



ELECTRICAL STIMULATION APPLICATIONS ON DIABETIC WOUNDS

Batuhan Akıllı^{*1} , Ahmet Koluman¹ , Gülçin Abbın Mete² 

¹Pamukkale University, Faculty of Technology, Biomedical Engineering, 20160, Denizli, Turkey

²Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, 20160, Denizli, Turkey

Abstract

Original scientific paper

Among global health problems, diabetes shows a growing trend. Due to an increase in diabetes cases, the frequency of diabetes wounds also increases. Diabetes is a type of wound in which the duration of treatment is long, risky, and the patient and their relatives are psychologically affected. Reducing the duration of treatment for diabetes wounds allows the patient to accelerate achieving living standards. It has been reported that electrical stimulation method can be applied to shorten the duration of diabetic wound treatment. Studies with electrical stimulation method have been reported to give positive results. In the concept of telemedicine and within the framework of home health services, it is predictable to use the method and get treatment at home without going to the patient's health care facility. In this context, an electrical stimulation can be applied in addition to keeping the area clean with hygienic measures, may provide an additional benefit in wound healing by stimulating the cells and with its positive impact on blood circulation.

Keywords: Diabetes, diabetic wound, electrical stimulation, wound healing.

DİYABETİK YARALARA ELEKTRİKSEL STİMÜLASYON UYGULAMALARI

Özet

Orijinal bilimsel makale

Küresel sağlık sorunları arasında diyabet artan bir eğilim göstermektedir. Diyabet vakalarında artışa bağlı olarak, diyabet yaralarının oluşma sıklığının da arttığı gözlemlenmektedir. Diyabet yaraları tedavi süresi uzun, riskli, hasta ve hasta yakınlarının psikolojik olarak da etkilendiği yara çeşididir. Diyabet yaralarının tedavi süresinin kısaltılması hastanın yaşam standartlarına kavuşmasında hızlanmaya olanak tanımaktadır. Diyabetik yara tedavi süresini kısaltmak için elektriksel stimülasyon yöntemi uygulanabileceği ve olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Teletıp konsepti içerisinde ve evde sağlık hizmetleri kapsamında, yöntemin kullanılması ve hastanın sağlık kuruluşuna gitmeden evde tedavi alması öngörülebilir. Bu kapsamda, sadece bölgenin temiz tutulmasına ek olarak uygulanacak bir elektriksel stimülasyon kan dolaşımı üzerine olumlu etkisi ve hücrelerin uyarılmasıyla yaranın kapanmasında ek bir fayda sağlayabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, diyabetik yara, elektriksel stimülasyon, yara iyileşmesi.

1 Giriş

1.1 Diyabet

Diyabet hastalığı tüm dünyada genel bir sağlık sorunudur. Diyabet hastalığı veya diabetes mellitus, pankreasın yeterince insülin üretmediği veya vücudun, üretilmiş insülini etkili şekilde kullanmadığı durumlarda oluşan kronik bir hastalıktır. Bu durum, başta kan damarları ve sinirler olmak üzere çoğu vücut sistemlerini ciddi biçimde hasara uğratan kan şekeri düzeyinin artmasına (hiperglisemiye) neden olur [1]. Vücudun kan şekeri düzeyi normal değerlerden yüksek seyrettiği için diyabet hastalarının immun sistem dirençleri düşüktür ve sinir harabiyeti meydana geldiği için yaraların çoğunun varlığını ve acısını hissetmezler [2]. IDF (Uluslararası

Diyabet Federasyonu) 2019 verilerine göre; dünya çapında 20-79 yaşları arasında tahmin edilen 463 milyon yetişkin (bu yaş grubundaki tüm yetişkinlerin %9,3'ü) diyabet hastasıdır. %79,4'ünün düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşadığı tahmin edilmektedir. 2019 tahminlerine göre, 2030'a kadar 578,4 milyon ve 2045'e kadar 20-79 yaşlarındaki 700,2 milyon yetişkin diyabetle yaşayacak. Ülkemizde diyabetli yetişkin hasta sayısı yaklaşık 6,6 milyondur [3]. IDF 2019 verilerine göre tahmini toplam diyabetli yetişkin kişilerin sayısı aşağıda Şekil 1'de verilmiştir. IDF 2019 verilerine göre 2019, 2030 ve 2045'te yetişkinlerde (20-79 yaş) yaş grubuna göre tahmini diyabet prevalansı aşağıda Şekil 2'de verilmiştir.

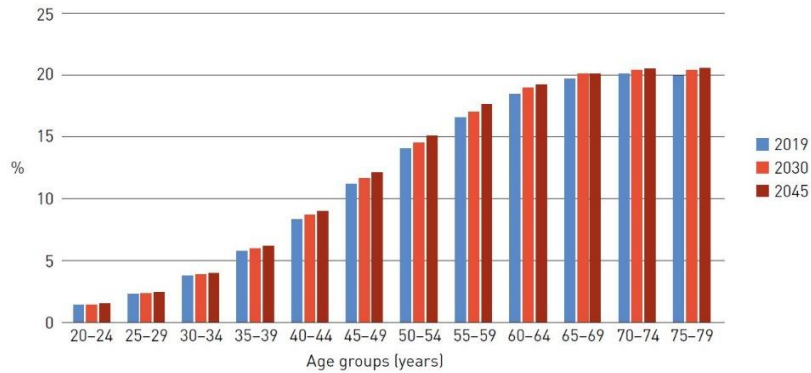
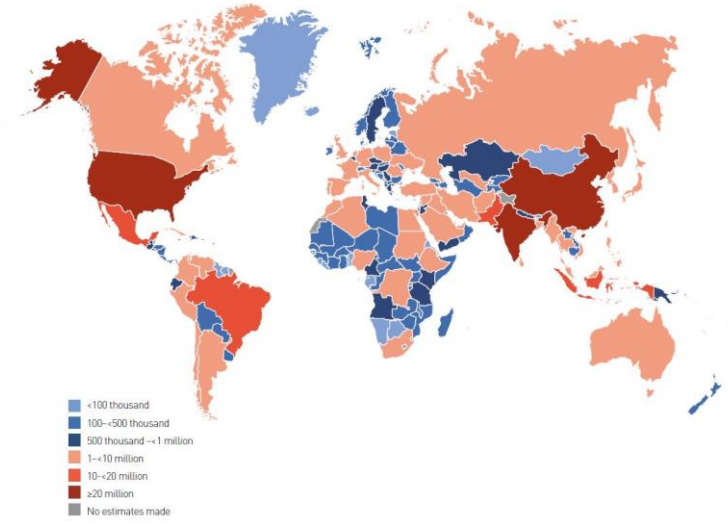
* Corresponding author.

E-mail address: bakilli15@posta.pau.edu.tr (B. Akıllı)

Received 27 January 2022; Received in revised form 11 May 2022; Accepted 01 September 2022

2587-1943 | © 2022 IJIEA. All rights reserved.

