhanın besleme noktalarına yakın sıralar (A ve F) yeterince iyi alan değerleri yakalayamamıştır. Şekil 4.20 - Şekil 4.25 arasında verilen şekiller hücresel bazda üçgen dalga altında elektrik alan çizgilerinin dağılımını, yönlendmesini ve etkinliğini göstermektedir.

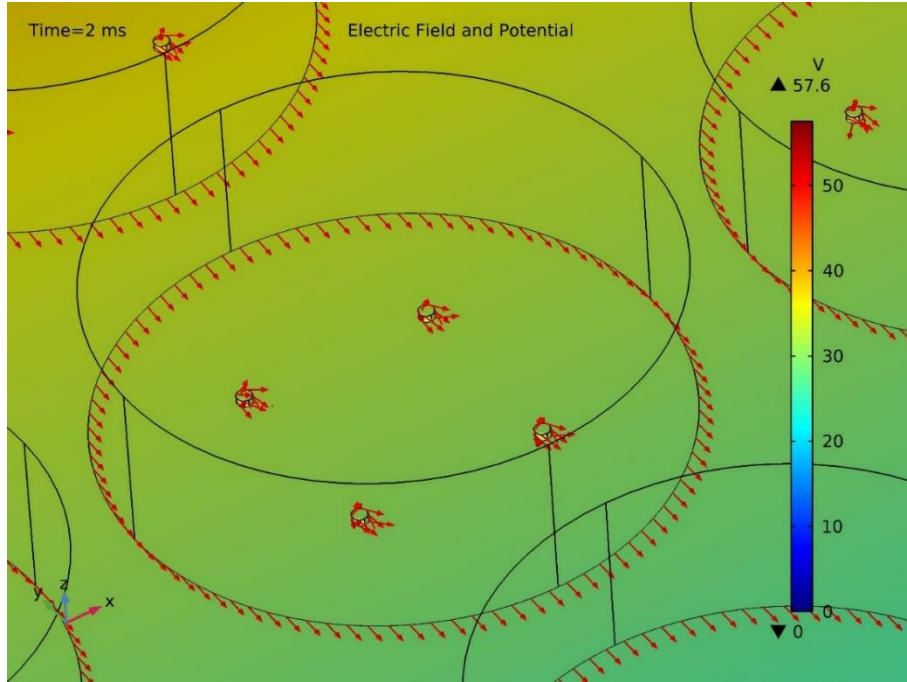


**Şekil 4.20:** Üçgen Dalga Altında A4 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

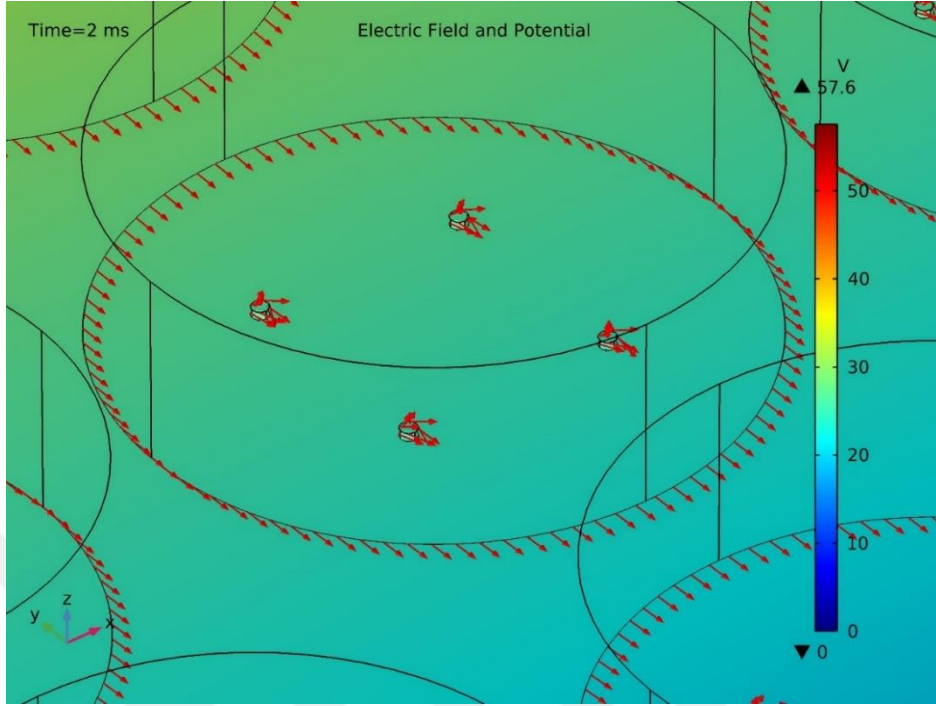


**Şekil 4.21:** Üçgen Dalga Altında B3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

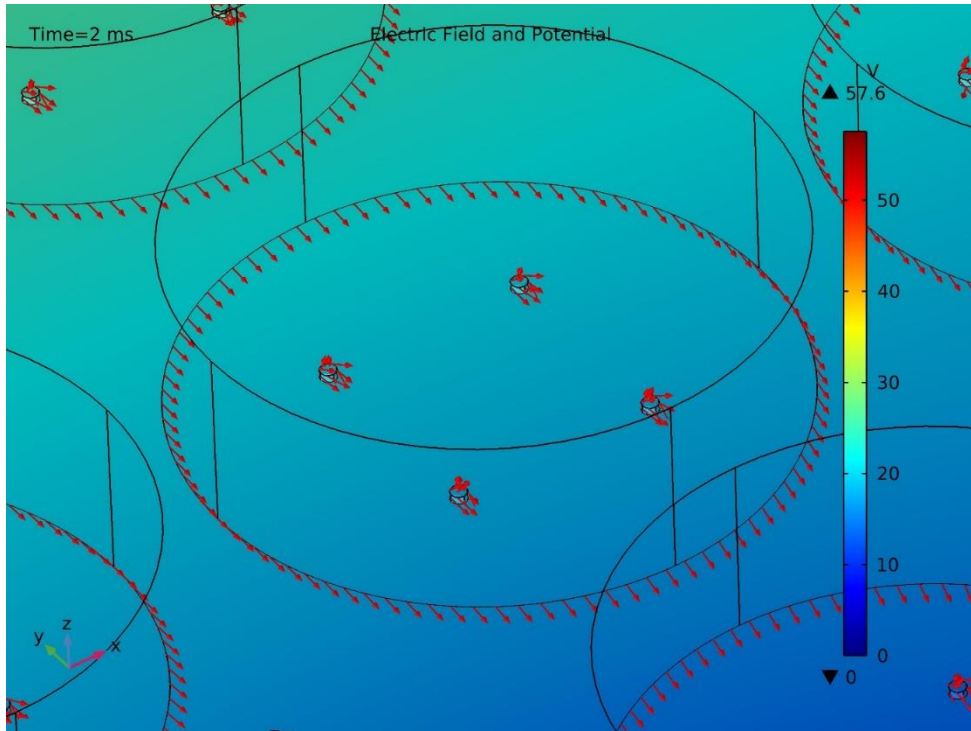
Şekil 4.21’de verilen analizden görülebileceği gibi B3 sırasındaki hücreler özellikle W2 en yüksek elektrik alan değerini ve çok yönlü alan çizgilerini sağlamaktadır. Ayrıca Şekil 4.18’de verilen yüksek alan değeri ile uyumludur.



**Şekil 4.22:** Üçgen Dalga Altında C2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

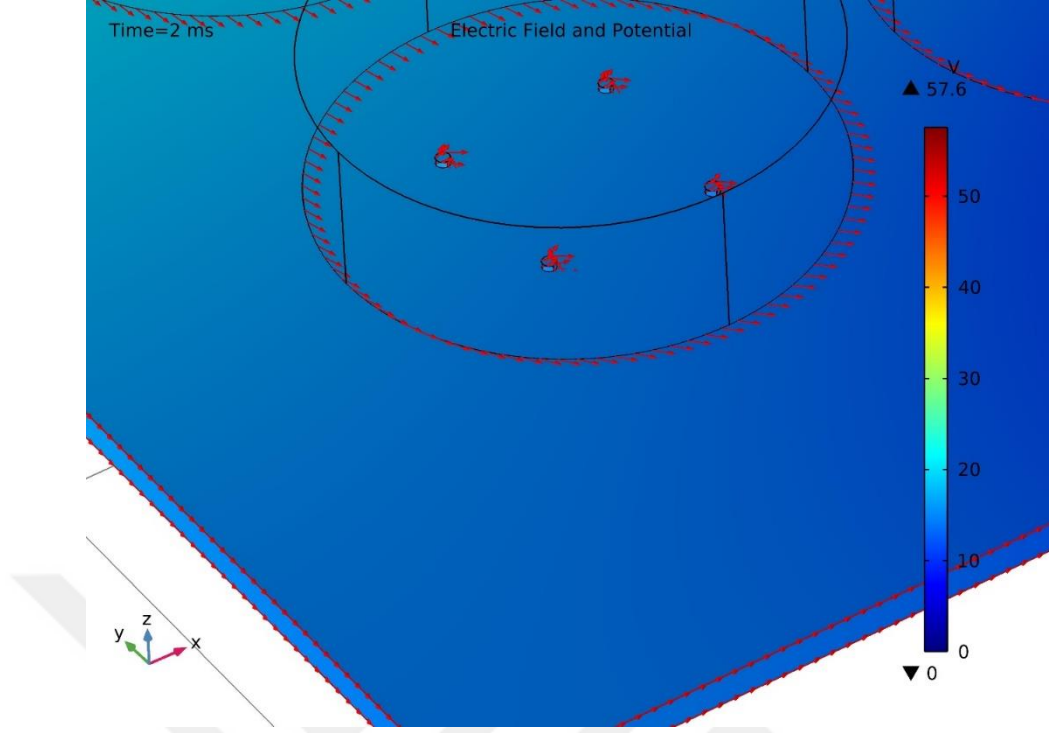


Şekil 4.23: Üçgen Dalga Altında D2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



Şekil 4.24: Üçgen Dalga Altında E3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

