

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

KONVANSİYONEL VE PULSE RADYOFREKANS TERMOKOAGULASYON
TEKNİKLERİNİN NÖROABLATİF ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. Dilek VATANSEVER

Tez Danışmanı
Doç. Dr. İdil TEKİN MİRZAI

Manisa, 2007

ÖNSÖZ

Bu çalışmamda ve uzmanlık eğitim süresince katkı ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yaralandığım, yetişmemde büyük emekleri olan; Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Demet TOK'a, sevgili hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. İdil TEKİN MİRZAI'ye, desteğiyle hep yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Koray ERBÜYÜN'e, tezimin çeşitli aşamalarındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ömer YILMAZ'a, tüm öğretim üyelerime ve tezimde emeği olan Histoloji ve Embriyoloji A.B.D öğretim üyelerinden Doç. Dr. İbrahim TUĞLU'ya, gösterdikleri dostluk ve yardımseverliklerinden ötürü asistan arkadaşlarıma, klinik ve ameliyathane hemşire ve personeline, sevgi ve özverilerini benden esirgemeyen aileme, sabır ve desteğiyle hep yanımda olan hayat arkadaşım Dr. Aziz VATANSEVER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Dilek VATANSEVER

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	Sayfa
I. Giriş	2
II. Genel Bilgiler	4
a. RF Uygulamalarının Tarihçesi	
b. RF Uygulamaları	
1.Konvansiyonel RF	
2.Pulse RF	
c. Konvansiyonel ve Pulse RF Tekniklerinin Karşılaştırılması	
d. Periferik Sinirlerin Yapı ve Fonksiyonları	
e. Sinir Liflerinin Histofizyolojisi	
f. Sinir Lif Tipleri ve İşlevleri	
g. Periferik Sinir Sisteminin Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu	
III. Gereç ve Yöntem	19
IV. Bulgular	22
V. Tartışma	34
VI. Sonuç	39
VII. Özet	40
VIII. Summary	42
IX. Ekler	45
X. Kaynaklar	51

KISALTMALAR

IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı
KRF	Konvansiyonel Radyofrekans Termokoagölasyon
PRF	Pulse Radyofrekans Termokoagölasyon
DREZ	Dorsal Root Entry Zone
ATP	Adenozin tri fosfat
EM	Elektron mikroskopi
IM	Işık mikroskopi
PBS	Fizyolojik tamponlu solüsyon
HE	Hematoksilen- Eosin
TEM-Zeiss	Transmission Electron Microscope
AS	Akson sayısı
AÇ	Akson çapı
MK	Myelin kalınlığı
VAS	Vizüel Ağrı Skalası
DRG	Dorsal Root Ganglion

I- GİRİŞ

Ağrı tarihinin başlangıcı insanoğlunun başlangıcı kadar eskidir. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı (IASP)'na göre ağrı, varolan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoşça gitmeyen duysal ve emosyonel bir deneyim olarak tanımlanmıştır. Bu demektir ki ağrıyı değerlendirirken hem fiziksel hem de fiziksel olmayan bileşenlerini birlikte değerlendirmek zorundayız (1).

Ağrı tedavisi farmakolojik tedavi, girişimsel yöntemler, fizik tedavi ve psikolojik tedaviden oluşan kombine bir tedavidir. Son yıllarda girişimsel yöntemler ağrı tedavisinde büyük yer tutmaya başlamıştır. Bu yöntemler tekrarlayan sinir blokları, intratekal ve epidural enjeksiyonlar (lokal anestezipler, opioidler, steroidler, nörolitik ajanlar ile) ve yine nöroablasyon temeline dayalı kriyokoagülasyon, koterizasyon, iyonizan radyasyon, ultrason, cerrahi destrüksiyon ve radyofrekans termokoagülasyon (RF)'dur.

RF yöntemi kronik ağrı tedavisinde nöroablasyon yaratarak ağrı iletimini durdurmak amacıyla uzun zamandır kullanılmakta ve oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ancak yüksek ısı ile yaratılan bu ablasyon deafferantasyon sekeline yol açabilmektedir. Uygulamalar sırasında komşu sinir dokusunda oluşacak hasar, uzun sürebilecek hatta geri dönüşümsüz olabilecek duysal ve motor fonksiyon kaybı riskine sahiptir. Bu sorun mümkün olduğunca C liflerine selektif olarak RF tedavisi yapılması ve miyelinli liflerin korunmasıyla sınırlandırılmaya çalışılmıştır. Ancak buna rağmen RF tedavisi sonrası zaman zaman nöropatik ağrı problemi ile karşılaşılmaktadır (2-5).

Slappandel ve arkadaşları (6), dorsal root ganglionuna 40°C ve 67°C RF uygulamışlar ve ağrı sağaltımı açısından iki grup arasında fark olmadığını saptamışlardır. Bunun üzerine ısı fizyolojik sınırlarda tutularak ağrı iletimini durdurabilen radyofrekans yöntemleri üzerinde çalışılmaya başlanmış ve pulse RF tekniği (PRF) geliştirilmiştir. Konvansiyonel RF (KRF) tekniğindeki devamlı akım, saniyede 2 frekans olacak şekilde pulse hale getirilerek yöntemin etkinliği artırılmış ve ısının konvansiyonel yöntemdeki kadar yüksek olmasına gereksinim kalmamıştır. Sinir dokusuna uygulanan ısı fizyolojik sınırlara

çekilerek ablasyonun derecesi düşürülmüştür. Böylece RF uygulamaları daha önce sadece duysal lifleri olan sinirlere yönelik iken artık motor lifleri olan periferik sinirler için de RF teknikleri uygulanabilir hale gelmiştir.