Doi: <https://doi.org/10.46460/ijiea.1063953>



1.2 Diyabet Yaraları

Diyabet hastalığı dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak görülmektedir. Diyabet hasta sayısının yüksek olması sebebiyle diyabet yaraları da yaygın olarak görülmektedir ve büyük risk taşıyan yaralardır [4]. Diyabet hastalığı insan vücudunu yavaş yavaş etkiler ve vücudun direncini kaybetmesine neden olur. Diyabet hastalarında sinir ve damar yapılarının bozulmasına bağlı olarak travma ve yaralanmalar sonucunda oluşan yaralar diyabet yaraları olarak adlandırılır. Diyabet yaraları diyabet hastalığının verdiği sinir ve damar harabiyeti nedeniyle hasta tarafından hissedilmez ve çok geç fark edilir. Hasta yarayı fark edip sağlık kuruluşuna başvurduğunda genellikle yara büyümekte ve enfeksiyon oluşmaktadır. Diyabet yaralarının normal yaralara göre en büyük farkı kolay enfekte olmalarıdır. Kolay enfekte olan yaralar oldukları için tedavi süreleri uzun, uğraştırıcı, maliyeti yüksek ve yorucu bir süreçtir [5]. Diyabet yaralarının tedavi süresi uzun olduğu için hasta ve hasta yakınları psikolojik olarak yıpranabilmektedir. Hasta ve hasta yakınları psikolojik açıdan desteklenme ihtiyacı duymaktadır.

Diyabetik yaralar, çözümünü güç tıbbi sorunların yanında toplumsal, ekonomik, sosyal ve insani boyutu olan bir konudur. Alt ekstremite amputasyonlarının %40-70'i diyabete bağlıdır. Alt ekstremite amputasyonlarının %85'inde ayak ülser vakası görülmektedir [6].

Diyabetik yaralar yaygın görüldüğünden standart yara bakım ve tedavi protokollerinin yanında alternatif yara tedavi yöntemleri de kullanılmaktadır [5,6]. Bu tedavi protokollerinin bazıları:

- Dermal kollojen tedavisi
- Büyüme faktörü tedavisi
- Maggot tedavisi
- Hiperbarik oksijen tedavisi
- Elektriksel stimülasyon tedavisi

Diyabetik yara iyileşmesinde elektriksel stimülasyon tedavisinin hali hazırda araştırmaları ve testleri yapılmakta olup olumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir.

1.3 Diyabetik Yaralarda Biyomedikal Yaklaşımlar

1.3.1 Elektriksel Stimülasyon

Diyabetik yaraların tedavisi söz konusu olduğunda en riskli konu enfeksiyondur öncelikli olarak yarının enfeksiyonu ortadan kaldırılmalıdır. Yara uygun temizlik protokollerinden sonra hijyenik işlemler uygulanmasıyla veya antibiyotik tedavisi uygulanarak mikroorganizmalardan arındırılmaktadır. Bu işlemden sonra elektriksel uyarım tedavisi ya da diğer adıyla elektriksel stimülasyon yöntemiyle yara elektrik akımı verilerek hücreler uyarılmaktadır. Hücreler elektrik akımı ile uyarılarak diyabetik yarının tedavisi süresinin

kısalması amaçlanmaktadır [7]. Böylelikle tedavi maliyetinin azaltılması ve kişinin daha çabuk yaşam standartlarına kavuşması beklenmektedir.

Elektriksel stimülasyon yöntemi üzerine düşünülmesinin nedeni yaralanma akımı tanımıdır. Yaralanma akımı, 1843'te Dubois-Reymond, insan derisi yaralarından çıkan 1 mA şiddetinde bir akım bildirdi. Daha sonra yaraların 1 mA'dan daha düşük bir yoğunlukta olduğu ve yarayı çevreleyen bir elektrik alanını, "yaralanma akımı" oluşturduğu doğrulandı. Yaralanma akımı yaranın etrafında 2-3mm'lik bir yarıçapa kadar uzanır ve gradyan yavaş yavaş 140mV/mm'den 0mV/mm'ye düşer.

Ayrıca, Na(+)'nın hücre zarından hücreye taşınmasının, hücrenin dışında negatif kutup olan 20-40mV'lik bir potansiyel farkın deriyi koruduğu anlaşılmaktadır.

Nemli bir pansuman uygulanırsa yaralanma akımının muhafaza edilebileceği, ancak yaranın açık bırakılması ve korunmasız kalması durumunda kademeli olarak azalacağı desteklenmiştir. Yara iyileştikçe, yaralanma akımı da azalmaktadır [8].

Literatürde geçen yaralanma akımı referans alınarak elektriksel stimülasyon tekniğinde hücreler elektrik akımı ile uyarılarak yara tedavisi amaçlanmaktadır. İdeal elektriksel stimülasyon cihazının invaziv olmayan,

taşınabilir, uygun maliyetli olması gerekir ve hastaların günlük yaşamlarına minimum düzeyde müdahale etmesi beklenmektedir [9]. Elektriksel stimülasyon yönteminin çeşitleri vardır. Bu yöntemin çeşitleri yaranın durumuna göre belirlenmektedir.

Klinik çalışmalarda incelenen elektriksel stimülasyon cihazlarının çeşitliliği, dört temel tipten birine ait olarak kategorize edilebilir: Düşük yoğunluklu akım (DYA), Yüksek gerilim darbeli akım (YGDA), Alternatif akım (AA) ve Transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TESS). Düşük yoğunluklu akımlar uygulanırken doğru akım ya da darbeli doğru akım şeklinde uygulanmaktadır. Düşük yoğunluklu akımların (DYA) yara iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin araştırması önem arz etmektedir, çünkü DYA insan vücudunun yaralanma üzerine ürettiği akımlara benzemektedir [8-10].

DYA, düşük voltajda 20-1000µA akım kullanan sürekli ya da darbeli bir dalga olarak uygulanmaktadır.

Düşük yoğunluklu akımlar (DYA) arasında araştırmalarda yaygın olarak düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) kullanılmaktadır. Düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) kolay uygulanabilir olduğundan tercih edilmektedir. Yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmaktadır. Aşağıda Tablo 1'de düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) kullanılarak gerçekleştirilen iki çalışmanın ayrıntıları verilmiştir [11,12].

Tablo 1. Düşük yoğunluklu doğru akım kullanılan çalışmaların karşılaştırılması [11,12].

DYDA RCT	Wolcot ve ark. [11]	Carley ve Wainapel. [12]
Yara tipi	İskemik yaralar	Sakrum veya alt ekstremitte ülserleri
Tedavi süreci	200-800µA akım. 2 saatlik seanslar ile günde 3 seans.	200-800µA akım. 2 saatlik seanslar ile günde 2 seans.
Sonuçlar	Tedavi uygulanan 8 kişinin 6'sı tamamen iyileşmiştir, 2'si %70'e kadar iyileşmiştir	Yara iyileşmesi, konvansiyonel tedavi grubuna kıyasla LIC grubunda 1.5-2.5 kat artmıştır.

Tablo 1'de verilen ayrıntılara göre düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) ile yapılan çalışmalarda iyileşme oranları umut vadetmektedir. Yara tipleri olarak incelendiğinde diyabetik yaralar ile benzer özellikler gösteren yaralar araştırılmaktadır.