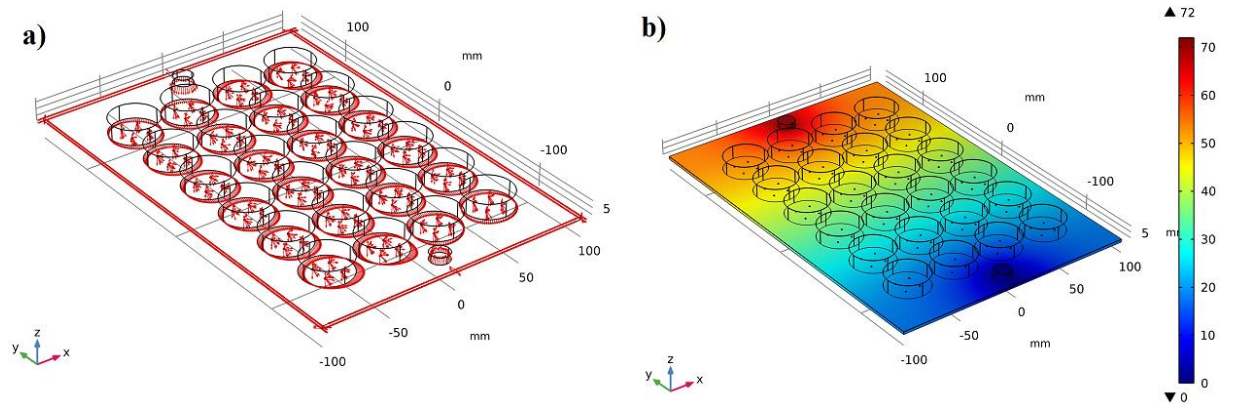




**Şekil 4.25:** Üçgen Dalga Altında F1 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

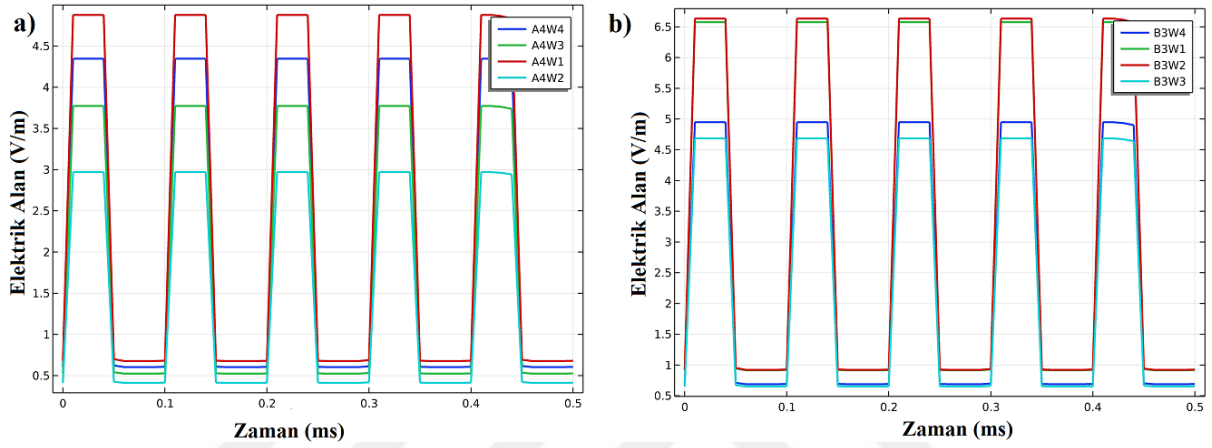
#### 4.3.2 KD Altında DRG Hücreleri Benzetim sonuçları

Şekil 4.26’de kare dalga altında DRG hücreleri üzerindeki elektrik alan ve potansiyel dağılımı levha üzerinde değişik noktalar için verilmiştir.

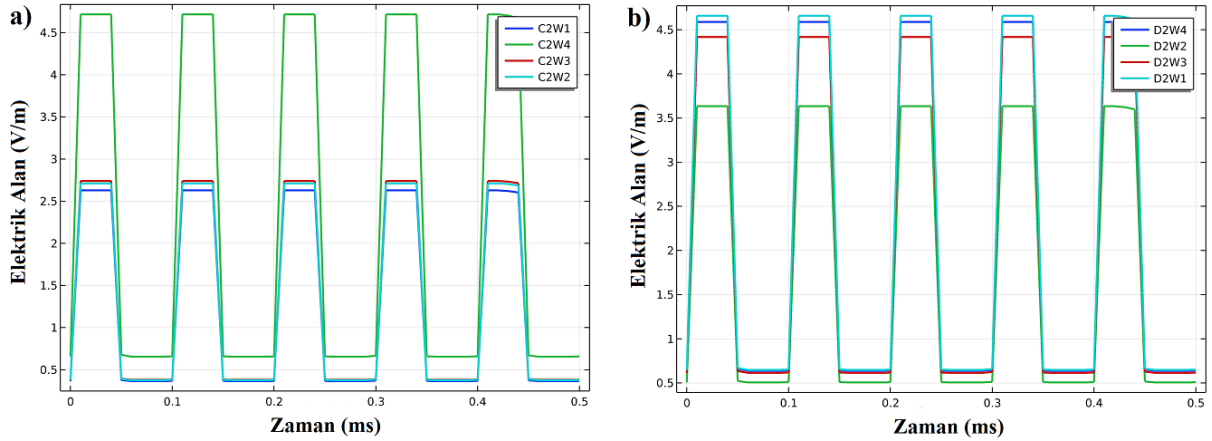


**Şekil 4.26:** Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan (a) ve Potansiyel Dağılımı (b).

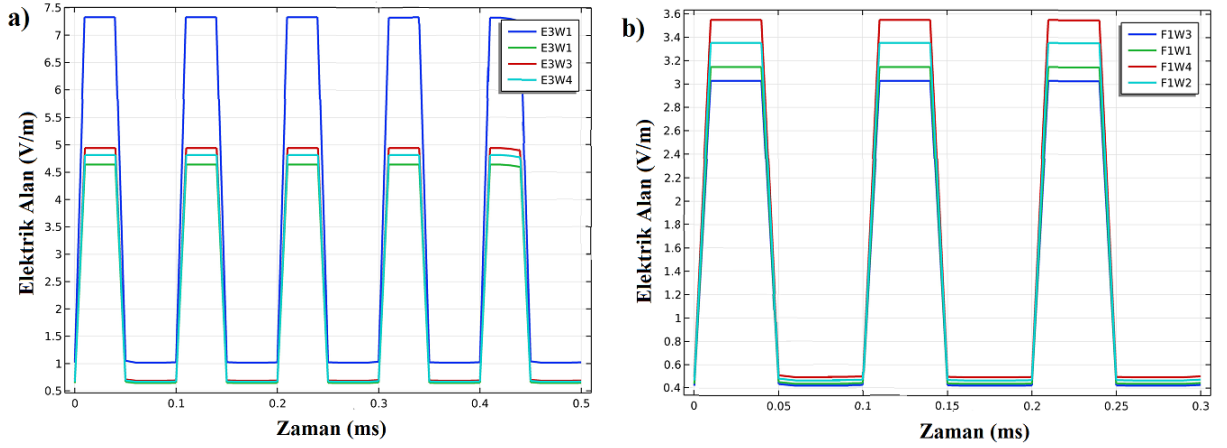
Şekil 4.27, 4.28 ve 4.29’da belirgin morfolojik uzama tespit edilen hücrelerin bulunduğu petri kapları (A4, B3, C2, D2, E3 ve F1) için kare dalga altında elektrik alan değerleri verilmiştir. Genel olarak kare dalga formunda elde edilen bulgular üçgen dalga ile karşılaştırıldığında dalga formunda kırpma olmadığı için daha iyi sonuçlar vermiştir. Elektrik alan değerleri daha yüksek değerler (6.5V/m) almıştır. Üçgen dalgaya benzer şekilde en iyi sıralar B ve E olarak görülmüştür. Ayrıca morfolojik olarak yapılan incelemelerde en çok başarımlı gösteren hücrelerin benzetim sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.



Şekil 4.27: Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) A4 Sırası, b) B3 Sırası.

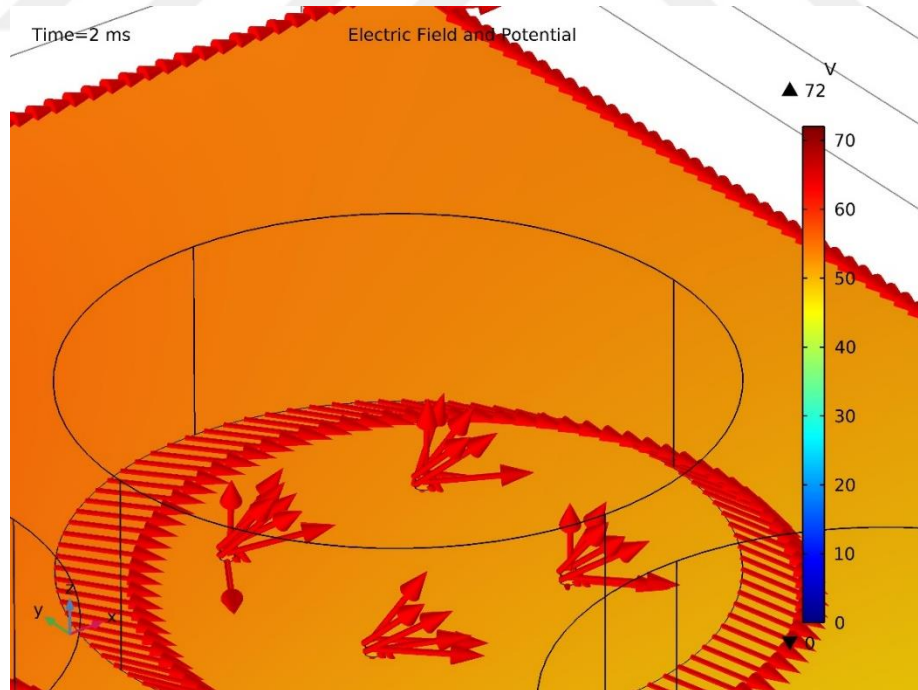


Şekil 4.28: Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) C2 Sırası, b) D2 Sırası.



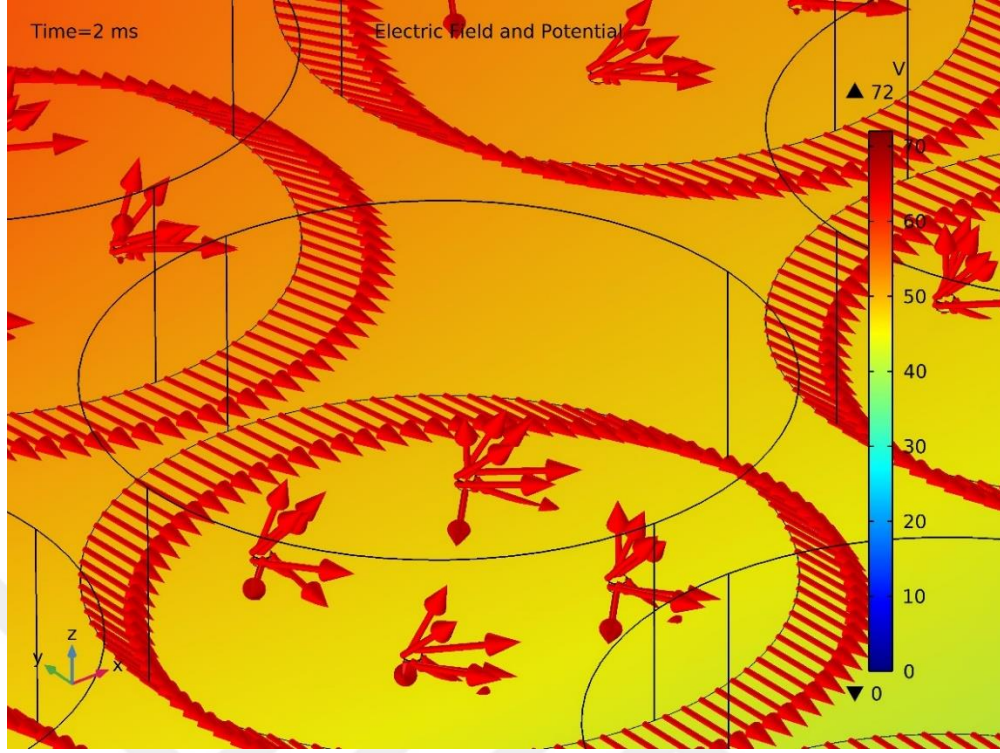
**Şekil 4.29:** Kare Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) E3 Sırası, b) F1 Sırası.

Şekil 4.30 - Şekil 4.35 arasında verilen şekiller hücre bazda kare dalga altında elektrik alan çizgilerinin dağılımını, yönlenmesini ve etkinliğini göstermektedir. Kare dalga formlarında hücrelerin üzerindeki alan çizgilerinin üçgen dalgaya göre daha yoğun ve etkin olduğu görülmektedir.

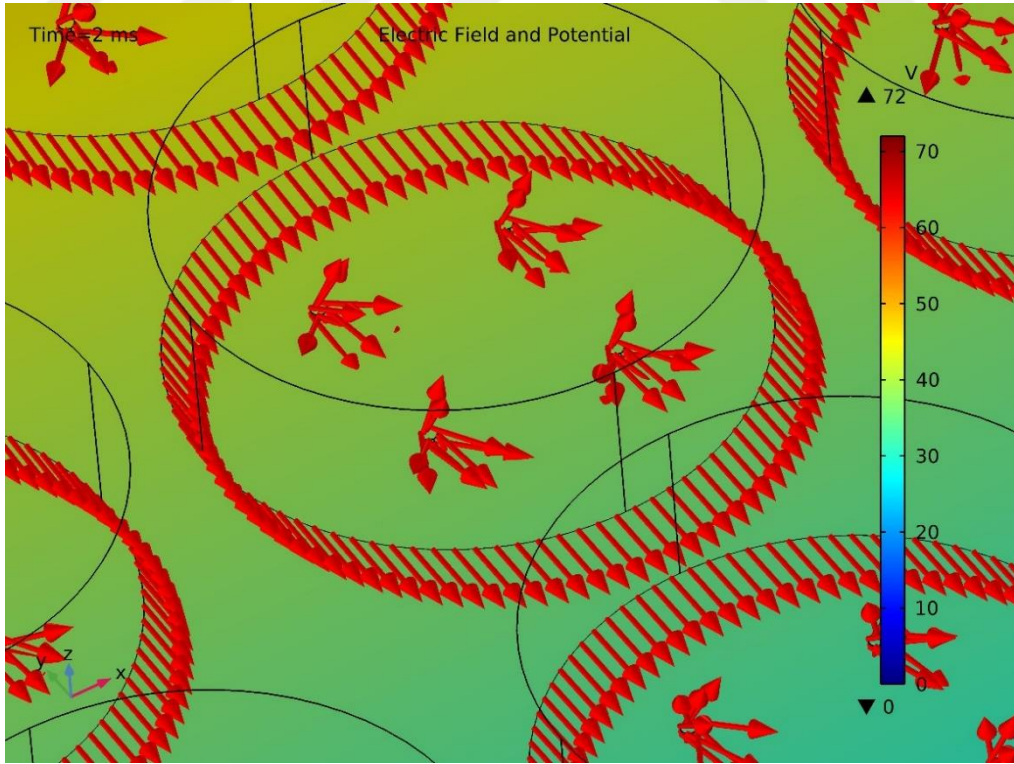


**Şekil 4.30:** Kare Dalga Altında A4 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

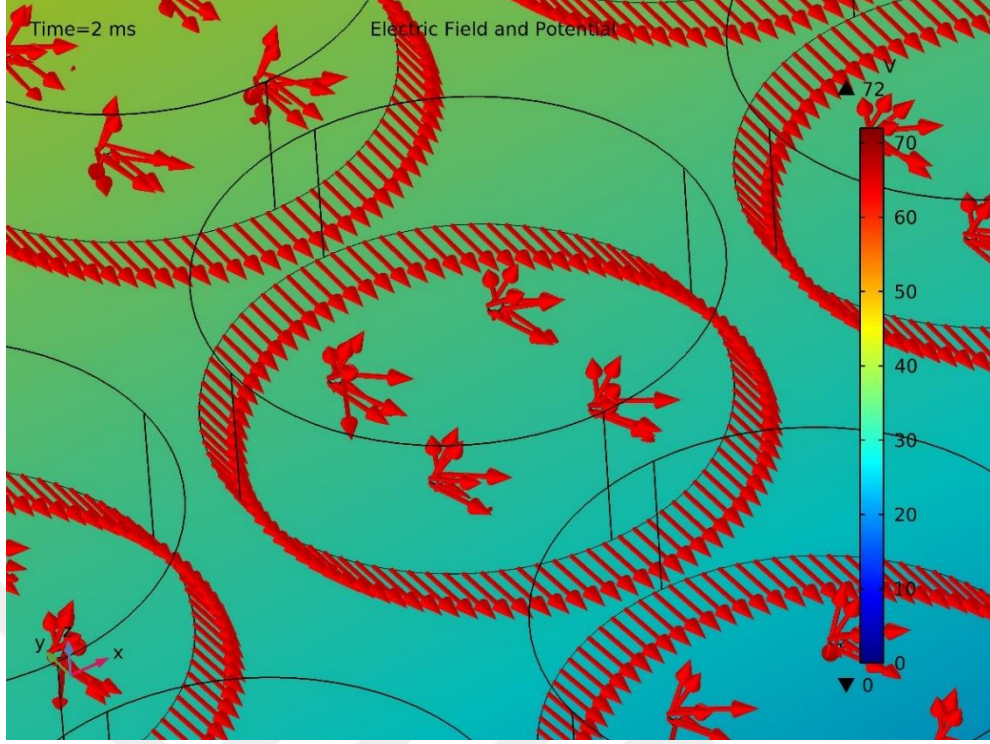




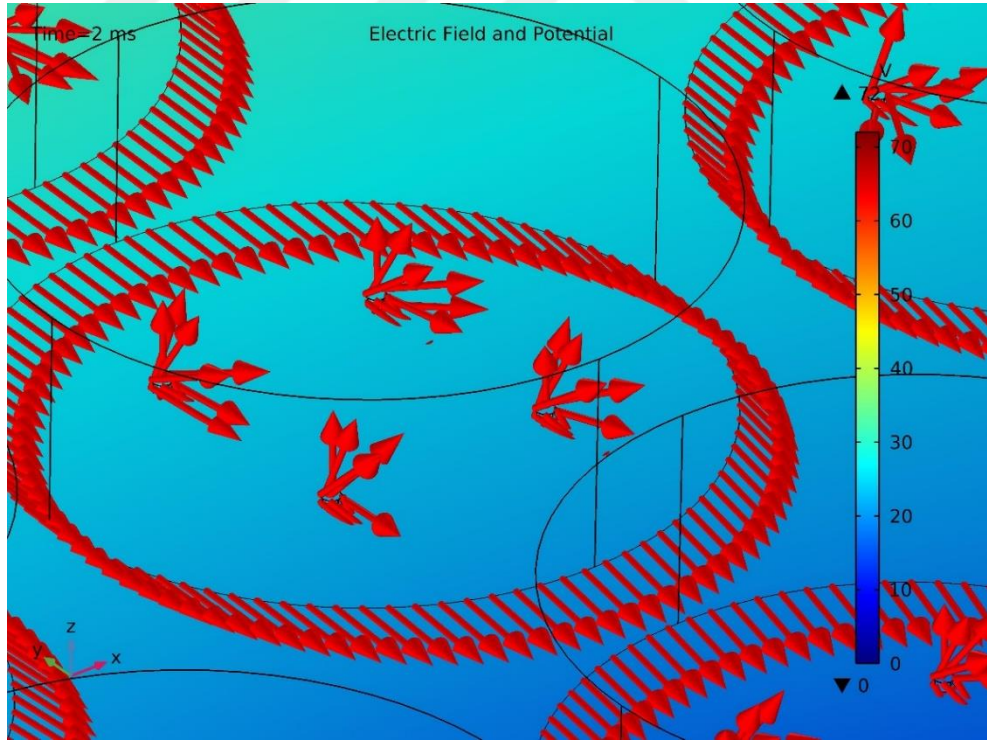
**Şekil 4.31:** Kare Dalga Altında B3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