Düşük yoğunluklu akım (DYA) türlerinin bir diğeri ise düşük yoğunluklu darbeli doğru akımdır (DYDDA). Düşük yoğunluklu doğru akımdan (DYDA) tek farkı akımı sürekli değil saniyede belirli bir darbe ile hücrelere elektrik akımı

uygulanmasıdır. Darbeler genelde saniyede 64 veya saniyede 128 kere uygulanır. Düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) çalışmaları olumlu sonuç verdiği için düşük yoğunluklu darbeli doğru akım (DYDDA) uygulamalarının daha iyi bir sonuç verebileceği düşünülmektedir.

Aşağıda Tablo 2'de düşük yoğunluklu darbeli doğru akım (DYDDA) kullanılarak gerçekleştirilen iki çalışmanın ayrıntıları verilmiştir [13,14].

Tablo 2. Düşük yoğunluklu darbeli doğru akım kullanılan çalışmaların karşılaştırılması [13,14].

DYDDA RCT	Wood ve ark. [13]	Junger ve ark. [14]
Yara tipi	Aşama II ve III, kronik dekübit ülserleri	Venöz bacak ülserleri
Tedavi süreci	300-600µA akım. Günde 1 seans.	315-630µA akım. 30 dakikalık günde 1 seans.
Sonuçlar	Ülser grubu tedavisinde ortalama %58 oranında iyileşmiştir.	15 kişilik tedavi grubunda 2 kişinin ülseri tamamen iyileşmiştir. 13 kişinin ülser alanı ortalama %63 azalmıştır.

Tablo 2'de verilen ayrıntılara göre düşük yoğunluklu darbeli doğru akım (DYDDA) ile yapılan çalışmalarda iyileşme oranları olumludur fakat düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) çalışmalarıyla karşılaştırıldığında aralarında yara iyileşmesi açısından fark istatistiksel olarak önemsiz olarak belirlenmiştir.

Tablo 1 ve Tablo 2 yara tipleri olarak incelendiğinde iki tabloda yapılan toplam dört çalışmada da diyabetik yaralar ile benzer özellikler gösteren yaralar araştırılmaktadır.

Yapılan araştırmaların her birinde yara tedavisi olumlu sonuçlandığı için düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) veya düşük yoğunluklu darbeli doğru akımın (DYDDA) diyabetik yara tedavisi için olumlu sonuç göstermesi beklenmektedir.

Günden güne artan diyabet vakaları ve git gide yaygınlaşan diyabet yaralarının tedavisi için kullanılabilecek farklı bir tedavi yöntemi olan elektriksel stimülasyon tedavisi için Tablo 1 ve Tablo 2 verilen araştırmalar düşük yoğunluklu

akımın (DYA) yara iyileşme sürecini hızlandırdığını göstermektedir. Yoğunluk genelde 20-1000 μ A arasında belirtiliyor olsa da genelde çalışmalarda 200-800 μ A arasında bir yoğunluk kullanılmakta ve olumlu sonuçlar göstermektedir. Düşük yoğunluklu akımların (DYA) diyabetik yaralar üzerinde etkisini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

1.4 Elektriksel Stimülasyon için Kullanılabilecek Devrelere Genel Bakış

Elektriksel stimülasyon cihazının tasarımında temel olarak güç kaynağı, elektrotlar, direnç, röle ve mikroişlemci kullanılmaktadır. Düşük akımlı bir elektriksel stimülasyon cihazı tasarımı yapılırken mikroişlemci kontrolünde güç kaynağından düşük akım verilererek direnç yardımıyla akım değeri istenilen aralığa getirilerek DYDA çeşidi bir elektriksel stimülasyon cihazı tasarımı yapılmıştır. Bu tasarıma ek olarak istenildiği takdirde röle kullanılarak mikroişlemci yazılımının tekrar ayarlanması ile tasarıma darbe (pulse) yaptırılabilir bu tasarım DYDDA çeşidi bir elektriksel stimülasyon cihazı tasarımıdır. LDYDA ve DYDDA tasarımında kullanılan materyaller değiştirilerek yüksek voltajlı elektriksel stimülasyon cihazı tasarlanabilmektedir. Elektriksel stimülasyon tasarımı tamamlandıktan sonra yara üzerine elektrotlar yerleştirilerek yaraya elektriksel akım uygulaması yapılabilmektedir.

1.5 Evde Sağlık Hizmetleri ve Elektriksel Stimülasyonun Diyabetik Yaralarda Kullanımı

Evde sağlık hizmetleri, bireyin sağlık kuruluşuna gitmesine gerek kalmadan ve sağlık kuruluşlarındaki hasta yoğunluğunu azaltmak için; muayene, tedavi, tahlil, tetkik, tıbbi bakım ve rehabilitasyon gibi hizmetlerin bireyin yaşadığı ortamda sunulmasıdır. Bireylerin kendi evlerinde bu sağlık hizmetlerin verilmesi hasta ve hasta yakınlarına sosyal ve psikolojik destek sağlamaktadır.

Evde sağlık hizmetlerine ihtiyaç duyan bireylerin başında nörolojik hastalığı olan bireyler, engelli bireyler, uzun süre tedavi alması gereken bireyler, yüksek enfeksiyon riski olan bireyler, diyabet hastalığı olan bireyler, kanser tedavisi alan bireyler gelmektedir. Evde sağlık hizmetlerinin avantajları [15-17]:

- Bireylere özgü bir sağlık protokolü izlenmektedir
- Bireylere ve yakınlarına eğitim verilerek tedavi sürecine katılmaları sağlanmaktadır
- Sağlık kuruluşlarındaki hasta yoğunluğunun azalmasına neden olmaktadır
- Erken tanı ve tedaviye imkân sağlamaktadır
- Bireylerin yaşam kaliteleri ve konforları aksamamaktadır
- Bireye sağlık protokolü düzgün uygulandığı takdirde bireyin enfeksiyon olma ihtimali azalmaktadır.
- Tedavi süresi bir miktar kısalmaktadır.
- Yaşamın son evresindeki bireyler için tercih edilen bir hizmettir

Evde sağlık hizmetleri diyabet hastalığı olan bireylere uygulanmaktadır. Diyabet hastalığı olan bireylere diyabetik yaralar oluşmasını diye evde sağlık hizmeti kapsamında diyabet hastalığı ile ilgili bilgiler verilmektedir. Diyabetik yaralar uzun süreli tedavi isteyen ve kolay enfekte olabilen yaralardır. Diyabetik yara tedavisinin evde sağlık hizmetleri

kapsamında yapılması öncelikle hastanın konforunu ve moralini yüksek tutmasını sağlamaktadır. Diyabetik yaraların tedavileri yaranın durumuna göre en az 3 ay sürmektedir. Tablo 1 ve Tablo 2 incelendiğinde diyabetik yaraların tedavi süresini elektriksel stimülasyon cihazıyla azaltmanın mümkün olduğunu görülmektedir.