**Şekil 4.32:** Kare Dalga Altında C2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

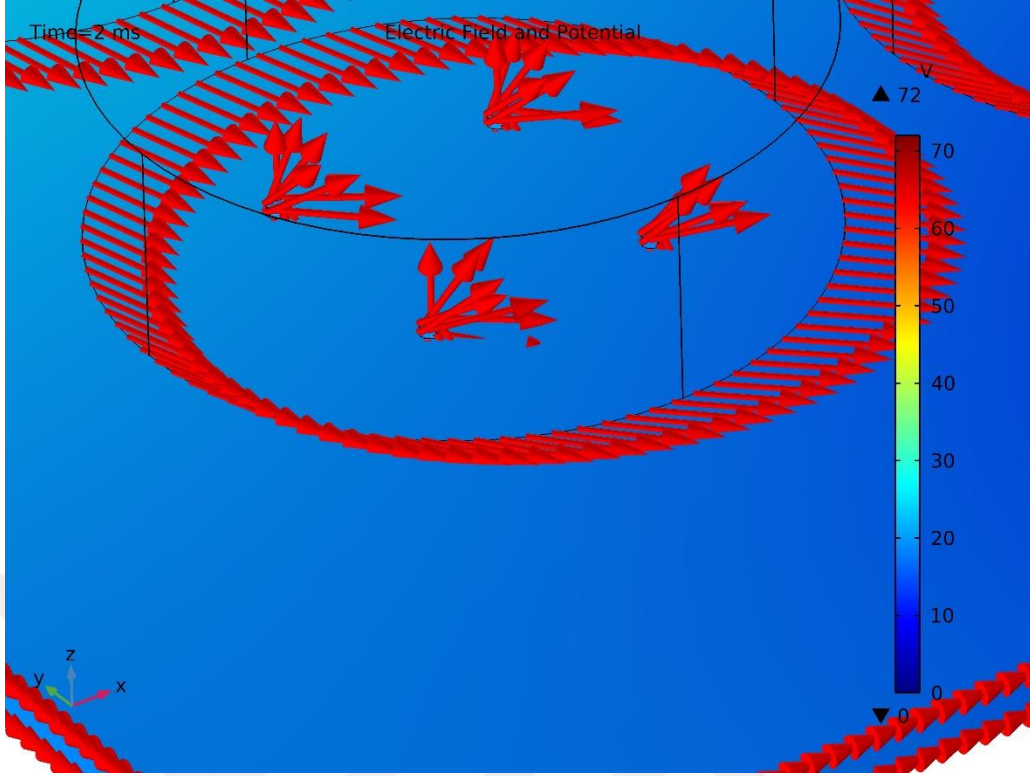


**Şekil 4.33:** Kare Dalga Altında D2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



**Şekil 4.34:** Kare Dalga Altında E3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



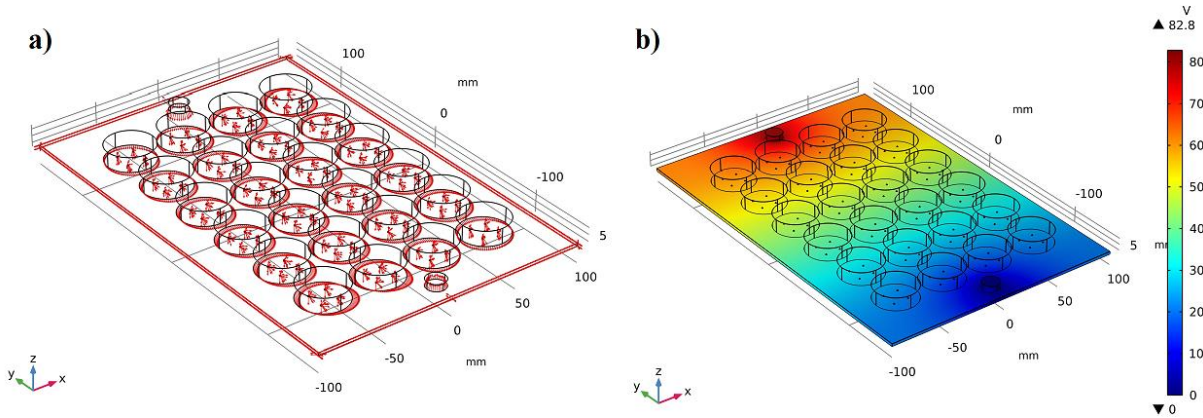


**Şekil 4.35:** Kare Dalga Altında F1 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

Şekiller incelendiğinde B3 ve E3 sırasındaki hücreler üzerinde kare dalga formunda en yüksek elektrik alan değerleri ve çok yönlü alan çizgileri görülmektedir. Alan çizgilerinin sıklığı ve değerleri sinir hücresi uzamaları ile uyumludur.

#### 4.3.3 TD Altında DRG Hücreleri Benzetim sonuçları

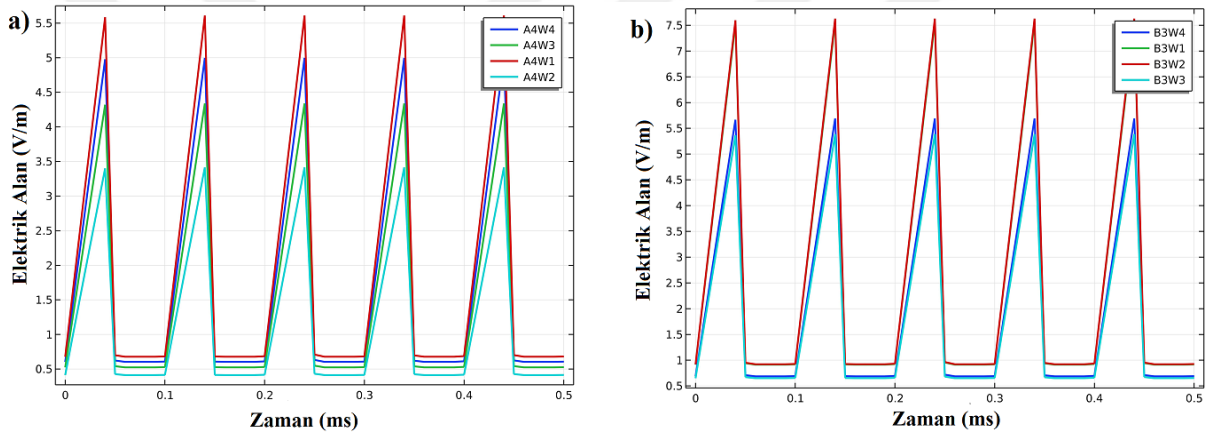
Şekil 4.28’de testere dişi dalga altında DRG hücreleri üzerindeki elektrik alan ve potansiyel dağılımı levha üzerinde değişik noktalar için verilmiştir.



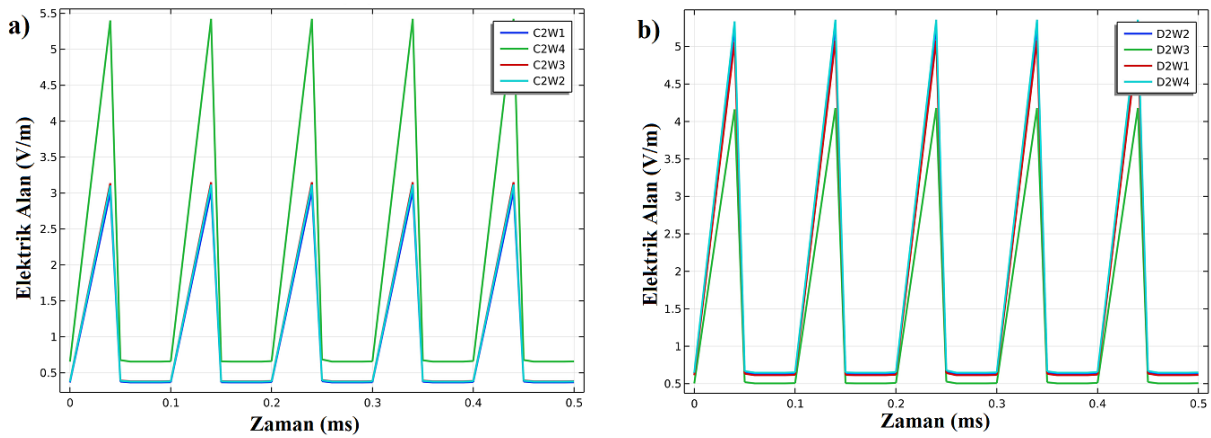
**Şekil 4.36:** Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan (a) ve Potansiyel Dağılımı (b).

Şekil 4.37, 4.38 ve 4.39’da belirgin morfolojik uzama tespit edilen hücrelerin bulunduğu petri kapları (A4, B3, C2, D2, E3 ve F1) için testere dişi dalga altında elektrik alan değerleri verilmiştir. Testere dişi dalgada maksimum noktasında üçgen dalga gibi bir kesilme olmadığı için daha iyi sonuçlar alınmıştır. Bu durum elektrik alan grafiklerinden görülmektedir.

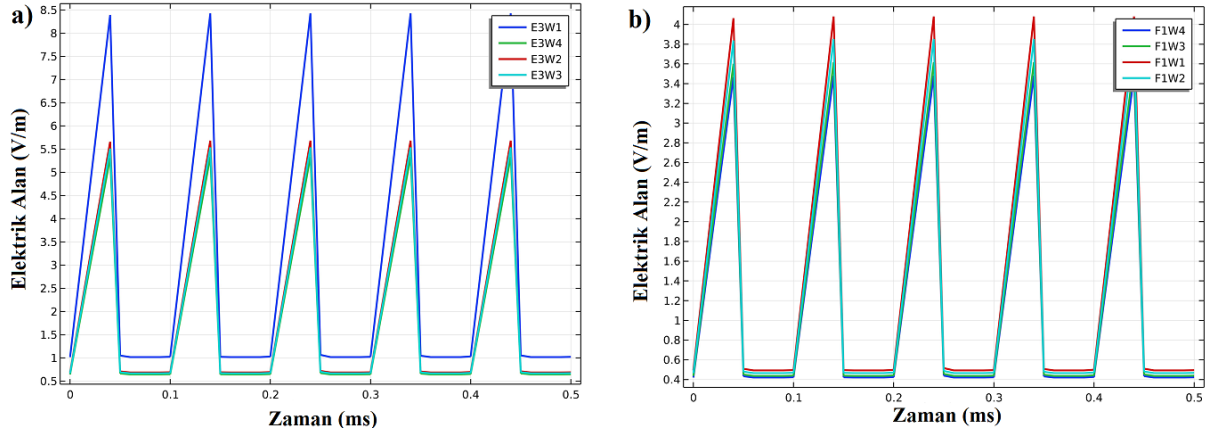
Testere dişi dalganın hem potansiyel hem de elektrik alan değerlerinin maksimum olduğu nokta en yüksektir. Sinir hücreleri bu noktaya ulaşabildikleri için yönelimleri daha uzundur. Dalgalarda negatif alternans olmadığından dolayı hücrelerin ulaştığı noktadan ters bir polarizasyona maruz kalarak eski konumuna dönmesi mümkün değildir. Yani hücre uzamaya başlayınca her maksimum noktasında bu hareketini devam ettirmeye çalışır. Bu durum elektrik alanın artmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.37: Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) A4 Sırası, b) B3 Sırası.

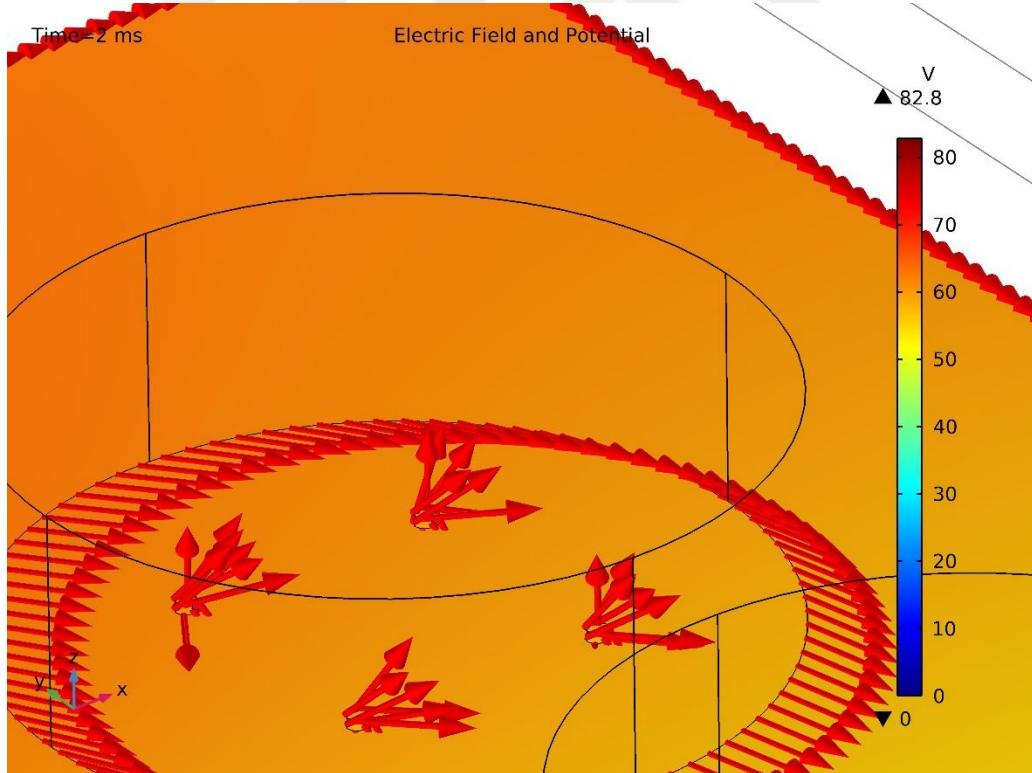


Şekil 4.38: Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) C2 Sırası, b) D2 Sırası.



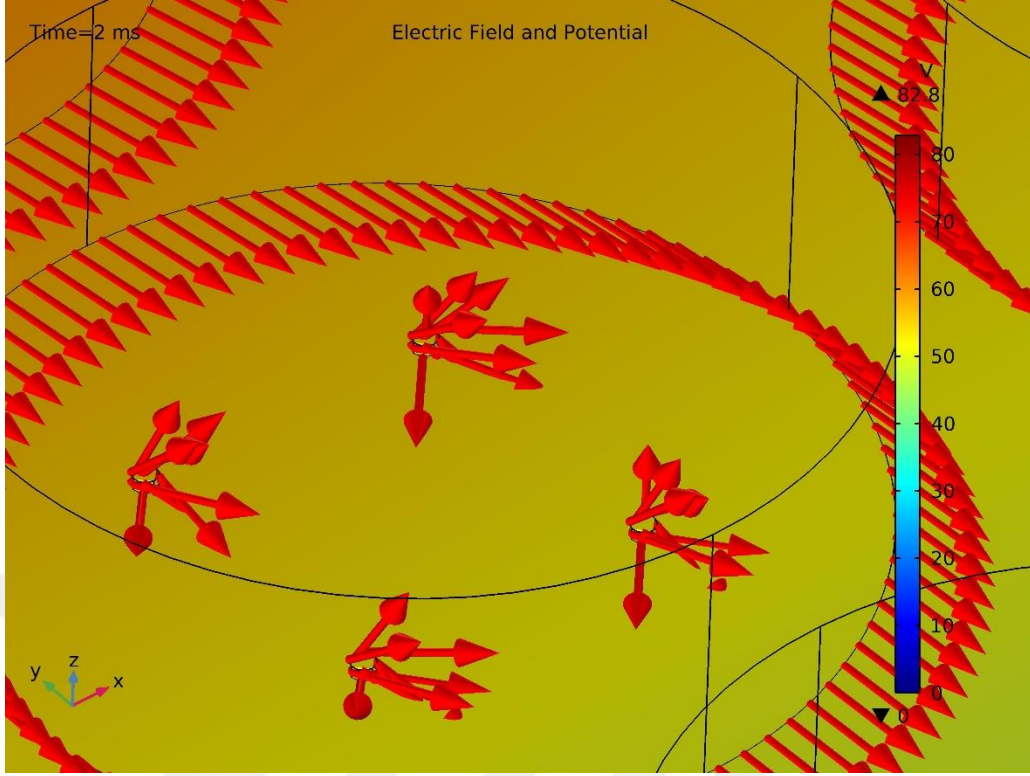
**Şekil 4.39:** Testere Dişi Dalga Altında DRG Hücreleri Üzerindeki Elektrik Alan Değerleri a) E3 Sırası, b) F1 Sırası.

Şekil 4.40 - Şekil 4.45 arasında verilen şekiller hüresel bazda testere dişi dalga altında elektrik alan çizgilerinin dağılımını, yönlendmesini ve etkinliğini göstermektedir. Testere dişi dalga formlarında hücrelerin üzerindeki alan çizgilerinin diğer dalga formlarına göre daha yoğun ve etkin olduğu görülmektedir.