Elektriksel stimülasyon cihazları küçük ve taşınabilen cihazlardır. Yaklaşık olarak bir cep telefonu boyutundadırlar. Diyabetik yaraya uygulama aşamasında öncelikle elektriksel stimülasyon cihazının elektrot bağlantıları yapılır sonrasında elektrotlar diyabetik yaranın etrafına yerleştirilir ve cihazda uygun olan tedavi modu seçilerek yaraya elektrik stimülasyonu uygulanmaktadır. Cihaz küçük boyutları sayesinde taşınabilmekte ve uygun olan her yerde bu uygulama yapılabilmektedir. Kullanım kolaylığı sayesinde sağlık ekiplerine ihtiyaç duymadan hasta kendi kendine de uygulayabilmektedir. Elektriksel stimülasyon cihazının dezavantajı uygulama sürelerinin uzun olmasıdır. Diyabetik yaranın durumuna ve tedavi protokolüne göre seanslar halinde en az 30 dakika en fazla 2 saat uygulanması gerekebilmektedir.

2 Malzeme ve Yöntem

Bu çalışma elektriksel stimülasyon cihazının laboratuvar ortamında hücre kültürü üzerindeki etkilerini araştırmak için yapılmıştır. Diyabet hastalığı genel olarak keratinosit ve fibroblast hücreleri etkileyerek diyabetik yara oluşumunu meydana getirmektedir. Bu yüzden bu çalışmada keratinosit (HaCaT) ve fibroblast (CCD18Co) hücre hatları kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılacak hücre hatları Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiş olup elektriksel stimülasyon uygulaması aynı birimin laboratuvarında yapılmıştır.

2.1 Malzemeler

2.1.1 Fetal Bovine Serum (FBS) (HyClone)

Fetal Bovine Serum (FBS), hücrelerin tutunabilmelerini ve çoğalmalarını sağlayan hormanlar, enzimler, büyüme faktörleri ve hücreler arası matriks proteinlerinin bulunduğu bir çözüldür. Bu çözelti biyolojik güvenlik kabininde 10 ml'lik steril falcon tüplere bölünerek kullanılacağı zamana kadar -20 °C'de saklanmaktadır.

2.1.2 Penicilin Streptomisin (Pen Strep) (Gibco)

Penicilin ve Streptomisin hücrenin üremesi için gerekli olan besi yeri içine katılan antibiyotiklerdir. Hücrelerin üreme aşamasında meydana gelecek bakteri, mantar vb. organizmalar tarafından oluşabilecek kontaminasyonların önüne geçmek için kullanılmaktadır.

2.1.3 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (HyClone)

Dulbecco's Modified Eagle's Medium, hücrenin üremesi için gerekli olan glikoza, canlılıklarını sürdürmek için gerekli ozmolarite ve pH değerine, hücrelerin hücresel fonksiyonlarını sürdürebilmeleri için gerekli aminoasitlere ve vitaminlere sahiptir. Laboratuvar ortamında hücre kültüründe besi yeri olarak kullanılmaktadır.

2.1.4. Tripsin – EDTA (%0.25) (With Phenol Red)

Tripsin, serin proteaz tipi bir enzim olup hücre pasajlamalarında temel olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan madde %0.25 EDTA içermektedir. Tripsin yüksek sıcaklıklarda aktivitesini kaybetmeye başlar bu yüzden alıgötenarak -20 °C'de saklanması gerekmektedir.

2.1.5 Phosphate Buffer Saline (PBS)

Phosphate Buffer Saline (PBS), hücrenin içindeki ve dışındaki ozmatik basıncı dengede tutan bir tuz çözeltisidir. İçeriğinde inorganik tuzlar ve su bulunmaktadır. Hücre kültürü uygulamalarında ölü hücreleri ve hücre atıklarını uzaklaştırmak için kullanılmaktadır.

2.2 Yöntem

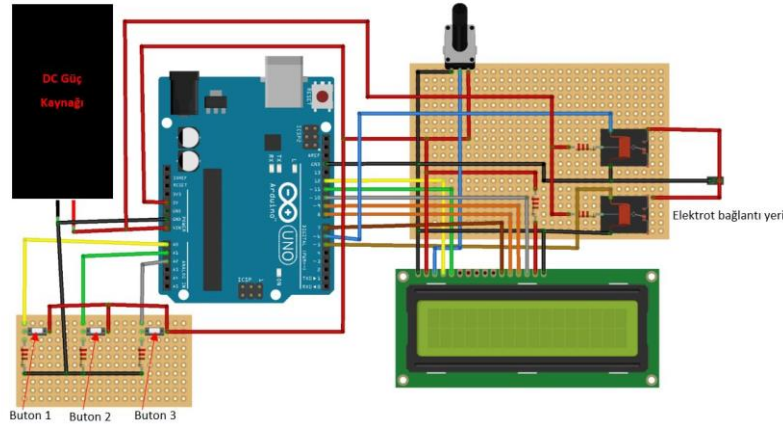
2.2.1 Hücrelerin Ekilmesi

Kriyo tüplerde dondurulmuş halde bulunan keratinosit (HaCaT) ve fibroblast (CCD18Co) hücre hatları önceden 37°C'ye ayarlanmış ve ısıtılmış su banyosunda çözündürülmektedir. Çözündürülme işlemi uygulanan kriyo

tüplerdeki hücrelere oda sıcaklığında %10 fütal sığır serum (FBS), %1 L-glutamin, 100IU/ml penisilin ve 10 mg/ml streptomisin içeren besi yeri eklenmektedir. Kriyo tüplerde bulunan hücreler 15 ml'lik falcon tüplere aktarılmaktadır. Falcon tüpte bulunan hücreler 75 cm²'lik flasklara ekilmekte ve hücrelerin üremesi için en uygun ortam olan 37°C'de %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmektedir. Flasklarda yeteri kadar çoğaltılan hücre hatlarına pasajlama işlemi yapılmaktadır. Pasajlama işleminde flaskdaki hücreler önce PBS ile yıkanmaktadır. Ardından tripsin-EDTA flasklara eklenerek flask yüzeyine yapmış halde bulunan hücreler kaldırılmaktadır. Flaska yeteri kadar besi yeri ilavesi yapıp 15 ml'lik falcon tüpe alınmaktadır. 1500 rpm'de 4 dakika santrifüj edilip ve süpernatant kısmı uzaklaştırılmaktadır. Hücre sayım işlemi yapıldıktan sonra elektriksel stimülasyon uygulamasında kullanılacak olan 60 mm çapındaki plastik petri kaplarına hücre ekimi yapılmaktadır. Uygulamada kullanılan petrilerin her birine yaklaşık 100000 hücre ekilmektedir.

2.2.2 Devre Tasarımı

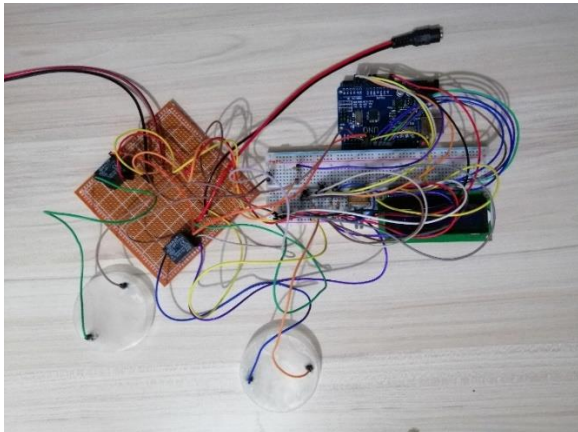
Bu çalışmada devre Arduino UNO kullanılarak tasarlanmıştır. Devreye ait şema aşağıda Şekil 3'te verilmektedir.