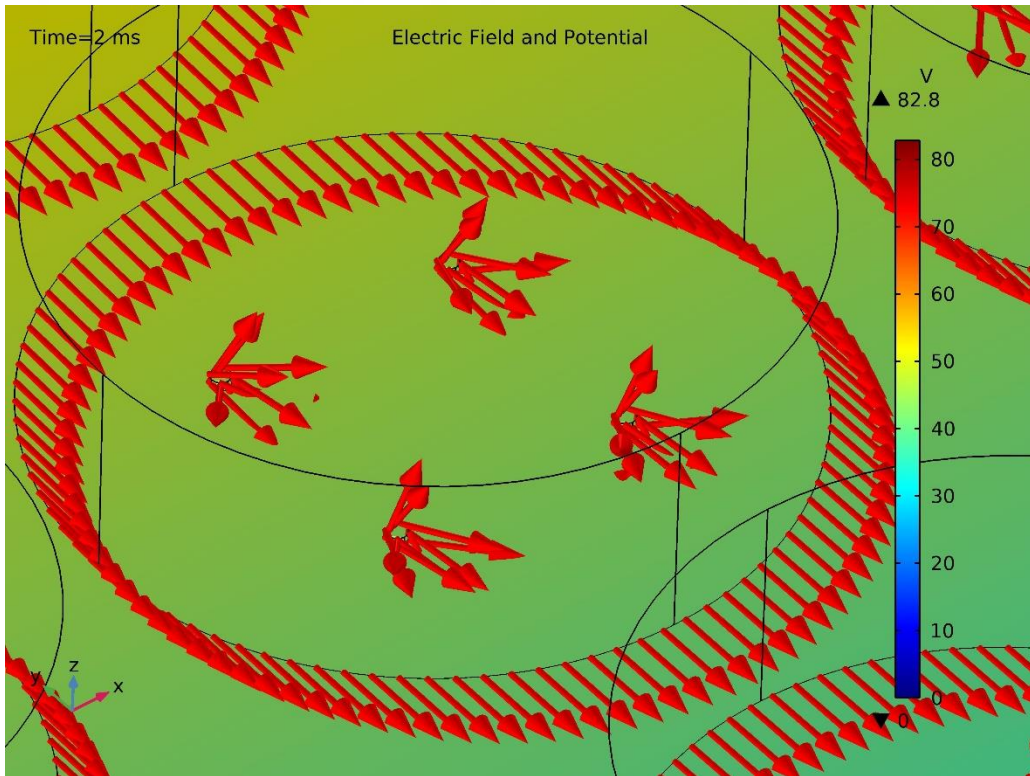


**Şekil 4.40:** Testere Dişi Dalga Altında A4 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

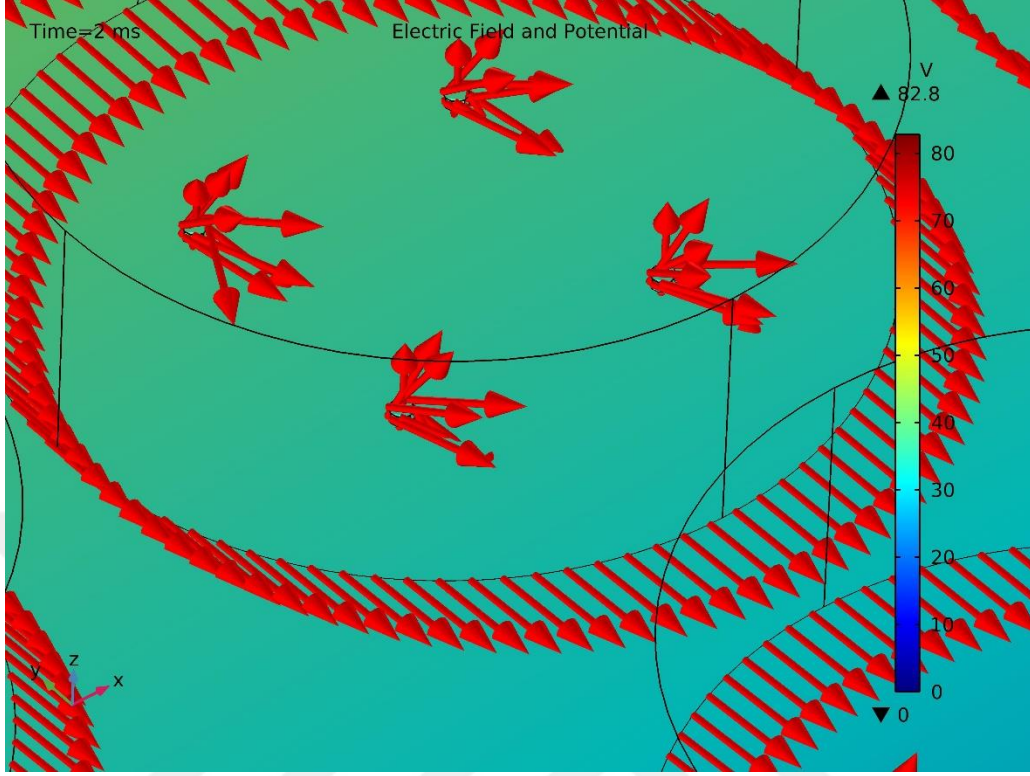




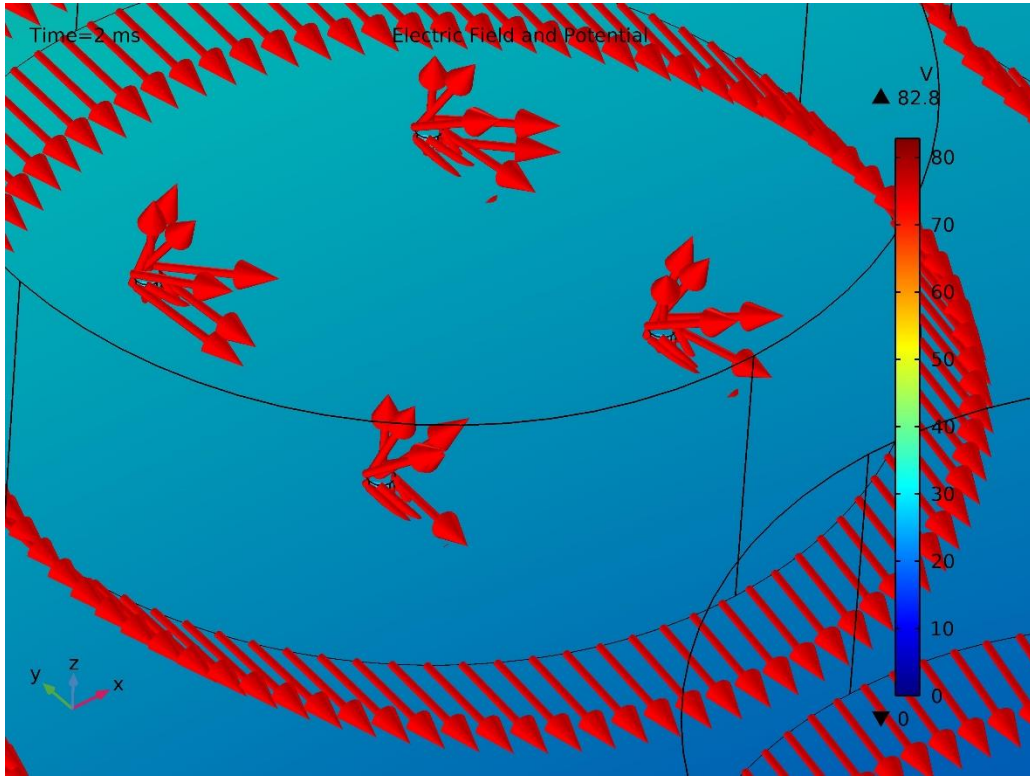
**Şekil 4.41:** Testere Dişi Dalga Altında B3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



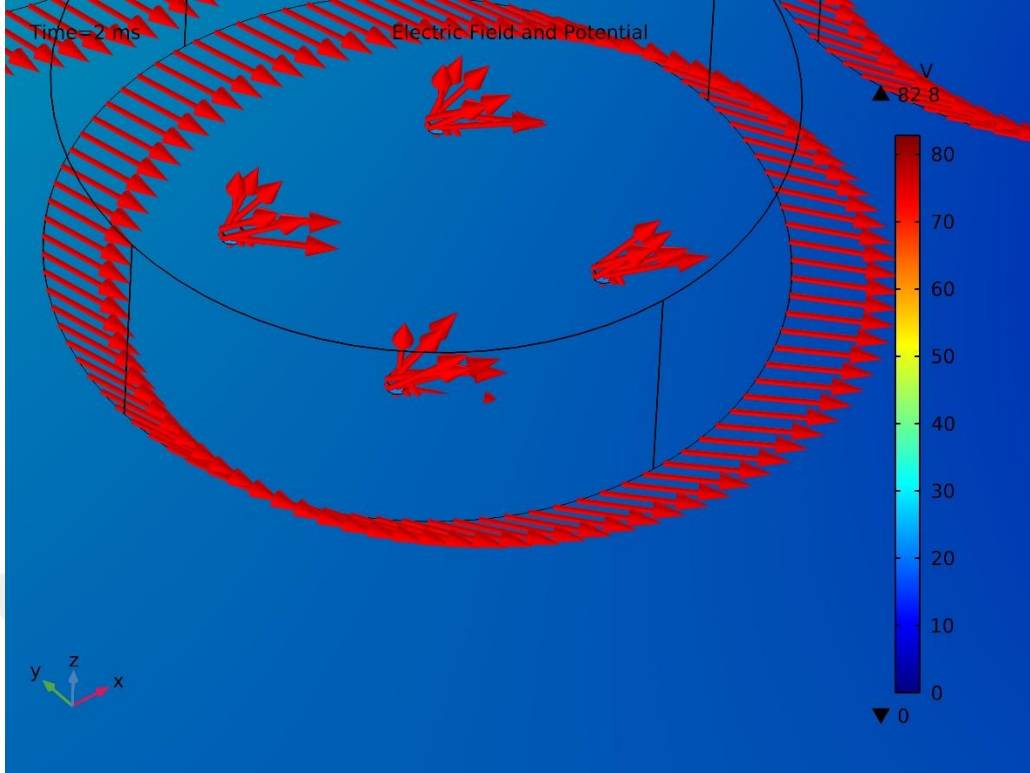
**Şekil 4.42:** Testere Dişi Dalga Altında C2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



**Şekil 4.43:** Testere Dişi Dalga Altında D2 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



**Şekil 4.44:** Testere Dişi Dalga Altında E3 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.



**Şekil 4.45:** Testere Dişi Dalga Altında F1 Sırası Petri Kabındaki DRG Hücrelerinin Üzerindeki Elektrik Alan Çizgileri.

Şekiller incelendiğinde B3 ve E3 sırasındaki hücreler üzerinde testere dişi dalga formunda en yüksek elektrik alan değerleri ve çok yönlü alan çizgileri görülmektedir. Alan çizgilerinin sıklığı ve değerleri sinir hücresi uzamaları ile uyumludur. En iyi DRG sinir hücresi uzamaları bu dalga formunda görülmüştür ve benzetim sonuçları bu durumu desteklemektedir.



## 5. TARTIŞMA

Travmatik omurilik yaralanması (SCI), tipik olarak, omurgaya doğrudan mekanik etkinin sonucudur ve omurların kırılmasına ve/veya yerinden çıkmasına ve çevredeki yumuşak dokulara zarar verilmesine yol açar. Omuriliğin yaralanması, sinyallerin aksonal iletiminin bozulmasına neden olur. Bu birincil travma, hasarlı omurilikte nörodejenerasyonu ve sitotoksisiteyi sürdüren nöroinflamasyon gibi immünolojik tepkiler üreten ikincil yaralanmalara neden olur. Bugüne kadar, ikincil SCI gelişimini önleyecek ve omuriliği iyileştirmeyi ve nörolojik işlevi eski haline getirmeyi amaçlayan rejeneratif süreçleri indükleyen FDA onaylı bir farmakolojik ajan yoktur. Omurga devrelerini elektriksel olarak etkinleştirmek için alternatif bir yöntem, bozulmamış omurlar üzerinde invaziv olmayan bir elektromanyetik alan (EMF) uygulamasıdır.

Bu nörotravmadan sonra SCI hastasının tamamen iyileşmesi için bir tedavi yoktur. Bu hastalar, diğer ikincil komplikasyonlara yol açan devam eden ağrı ve hareketsizlikten sürekli olarak muzdariptir. Bununla birlikte, manyetik veya elektromanyetik alan (EMF), stimülasyon, in vitro ve in vivo olarak rejeneratif süreçleri aktive etme potansiyelini göstermiştir [79]. Farklı hayvanlarda hafif ila orta dereceli yaralanma SCI modellerinde lokomasyonu iyileştirdiği, kas kasılmasını ve ilgili özelliklerini iyileştirdiği, inflamasyonu ve oksidatif stresi [80] engellediği ve kas dejenerasyonunu sınırladığı, beyaz cevheri ve daha küçük lezyon hacmini sınırladığı bildirilmiştir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Benzetimlerde test düzeneğinde oluşturulan ve bakır levhaya verilen işaretler oluşturularak birebir olarak Comsol programı üzerinden sisteme girilmiştir. Bu sayede daha gerçekçi sonuçlar elde edilmiştir. Dalga şekilleri incelendiğinde beklenin aksine (A sırasının beslemeye en yakın olması nedeniyle) en yüksek alan değerleri B ve E sırasında tespit edilmiştir. Bu durum bakır levha üzerinde beslemeye yakın bölgelerdeki alan düzensizliği ile açıklanabilir. Üçgen formundaki bozulma (tepe noktasındaki kırpma) hücrelerin alan maruziyetini olumsuz etkilemektedir. Genel olarak kare dalga formunda elde edilen bulgular üçgen dalga ile karşılaştırıldığında dalga formunda kırpma olmadığı için daha iyi sonuçlar vermiştir. En iyi DRG sinir hücresi uzamaları testere dişi dalga formunda görülmüştür ve benzetim sonuçları bu durumu desteklemektedir. Ayrıca morfolojik olarak yapılan incelemelerde en çok başarımları gösteren hücrelerin benzetim sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Testere dişi dalgada maksimum noktada üçgen dalga gibi bir kesilme olmadığı için daha iyi sonuçlar alınmıştır. Testere dişi dalganın hem potansiyel hem de elektrik alan değerlerinin maksimum olduğu nokta en yüksektir. Sinir hücreleri bu noktaya ulaşabildikleri için yönelimleri daha uzundur. Dalgalarda negatif alternans olmadığından dolayı hücrelerin ulaştığı noktadan ters bir polarizasyona maruz kalarak eski konumuna dönememektedir. Yani hücre uzamaya başlayınca her maksimum noktada bu hareketini devam ettirmeye çalışır ve bu durum elektrik alanının artmasından kaynaklanmaktadır.