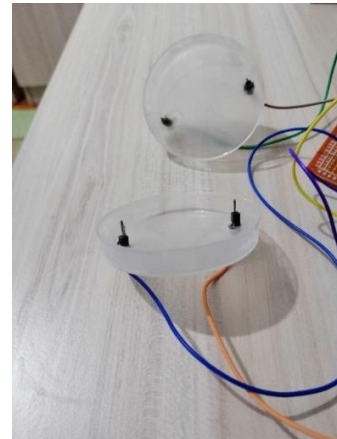
Şekil 3. Elektriksel stimülasyon cihazının devre şeması.

Devre şemasına göre hazırlanan devrenin görselleri aşağıda Şekil 4 ve Şekil 5'te verilmiştir. Elektriksel stimülasyon cihazının tasarımında elektrotlar petri kabının kapağına sabitlenmiştir ve elektrotlar arasında 5 cm mesafe

bulunmaktadır. Elektriksel stimülasyon cihazı 8 farklı modda çalışmak üzere tasarlanmıştır. Bu mod Tablo 3'te verilmektedir.



Şekil 4. Elektriksel stimülasyon cihazı



Şekil 5. Elektriksel stimülasyon cihazının petri kabının kapağına sabitlenen elektrotları

Tablo 3. Elektriksel stimülasyon cihazı çalışma modları (*DC: Doğru akım *PDC: Darbeli Doğru Akım).

MOD No	Akım Değeri	Uygulama Şekli	Uygulama Süresi
1	700-800 μ A	DC	30'
2	500-600 μ A	DC	30'
3	700-800 μ A	DC	60'
4	500-600 μ A	DC	60'
5	700-800 μ A	PDC	30'
6	500-600 μ A	PDC	30'
7	700-800 μ A	PDC	60'
8	500-600 μ A	PDC	60'

2.2.3 Uygulama

Bu çalışmada 32 tane uygulama ve 4 tane kontrol grubu olmak üzere toplamda 36 grup oluşturulmuştur. Bu gruplar aşağıdaki tablolarda belirmiştir.

Tablo 4. Uygulama yapılacak hücreler ve parametreleri (*DC: Doğru akım *PDC: Darbeli doğru akım).

Grup No	Hücre Tipi	Akım Tipi	Akım Yoğunluğu	Uygulama Süresi	Test No
1	Keratinosit	DC	700-800 μ A	30'	1
2	Keratinosit	DC	700-800 μ A	60'	1
3	Keratinosit	DC	700-800 μ A	30'	2
4	Keratinosit	DC	700-800 μ A	60'	2
5	Keratinosit	DC	500-600 μ A	30'	1
6	Keratinosit	DC	500-600 μ A	60'	1
7	Keratinosit	DC	500-600 μ A	30'	2
8	Keratinosit	DC	500-600 μ A	60'	2
9	Keratinosit	PDC	700-800 μ A	30'	1
10	Keratinosit	PDC	700-800 μ A	60'	1
11	Keratinosit	PDC	700-800 μ A	30'	2
12	Keratinosit	PDC	700-800 μ A	60'	2
13	Keratinosit	PDC	500-600 μ A	30'	1
14	Keratinosit	PDC	500-600 μ A	60'	1
15	Keratinosit	PDC	500-600 μ A	30'	2
16	Keratinosit	PDC	500-600 μ A	60'	2
17	Fibroblast	DC	700-800 μ A	30'	1
18	Fibroblast	DC	700-800 μ A	60'	1
19	Fibroblast	DC	700-800 μ A	30'	2
20	Fibroblast	DC	700-800 μ A	60'	2
21	Fibroblast	DC	500-600 μ A	30'	1
22	Fibroblast	DC	500-600 μ A	60'	1
23	Fibroblast	DC	500-600 μ A	30'	2
24	Fibroblast	DC	500-600 μ A	60'	2
25	Fibroblast	PDC	700-800 μ A	30'	1
26	Fibroblast	PDC	700-800 μ A	60'	1
27	Fibroblast	PDC	700-800 μ A	30'	2
28	Fibroblast	PDC	700-800 μ A	60'	2
29	Fibroblast	PDC	500-600 μ A	30'	1
30	Fibroblast	PDC	500-600 μ A	60'	1
31	Fibroblast	PDC	500-600 μ A	30'	2
32	Fibroblast	PDC	500-600 μ A	60'	2

Tablo 5. Kontrol grubu parametreleri.

Grup No	Hücre Tipi	Test No
1	Keratinosit	1
2	Keratinosit	2
3	Fibroblast	1
4	Fibroblast	2

Elektriksel stimülasyonun hücre kültürü üzerine uygulama işlemi sırasında petri kaplarına ekilen hücreler 24 saat etüvde inkübe edilmektedir. Sonrasında elektriksel stimülasyon cihazı kullanılarak Tablo 3'te verilen parametreler petri kabında bulunan hücrelere uygulanmaktadır. Uygulamadan sonra petri kabındaki hücreler 24 saat 37°C'de %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmektedir. Ardından petrielerde hücreler thoma lamı ile sayılarak hücre sayısı verileri elde edilmektedir.

3 Sonuçlar

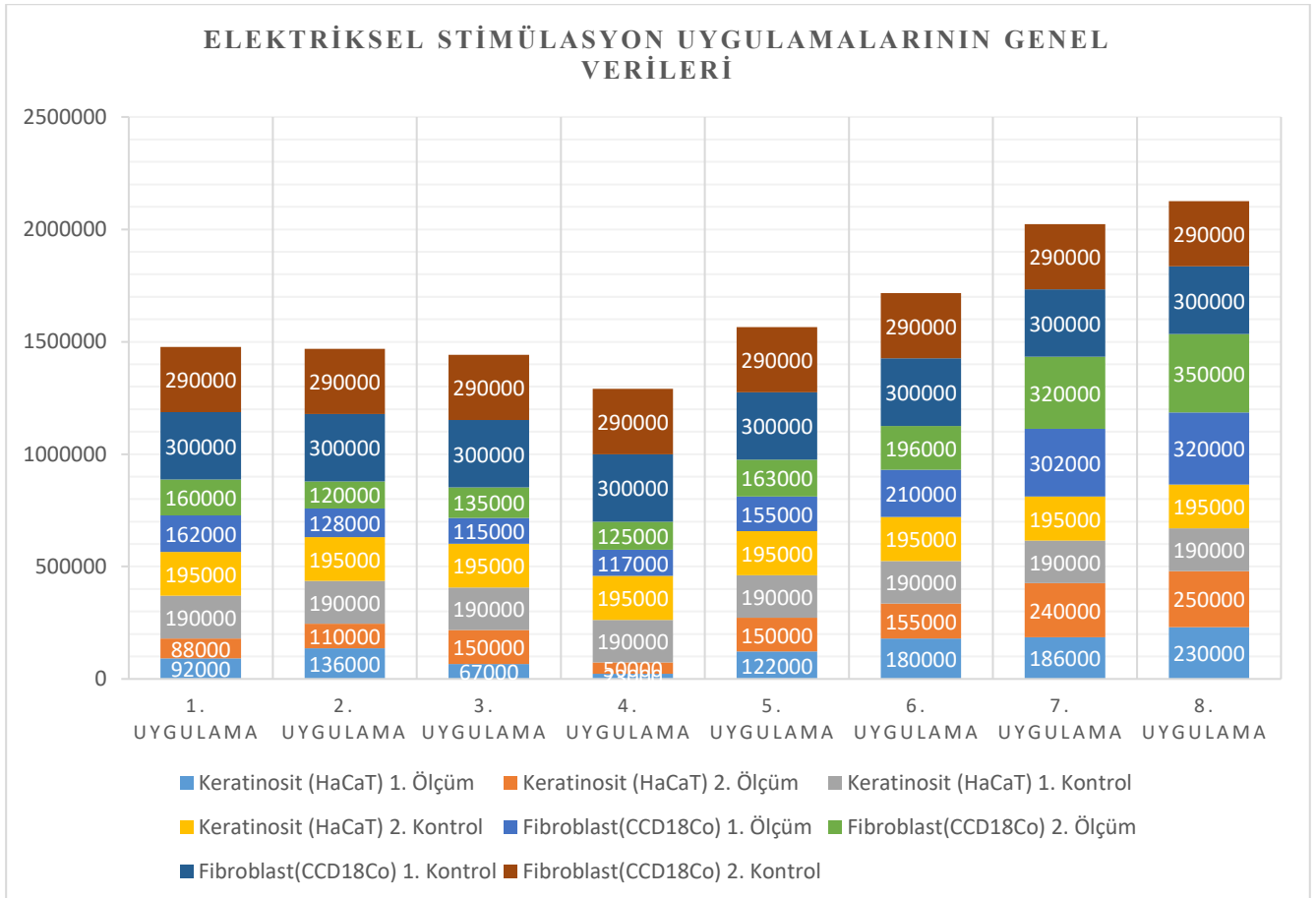
Elektriksel stimülasyonun hücre kültürü üzerine uygulamasında cihazda bulunan modlar sırasıyla uygulanmıştır. (Örneğin. Cihazın 1. modu uygulandığında 1.uygulama olarak adlandırılmıştır.) Tüm uygulamalar tamamlandığında hücre sayımı işleminden sonra elde edilen veriler aşağıdaki Tablo 6 'da verilmiştir.

Tablo 6. Hücre sayımından elde edilen veriler.

Keratinosit (HaCaT)			Fibroblast(CCD18Co)		
Uygulama No	1. Ölçüm	2. Ölçüm	Uygulama No	1. Ölçüm	2. Ölçüm
1	92000	88000	1	162000	160000
2	136000	110000	2	128000	120000
3	67000	150000	3	115000	135000
4	23000	50000	4	117000	125000
5	122000	150000	5	155000	163000
6	180000	155000	6	210000	196000
7	186000	240000	7	302000	320000
8	230000	250000	8	320000	350000
Kontrol	190000	195000	Kontrol	300000	290000

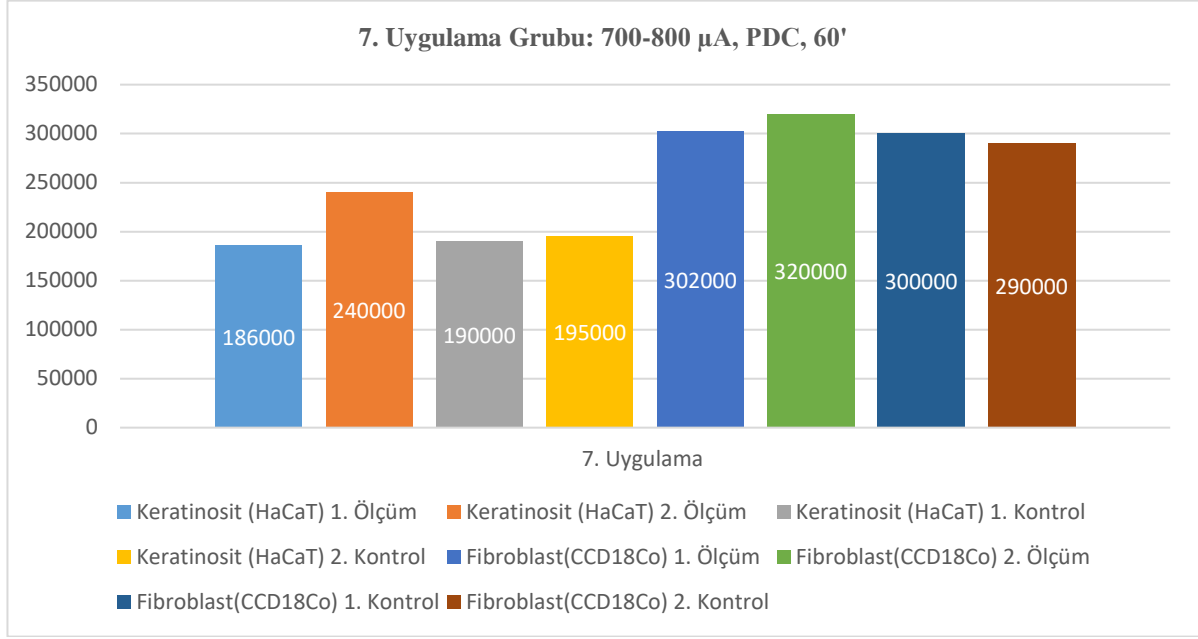
*Uygulama yapılan tüm petri kaplarına en başta yaklaşık 100000 hücre ekilmiştir.

Elektriksel stimülasyon cihazının hücre kültürü üzerine uygulama işleminden elde edilen hücre sayımı verilerinin ayrıntılı grafiği aşağıdaki şekilde verilmektedir.