Bilgisayar simülasyonunun da gösterdiği gibi elektromanyetik alan her bölgede eşit ve aynı yönlü değildir. Nitekim sonuçlarda aynı çıkmamıştır. Buna rağmen PEMF uygulanmayan deney gruplarına kıyasla hem miktar hem yönlendirme bakımından ciddi farklılıklar göstermiştir. Buradan çıkartmış olduğumuz sonuç manyetik alanın da sinir hücreleri üzerinde kayda değer bir etkisi olduğudur. Hatta uygulanan gerilim seviyesi, frekansı gibi sinyal özellikleri değiştirildiği takdirde aynı bölgelerde farklı yönlendirmeler gözlemlenebilecektir.

Sonuç olarak sinir hücrelerinin uzaması için önerilen bakır levhalı sistemin yeterince iyi sonuçlar verdiği, alan değerine ve uygulanan dalga formuna bağlı olarak etkinliğinin arttığı görülmüştür. Ayrıca elektrik alan dağılımının düzgünlüğünün hücrelere etkisinin büyük olduğu anlaşılmıştır.

Sonraki çalışmalarda farklı tip ve şekillerde tasarlanmış iletken malzeme vasıtası ile uygulanacak PEMF'in sonuçlarının gözlemlenmesi tarafımızca önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] F. 'Turan, "Güç Sistemlerindeki Transformatörlerin Manyetik Alan Ekranlaması," 2019.
- [2] C. A. L. Bassett, R. J. Pawluk, and A. A. Pilla, "Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields," *Science (1979)*, vol. 184, no. 4136, pp. 575–577, 1974, doi: 10.1126/SCIENCE.184.4136.575.
- [3] R. B.-A. in neurology and undefined 1988, "Stimulation of neuronal regeneration and development by steady electrical fields," *pubmed.ncbi.nlm.nih.gov*
- [4] C. McCaig and A. Rajnicsek, "Electrical fields, nerve growth and nerve regeneration," *Experimental Physiology*, vol. 76, no. 4, pp. 473–494, Jul. 1991, doi: 10.1113/EXPPHYSIOL.1991.SP003514.
- [5] R. B. Borgens, A. R. Blight, and M. E. McGinnis, "Functional recovery after spinal cord hemisection in guinea pigs: The effects of applied electric fields," *Journal of Comparative Neurology*, vol. 296, no. 4, pp. 634–653, 1990, doi: 10.1002/CNE.902960409.
- [6] R. Borgens, D. B.-E. neurology, and undefined 1997, "The responses of mammalian spinal axons to an applied DC voltage gradient," *Elsevier*
- [7] L. F. Jaffe and M. -M Poo, "Neurites grow faster towards the cathode than the anode in a steady field," *Journal of Experimental Zoology*, vol. 209, no. 1, pp. 115–127, 1979, doi: 10.1002/JEZ.1402090114.
- [8] J. Kerns, A. Fakhouri, H. Weinrib, J. F.- Neuroscience, and undefined 1991, "Electrical stimulation of nerve regeneration in the rat: the early effects evaluated by a vibrating probe and electron microscopy,"
- [9] C. McCaig, "Electric fields, contact guidance and the direction of nerve growth," 1986
- [10] C. B.-O. C. of N. America and undefined 1984, "The development and application of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) for ununited fractures and arthrodeses," *Elsevier*
- [11] C. A. L. Bassett, R. J. Pawluk, and A. A. Pilla, "Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields," *Science (1979)*, vol. 184, no. 4136, pp. 575–577, 1974, doi: 10.1126/SCIENCE.184.4136.575.
- [12] D. R. Godley, "Nonunited carpal scaphoid fracture in a child: Treatment with pulsed electromagnetic field stimulation," *Orthopedics*, vol. 20, no. 8, pp. 718–719, 1997, doi: 10.3928/0147-7447-19970801-14.

- [13] V. Ottani, V. de Pasquale, P. Govoni, M. Franchi, A. Ruggeri, and P. Zaniol, “Effects of pulsed extremely-low-frequency magnetic fields on skin wounds in the rat,” *Bioelectromagnetics*, vol. 9, no. 1, pp. 53–62, 1988, doi: 10.1002/BEM.2250090105.
- [14] G. P. A. 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, no. 1, pp. 37–46, 1988, doi: 10.1002/JCP.1041340105.
- [15] B. Greenebaum *et al.*, “Effects of Pulsed Magnetic Fields on Neurite Outgrowth From Chick Embryo Dorsal Root Ganglia\*,” *Bioelectromagnetics*, vol. 1, p. 996, doi: 10.1002/(SICI)1521-186X(1996)17:4.
- [16] M. Subramanian, C. H. Sutton, B. Greenebaum, and B. F. Sisken, “Interaction of electromagnetic fields and nerve growth factor on nerve regeneration in vitro,” *Electromagnetics in Medicine and Biology*. San Francisco Press, Inc., San Francisco, 1991.
- [17] J. Battocletti, M. Macias, ... F. P.-I. transactions on, and undefined 2000, “A box coil for the stimulation of biological tissue and cells in vitro and in vivo by pulsed magnetic fields,” *ieeexplore.ieee.org*
- [18] C. L. Ross, I. Syed, T. L. Smith, and B. S. Harrison, “The regenerative effects of electromagnetic field on spinal cord injury,” *Electromagnetic Biology and Medicine*, vol. 36, no. 1, pp. 74–87, Jan. 2017, doi: 10.3109/15368378.2016.1160408.
- [19] M. L.-C. L. L. in Neurology and undefined 2011, “Spinal cord injury,” *journals.lww.com*
- [20] J. W. Austin, M. Afshar, and M. G. Fehlings, “The relationship between localized subarachnoid inflammation and parenchymal pathophysiology after spinal cord injury,” *Journal of Neurotrauma*, vol. 29, no. 10, pp. 1838–1849, Jul. 2012, doi: 10.1089/NEU.2012.2354.
- [21] F. Bareyre, M. S.-T. in neurosciences, and undefined 2003, “Inflammation, degeneration and regeneration in the injured spinal cord: insights from DNA microarrays,” *Elsevier*
- [22] J. Bethea, D. D.-C. opinion in neurology, and undefined 2002, “Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury,” *journals.lww.com*
- [23] T. Jones, ... E. M.-C. pharmaceutical, and undefined 2005, “Inflammatory-mediated injury and repair in the traumatically injured spinal cord,” *ingentaconnect.com*, 2014, doi: 10.2174/1381612053507468.
- [24] J. O.-A. of the N. Y. A. of Sciences and undefined 2010, “Immune response by microglia in the spinal cord,” *Wiley Online Library*, vol. 1198, pp. 271–278, 2010, doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05536.x.
- [25] V. Patel, E. Burger, and C. Brown, “Spine trauma: surgical techniques,” 2010

- [26] D. Donnelly, P. P.-E. neurology, and undefined 2008, "Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury," *Elsevier*
- [27] A. Greenhalgh, S. D.-J. of Neuroscience, and undefined 2014, "Differences in the phagocytic response of microglia and peripheral macrophages after spinal cord injury and its effects on cell death," *Soc Neuroscience*, 2014, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4912-13.2014.
- [28] Y. M. Yuan and C. He, "The glial scar in spinal cord injury and repair," *Neuroscience Bulletin*, vol. 29, no. 4, pp. 421–435, Aug. 2013, doi: 10.1007/S12264-013-1358-3.
- [29] J. Silver, J. M.-N. reviews neuroscience, and undefined 2004, "Regeneration beyond the glial scar," *nature.com*, 2004, doi: 10.1038/nrn1326.
- [30] M. J. DeVivo, B. K. Go, and A. B. Jackson, "Overview of the national spinal cord injury statistical center database," *J Spinal Cord Med*, vol. 25, no. 4, pp. 335–338, 2002.
- [31] R. P. Bunge, W. R. Puckett, J. L. Becerra, A. Marcillo, and R. M. Quencer, "Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination," *Adv Neurol*, vol. 59, pp. 75–89, 1993.
- [32] S. C. Cramer, L. Lastra, M. G. Lacourse, and M. J. Cohen, "Brain motor system function after chronic, complete spinal cord injury," *Brain*, vol. 128, no. 12, pp. 2941–2950, 2005.
- [33] N. A. Silva, N. Sousa, R. L. Reis, and A. J. Salgado, "From basics to clinical: a comprehensive review on spinal cord injury," *Prog Neurobiol*, vol. 114, pp. 25–57, 2014.
- [34] F. M. Bareyre and M. E. Schwab, "Inflammation, degeneration and regeneration in the injured spinal cord: insights from DNA microarrays," *Trends Neurosci*, vol. 26, no. 10, pp. 555–563, 2003.
- [35] C. H. Tator, "Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects.," *Neuro-chirurgie*, vol. 37, no. 5, pp. 291–302, 1991.
- [36] C. H. Tator and M. G. Fehlings, "Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms," *J Neurosurg*, vol. 75, no. 1, pp. 15–26, 1991.
- [37] M. Toborek, A. Malecki, R. Garrido, M. P. Mattson, B. Hennig, and B. Young, "Arachidonic acid-induced oxidative injury to cultured spinal cord neurons," *J Neurochem*, vol. 73, no. 2, pp. 684–692, 1999.
- [38] A. N. Sandler and C. H. Tator, "Review of the effect of spinal cord trauma on the vessels and blood flow in the spinal cord," *J Neurosurg*, vol. 45, no. 6, pp. 638–646, 1976.

- [39] J. H. Goodman, W. G. Bingham, and W. E. Hunt, "Platelet aggregation in experimental spinal cord injury: ultrastructural observations," *Arch Neurol*, vol. 36, no. 4, pp. 197–201, 1979.
- [40] M. S. Beattie, A. A. Farooqui, and J. C. BRESNAHAN, "Review of current evidence for apoptosis after spinal cord injury," *J Neurotrauma*, vol. 17, no. 10, pp. 915–925, 2000.
- [41] P. G. Popovich, P. Wei, and B. T. Stokes, "Cellular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague-Dawley and Lewis rats," *Journal of comparative neurology*, vol. 377, no. 3, pp. 443–464, 1997.
- [42] P. J. Mabon, L. C. Weaver, and G. A. Dekaban, "Inhibition of monocyte/macrophage migration to a spinal cord injury site by an antibody to the integrin  $\alpha$ D: a potential new anti-inflammatory treatment," *Exp Neurol*, vol. 166, no. 1, pp. 52–64, 2000.
- [43] V. Gallo, A. Bertolotto, and G. Levi, "The proteoglycan chondroitin sulfate is present in a subpopulation of cultured astrocytes and in their precursors," *Dev Biol*, vol. 123, no. 1, pp. 282–285, 1987.
- [44] L. L. Jones, R. U. Margolis, and M. H. Tuszynski, "The chondroitin sulfate proteoglycans neurocan, brevican, phosphacan, and versican are differentially regulated following spinal cord injury," *Exp Neurol*, vol. 182, no. 2, pp. 399–411, 2003.
- [45] R. Katoh-Semba, M. Matsuda, K. Kato, and A. Oohira, "Chondroitin sulphate proteoglycans in the rat brain: candidates for axon barriers of sensory neurons and the possible modification by laminin of their actions," *European Journal of Neuroscience*, vol. 7, no. 4, pp. 613–621, 1995.
- [46] M. Kanje, A. Rusovan, ... B. S.-, and undefined 1993, "Pretreatment of rats with pulsed electromagnetic fields enhances regeneration of the sciatic nerve," *Wiley Online Library*, vol. 14, no. 4, pp. 353–359, 1993, doi: 10.1002/bem.2250140407.
- [47] B. Greenebaum *et al.*, "Effects of Pulsed Magnetic Fields on Neurite Outgrowth From Chick Embryo Dorsal Root Ganglia\*," *Bioelectromagnetics*, vol. 1, p. 996, doi: 10.1002/(SICI)1521-186X(1996)17:4.
- [48] B. Greenebaum, B. S.-B. J. of, and undefined 2007, "Does direction of induced electric field or current provide a test of mechanism involved in nerve regeneration?," *Wiley Online Library*, vol. 28, no. 6, pp. 488–492, Sep. 2007, doi: 10.1002/bem.20331.
- [49] C. McCaig and A. Rajnicek, "Electrical fields, nerve growth and nerve regeneration," *Experimental Physiology*, vol. 76, no. 4, pp. 473–494, Jul. 1991, doi: 10.1113/EXPPHYSIOL.1991.SP003514.
- [50] B. Greenebaum *et al.*, "Effects of Pulsed Magnetic Fields on Neurite Outgrowth From Chick Embryo Dorsal Root Ganglia\*," *Bioelectromagnetics*, vol. 1, p. 996, doi: 10.1002/(SICI)1521-186X(1996)17:4.

- [51] R. D. de Leon, J. A. Hodgson, R. R. Roy, and V. R. Edgerton, "Locomotor capacity attributable to step training versus spontaneous recovery after spinalization in adult cats," *J Neurophysiol*, vol. 79, no. 3, pp. 1329–1340, 1998.
- [52] E. G. Jones, "GABAergic neurons and their role in cortical plasticity in primates," *Cerebral cortex*, vol. 3, no. 5, pp. 361–372, 1993.
- [53] S. Hamid and R. Hayek, "Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: An overview," *European Spine Journal*, vol. 17, no. 9, pp. 1256–1269, Sep. 2008, doi: 10.1007/S00586-008-0729-3.
- [54] P. Musienko *et al.*, "Controlling specific locomotor behaviors through multidimensional monoaminergic modulation of spinal circuitries," *Soc Neuroscience*, 2011, doi: 10.1523/JNEUROSCI.5796-10.2011.
- [55] D. K.-T. and clinical risk management and undefined 2012, "Maximizing neuroprotection: where do we stand?," *ncbi.nlm.nih.gov*
- [56] F. W. Petraglia III *et al.*, "The incidence of spinal cord injury in implantation of percutaneous and paddle electrodes for spinal cord stimulation," *Elsevier*, vol. 19, no. 1, pp. 85–89, Jan. 2015, doi: 10.1111/ner.12370.
- [57] Scottshapiro *et al.*, "Oscillating field stimulation for complete spinal cord injury in humans: a phase 1 trial," *thejns.org*, 2005
- [58] Y. Gerasimenko *et al.*, "Novel and direct access to the human locomotor spinal circuitry," *Soc Neuroscience*, 2010, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4751-09.2010.
- [59] V. Avelev, R. Matur, ... D. B.-... Z. I. I., and undefined 2009, "Initiation of locomotion in decerebrated cat by using of impulse magnetic field projected onto the spinal cord segments," *europemc.org*
- [60] Z. Ahmed and A. Wieraszko, "Combined effects of acrobatic exercise and magnetic stimulation on the functional recovery after spinal cord lesions," *Journal of Neurotrauma*, vol. 25, no. 10, pp. 1257–1269, Oct. 2008, doi: 10.1089/NEU.2008.0626.
- [61] M. Crowe, Z. Sun, J. Battocletti, M. Macias, F. P.- Spine, and undefined 2003, "Exposure to pulsed magnetic fields enhances motor recovery in cats after spinal cord injury," *journals.lww.com*
- [62] H. Ito, C. B.-C. orthopaedics and related research, and undefined 1983, "Effect of weak, pulsing electromagnetic fields on neural regeneration in the rat.," *europemc.org*
- [63] A. R. M. Raji and R. E. M. Bowden, "Effects of high-peak pulsed electromagnetic field on the degeneration and regeneration of the common peroneal nerve in rats," *Journal of Bone and Joint Surgery - Series B*, vol. 65, no. 4, pp. 478–492, 1983, doi: 10.1302/0301-620X.65B4.6603461.
- [64] B. Siskin, M. Kanje, G. Lundborg, E. Herbst, W. K.-B. research, and undefined 1989, "Stimulation of rat sciatic nerve regeneration with pulsed electromagnetic fields," *Elsevier*, doi: 10.1016/0006-8993(89)90575-1.



- [65] B. Sisken, J. Walker, M. O.-J. of cellular biochemistry, and undefined 1993, "Prospects on clinical applications of electrical stimulation for nerve regeneration," *Wiley Online Library*, vol. 51, no. 4, pp. 404–409, 1993, doi: 10.1002/jcb.2400510404.
- [66] J. Walker, J. Evans, P. Resig, ... S. G.-E., and undefined 1994, "Enhancement of functional recovery following a crush lesion to the rat sciatic nerve by exposure to pulsed electromagnetic fields," *Elsevier*
- [67] R. Zienowicz, B. Thomas, ... W. K.-P. and, and undefined 1991, "A multivariate approach to the treatment of peripheral nerve transection injury: the role of electromagnetic field therapy.," *europemc.org*
- [68] B. F. Sisken, B. Mcleod, and A. A. Pilla, "PEMF, direct Current and nedronal regeneration: Effect of field geometry and current density," *Electromagnetic Biology and Medicine*, vol. 3, no. 1–2, pp. 81–102, 1984, doi: 10.1080/15368378409035961.
- [69] B. S.-M. Bioelectricity and undefined 2020, "Effects of electromagnetic fields on nerve regeneration," *taylorfrancis.com*
- [70] B. F. Sisken, "Therapeutic aspects of electromagnetic fields for soft-tissue healing," *Advances in Chemistry Series*, vol. 250, pp. 283–285, 1996, doi: 10.1021/BA-1995-0250.CH015.
- [71] M. Y. Macias, J. H. Battocletti, C. H. Sutton, F. A. Pintar, and D. J. Maiman, "Directed and Enhanced Neurite Growth With Pulsed Magnetic Field Stimulation," *Bioelectromagnetics*, vol. 21, pp. 272–286, 2000, doi: 10.1002/(SICI)1521-186X(200005)21:4.
- [72] J. Battocletti, M. Macias, ... F. P.-I. transactions on, and undefined 2000, "A box coil for the stimulation of biological tissue and cells in vitro and in vivo by pulsed magnetic fields," *ieeexplore.ieee.org*
- [73] B. Sisken, J. Walker, M. O.-J. of cellular biochemistry, and undefined 1993, "Prospects on clinical applications of electrical stimulation for nerve regeneration," *Wiley Online Library*, vol. 51, no. 4, pp. 404–409, 1993, doi: 10.1002/jcb.2400510404.
- [74] B. Greenebaum *et al.*, "Effects of Pulsed Magnetic Fields on Neurite Outgrowth From Chick Embryo Dorsal Root Ganglia\*," *Bioelectromagnetics*, vol. 1, p. 996, doi: 10.1002/(SICI)1521-186X(1996)17:4.
- [75] A. A.- Optik and undefined 2021, "Induced curvature effects in Maxwell's equations," *Elsevier*
- [76] R. Serway and J. Jewett, "Physics for scientists and engineers," *Physics Program General Physics Course*, 2018
- [77] D. Halliday, R. Resnick, and J. Walker, "Fundamentals of physics," *Physics Program General Physics Course*, 2013

- [78] A. Pal, S. Kumar, S. Jain, T. C. Nag, and R. Mathur, “Neuroregenerative Effects of Electromagnetic Field and Magnetic Nanoparticles on Spinal Cord Injury in Rats,” *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 18, no. 10, pp. 6756–6764, Jun. 2018, doi: 10.1166/JNN.2018.15820.
- [79] C. Wang *et al.*, “Low-frequency pulsed electromagnetic field promotes functional recovery, reduces inflammation and oxidative stress, and enhances HSP70 expression following spinal cord injury,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 19, no. 3, pp. 1687–1693, Mar. 2019, doi: 10.3892/MMR.2019.9820.



## ETİK KURUL İZİN YAZISI

**Uyarı:** Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

- Etik Kurul izni gerekmektedir.**
- Etik Kurul izni gerekmemektedir.**

Sarper KARA  
(İmza)



## KURUM İZİNİ YAZILARI

**Uyarı:** Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- Kurum izni gerekmektedir.
- Kurum izni gerekmemektedir.

Öğrenci Adı SOYADI  
(İmza)