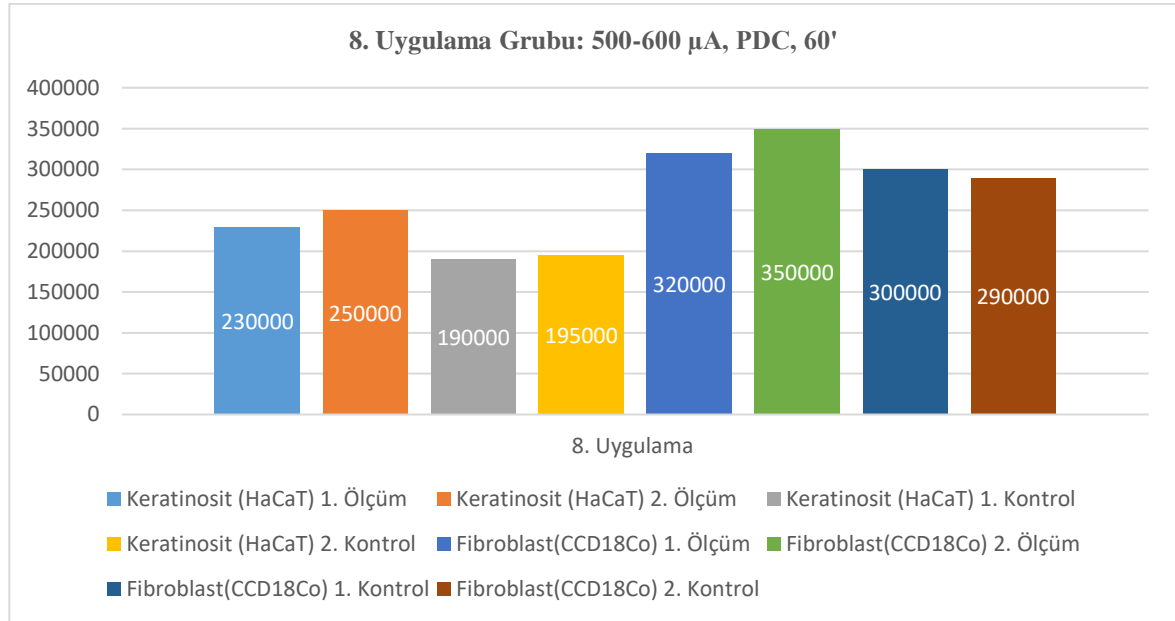


Şekil 6. Bütün elektriksel stimülasyon uygulama verilerinin genel grafiği.

Verilerin genel grafiğine bakıldığı zaman uygulanan sekiz farklı moddan 7. ve 8. modların uygulamalarının başarılı sonuçlandığı görülmektedir. Başarılı sonuç alınan iki modun ayrıntılı grafikleri aşağıda verilmektedir.



Şekil 7. Elektriksel stimülasyon cihazının 7. modunun hücre sayımı verileri.



Şekil 8. Elektriksel stimülasyon cihazının 8. modunun hücre sayımı verileri.

Yukarıdaki grafikler incelendiği zaman 7. ve 8. uygulamalarda elde edilen hücre sayılarının kontrol grubu hücre sayılarından belirgin şekilde fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu uygulamalarda istatistiksel olarak bir artış ($p < 0,05$) olduğu gözlemlenmiştir. Elektriksel stimülasyon cihazının uygulamasının olumlu sonuç verdiği görülmektedir.

4 Tartışma

Bu çalışmada yara iyileşmesi özellikle diyabetik yaraların iyileşme süresinin kısaltılması hedeflenmiştir. Bu hedefin olabilmesi için elektriksel stimülasyon cihazı tasarımı yapılmıştır. Çalışmada keratinosit (HaCaT) hücre hattı ve fibroblast (CCD18Co) hücre hattı üzerine elektriksel stimülasyon uygulaması yapılmıştır. Hücrelerin elektriksel stimülasyon uygulamasına olumlu tepki vererek hücre üreme hızında artış olması beklenmiştir.

Wolcott ve ark. [11] elektriksel stimülasyon uygulamasını iskemik yaralara sahip olan 8 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. 200-800 μ A düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) uygulayan bir yöntem kullanmışlardır. Çalışma süresince her gün ve günde 3 kez 2 saat boyunca uygulama yapılmıştır. Uygulamanın sonucunda grupta bulunan 8 kişiden 6'sının yaralarının tamamen iyileşmiş durumda olduğu ve kalan 2 kişinin de iyileşme oranının % 70 olduğu bildirilmiştir.

Carley ve Wainapel [12] elektriksel stimülasyon uygulamasını karışık ülser yaralarına sahip 15 kişilik grup

üzerinde yapmışlardır. Elektriksel stimülasyon uygulamasını 200-800 μ A doğru akım (DC) kullanarak yapmışlardır. 5 hafta boyunca her gün 2 saat elektriksel stimülasyon uygulanmıştır. Elektriksel stimülasyon uygulamasının sonucunda yara alanında %89 azalma olduğu bildirilmiştir.

Wood ve ark. [13] elektriksel stimülasyon uygulamasını bası ülseri hastalığı bulunan 41 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. 600 μ A doğru akım (DC) uygulayan bir elektriksel stimülasyon yöntemi ile 8 hafta boyunca haftada 3 kez uygulama yapılmıştır. 8 haftalık süreç sonunda grupta bulunan hastalarda %58 oranında yara iyileşmesi meydana geldiği bildirilmiştir.

Junger ve ark. [14] elektriksel stimülasyon uygulamasını venöz bacak ülseri hastalığı bulunan 15 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. 315-630 μ A düşük yoğunluklu darbeli doğru akım (DYDDA) uygulayan bir yöntem kullanmışlardır. Çalışma süresince gruba günde 1 kez 30 dakika elektriksel stimülasyon uygulamıştır. Uygulamanın sonucunda 15 kişilik grupta 2 kişinin venöz bacak ülserinin tam olarak iyileştiği ve kalan 13 kişinin venöz bacak ülserinin yara alanının ortalama %63 olarak azaldığı bildirilmiştir.

Peters ve ark. [18] elektriksel stimülasyon uygulamasını diyabetik ayak ülseri hastalığı olan 20 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. 12 hafta boyunca her gece 8 saat 50V doğru akım (DC) elektriksel stimülasyon uygulaması yapılmıştır. 12 haftalık süreç sonunda %65 yara iyileşmesi ve %86 yara alanında azalma olduğu bildirilmiştir.

Adunsky ve ark. [19] elektriksel stimülasyon uygulamasını bası ülseri hastalığı bulunan 19 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. Doğru akım (DC) elektriksel stimülasyon uygulaması 2 hafta boyunca her gün 20 dakika olacak şekilde uygulanmıştır. 2 haftalık süreç tamamlandığında %26 yara iyileşmesi ve %31 yara alanında azalma olduğu bildirilmiştir.

Feedar ve ark. [20] elektriksel stimülasyon uygulamasını karışık ülser yaraları bulunan 26 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. 29.2V, 29.2 μ A darbeli doğru akım (PDC) uygulayan bir yöntem kullanmışlardır. 4 hafta boyunca her gün 30 dakika uygulama yapılmıştır. Yapılan elektriksel stimülasyon uygulamasının sonucunda yara iyileşmesinin olmadığı fakat yara alanında %66 azalma olduğu bildirilmiştir.

Lawson ve Petrofsky [21] elektriksel stimülasyon uygulamasını karışık yaraları bulunan 8 kişisinde diyabet hastalığı bulunan 9 kişisinde diyabet hastalığı bulunmayan toplamda 17 kişilik grup üzerinde yapmışlardır. Elektriksel stimülasyon yöntemi olarak 5V, 20mA doğru akım (DC) uygulamasını kullanmışlardır. 4 hafta boyunca haftada 3 kez 30 dakika boyunca uygulama yapılmıştır. Uygulamanın sonucunda diyabet hastalığı bulunan hastalarda yara alanı azalmasının %70 olduğu, diyabet hastalığı bulunmayan hastalarda yara alanı azalmasının %38 olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada 12V, 500-800 μ A düşük yoğunluklu doğru akım (DYDA) ve düşük yoğunluklu darbeli doğru akım (DYDDA) yöntemleri uygulanmıştır. Çalışmada keratinosit (HaCaT) ve fibroblast (CCD18Co) hücre hatları üzerine 30 dakika ve 60 dakika elektriksel stimülasyon uygulaması yapılmıştır. Uygulamaların sonucunda hücre hatlarında %14-25 arasında hücre

üremesinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmaya benzer hücre kültürü üzerine uygulanan elektriksel stimülasyon uygulaması bulunmamaktadır. Çalışma hasta grupları üzerine yapılan elektriksel stimülasyon uygulamaları ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçların yapılan diğer elektriksel stimülasyon çalışmalarının sonuçları ile benzer sonuçlar taşıdığı görülmektedir. Çalışma in vitro koşullarda yapılmıştır ancak karşılaştırılan çalışmalar in vivo olarak yapılmıştır. Bu yüzden sonuçların kesin olarak doğruluğunun anlaşılabilmesi için bu çalışmanın in vivo testlerinin yapılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı yüksek lisans seminerinden derlenmiş olup Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen 2020FEBE036 kodlu “Diyabetik Yara Tedavisi İçin Elektriksel Stimülasyon Cihazı Tasarımı” projesinden desteklenmektedir.

Bilgilendirme

Bu çalışmada etik kurul onay belgesine gerek yoktur.

Kaynaklar

- [1] Tanrıverdi, M. H., Çelepkolu, T., & Aslanhan, H. (2013). Diyabet ve birinci basamak sağlık hizmetleri. *Journal of Clinical & Experimental Investigations*, 4(4).
- [2] Atmaca, H. U., Akbaş, F., Şak, T., Şak, D. U., Acar, Ş., & Niyazoğlu, M. (2015). Consciousness level and disease awareness among patients with diabetes. *Istanbul Med J*, 16(3), 101-104.
- [3] IDF (2019). *Diabetes Atlas Ninth Edition*.
- [4] Saltoğlu N., Kılıçoğlu Ö., Baktıroğlu S., Oşar-Siva Z., Aktaş Ş., Altındaş M., Arslan C., Aslan T., Çelik S., Engin A., Eraksoy H., Ergönül Ö., Ertuğrul B., Güler S., Kadanalı A., Mülazımoğlu L., Olgun N., Öncül O., Öznur A., Satman İ., Şencan İ., Tanrıöver Ö., Turhan Ö., Tuygun A. K., Tüzün H., Yastı A. Ç., & Yılmaz T., (2015), “Diyabetik Ayak Yarası ve İnfeksiyonunun Tanısı, Tedavisi ve Önlenmesi: Ulusal Uzlaş Raporu” *Klinik Dergisi*, 28(Özel Sayı 1), 2-34.
- [5] Demir T., Akıncı B., & Yeşil S., (2007) . Diyabetik ayak ülserlerinin tanı ve tedavisi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 21(1), 63-70.
- [6] Kalkan, Ö. F., Karakeçili, F., & Kalkan, A. (2015). Diyabetik ayağın fizyopatolojisinde diyabetik ayak enfeksiyonları. *Türkiye Klinikleri Journal of Endocrinology Special Topics*, 8(3), 18-24.
- [7] Kloth, L. C. (2014). Electrical stimulation technologies for wound healing. *Advances in wound care*, 3(2), 81-90.
- [8] Balakatounis, K. C., & Angoules, A. G. (2008). Low-intensity electrical stimulation in wound healing: review of the efficacy of externally applied currents resembling the current of injury. *Eplasty*, 8, 283-291.
- [9] Ashrafi, M., Alonso-Rasgado, T., Baguneid, M., & Bayat, A. (2017). The efficacy of electrical stimulation in lower extremity cutaneous wound healing: a systematic review. *Experimental dermatology*, 26(2), 171-178.
- [10] Thakral, G., LaFontaine, J., Najafi, B., Talal, T. K., Kim, P., & Lavery, L. A. (2013). Electrical stimulation to accelerate wound healing. *Diabetic foot & ankle*, 4(1), 22081.

- [11] Wolcott, L. E., Wheeler, P. C., Hardwicke, H. M., & Rowley, B. A. (1969). Accelerated healing of skin ulcer by electrotherapy: preliminary clinical results. *Southern medical journal*, 62(7), 795-801.
- [12] Wainapel, S. F. (1985). Electrotherapy for acceleration of wound healing: low intensity direct current. *Arch Phys Med Rehabil* 1985, 66, 443-6.
- [13] Wood, J. M., Evans, P. E., Schallreuter, K. U., Jacobson, W. E., Sufit, R., Newman, J., ... & Jacobson, M. (1993). A multicenter study on the use of pulsed low-intensity direct current for healing chronic stage II and stage III decubitus ulcers. *Archives of Dermatology*, 129(8), 999-1009.
- [14] Jünger, M., Zuder, D., Steins, A., Hahn, M., & Klyszcz, T. (1997). Treatment of venous ulcers with low frequency pulsed current (Dermapulse): effects on cutaneous microcirculation. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, 48(12), 897-903.
- [15] Altuntaş, M., Yilmazer, T., Güçlü, Y., & Öngel, K. (2010). Evde sağlık hizmeti ve günümüzdeki uygulama şekilleri. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi*, 20, 153-8.
- [16] Işık O., Kandemir A., Erişen M. A., & Fidan C., (2016). Evde sağlık hizmeti alan hastaların profili ve sunulan hizmetin değerlendirilmesi. *Hacettepe Sağlık İdaresi Dergisi*, 19(2), 171-186.
- [17] Yılmaz, M., Sametoğlu, F., Akmeşe, G., Tak, A., YAĞBASAN, B., GÖKÇAY, S., ... & ERDEM, S. (2010). Sağlık hizmetinin alternatif bir sunum şekli olarak evde hasta bakımı. *Istanbul Tıp Dergisi*, 11(3), 125-132.
- [18] Peters, E. J., Lavery, L. A., Armstrong, D. G., & Fleischli, J. G. (2001). Electric stimulation as an adjunct to heal diabetic foot ulcers: a randomized clinical trial. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 82(6), 721-725.
- [19] Adunsky, A., & Ohry, A. (2005). Decubitus direct current treatment (DDCT) of pressure ulcers: results of a randomized double-blinded placebo controlled study. *Archives of gerontology and geriatrics*, 41(3), 261-269.
- [20] Feedar, J. A., Kloth, L. C., & Gentzkow, G. D. (1991). Chronic dermal ulcer healing enhanced with monophasic pulsed electrical stimulation. *Physical Therapy*, 71(9), 639-649.
- [21] Lawson, D., & Petrofsky, J. S. (2007). A randomized control study on the effect of biphasic electrical stimulation in a warm room on skin blood flow and healing rates in chronic wounds of patients with and without diabetes. *Medical science monitor*, 13(6).
- [22] Braddock, M., Campbell, C. J., & Zuder, D. (1999). Current therapies for wound healing: electrical stimulation, biological therapeutics, and the potential for gene therapy. *International Journal of Dermatology*, 38(11), 808-817.
- [23] Gardner, S. E., Frantz, R. A., & Schmidt, F. L. (1999). Effect of electrical stimulation on chronic wound healing: a meta-analysis. *Wound Repair and Regeneration*, 7(6), 495-503.