Klinik uygulamaya yeni girmiş olan pulse RF'in etkinliği ve yan etkileri hakkında bilgilerimiz henüz çok yetersizdir (6,7). Bu araştırmanın amacı RF uygulamalarında kullanılan konvansiyonel RF ve PRF tekniklerinin nöral doku üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

II- GENEL BİLGİLER

a. RF UYGULAMALARININ TARİHÇESİ

Çeşitli hastalıkların tedavisinde, dokulara elektrik akımı uygulayarak lezyon oluşturma fikri, ilk defa 1931 yılında Kirschner'in çalışmasıyla ortaya atılmıştır (8). Kirschner trigeminal nevralji hastalarında, gasser ganglionuna yerleştirdiği bir iğne ile direkt akım uygulamıştır. Ancak, direkt akımın oluşturduğu lezyonun boyutlarını kontrol etmek ve önceden tahmin etmekte zorluklar yaşanmış, istenmeyen büyüklüklerde lezyonlar oluşmuştur. Hunsperger ve Wyss (9) ise 1953'te bu tip uygulamalarda direkt akım yerine, yüksek frekanstaki (300-500 kHz) elektrik akımı kullanımını önermişlerdir. Bu frekanstaki akımların radyo transmitterlerinde de kullanılmasından dolayı "radyofrekans akımı" terimi bu akımların tanımı olarak kabul görmüştür.

Direkt akımı ilk kez 1965 yılında Mullan (10), perkütan lateral kordotomi uygulaması ile kullanmış, aynı yıl Rosomoff (11) aynı uygulamada radyofrekans (RF) akımını kullanmıştır. Sweet ve Wepsic (12) 1974 yılında, trigeminal nevralji tedavisinde RF akımını kullanarak Gasser ganglionu lezyonu oluşturdukları tekniği, Uematsu ve arkadaşları (13) ise aynı yıl perkütan RF rizotomi tekniğini tanımlamışlar. Spinal ağrı tedavisinde RF kullanımına öncülük eden Shealy, lomber ve servikal bölgedeki faset eklemlerden kaynaklanan ağrıların tedavisinde medial dal lezyonunu tanımlamıştır (1975) (14).

1970'li yılların sonuna doğru oluşan komplikasyonların artması nedeni ile (iğnelerin kalınlığı v.s. gibi teknik yetersizlikler nedeniyle) RF uygulaması kullanım sıklığında büyük bir azalma olmuştur.

1980 yılında Sluijter ve Mehta (15) tarafından geliştirilen ve yöntemin güvenliğini artıran küçük çaplı, 22 G kalınlığında bir kanül ve bunun içinden geçen, ucunda dokuda oluşan sıcaklığı ölçen "thermocouple" probu taşıyan ince bir elektrot sayesinde RF teknikleri tekrar gündeme gelmiştir. Radyolojik görüntüleme yöntemlerindeki gelişmelerde RF uygulamalarının gündeme gelişinde etkin olmuştur.

1990'lı yılların ilk yarısına kadar RF uygulamalarında klinik etkiden sadece oluşan ısı lezyonu ve sinir hasarı sorumlu tutulmaktaydı. Ancak Van Kleef ve ark.'nın (16) 1993 yılında yayımladıkları çalışmalarında servikal arka kök gangliyonlarına konvansiyonel RF uygulanan hastaların, uygulama sonrası ilgili dermatomda ağrının tekrar ortaya çıkmasının, sensoryal kaybın normale dönmesinden çok daha uzun sürdüğünü göstermeleri ile bazı soru işaretleri doğmuştur. Bu farklılık önceleri RF' in myelinsiz ve myelinli sinir lifleri üzerindeki selektif etkisine (17) bağlanmaya çalışılmış, ancak yapılan yeni çalışmalar böyle bir etkiyi gösterememiştir (18- 22).

1996 yılında ilk pulsed RF uygulamasını gerçekleştiren Sluijter, ilk sonuçlarını 1998 yılında yayımlamış ve ısı artışı oluşturmadan elektromanyetik alan uygulamada, Slappendel ve ark.'nın (6) iddia ettiği gibi konvansiyonel RF'i düşük voltaj uygulayarak kullanmanın etkili olmadığını belirtmiştir.

b. RF UYGULAMALARI

1. Konvansiyonel RF

Konvansiyonel yöntem ile uygulanan radyofrekans akımında, işlem için özel olarak tasarlanmış aygıtın ürettiği akım bir elektrot sistemi aracılığı ile ilgili dokuya iletilir. İğne şeklindeki elektrot, "aktif uç" olarak adlandırılan en distal kısmı dışında yalıtkan bir madde ile kaplanmıştır. Aktif ucun boyu 2 mm ile 15 mm arasında değişir. Dokuya iletilen akım, hastaya bağlanan plak şeklindeki nötr elektrot aracılığı ile tekrar RF cihazına döner. Hastanın vücuduna giren akım ile vücuttan çıkan akım eşittir, ancak nötr elektrodun yüzey alanı aktif uçtan çok daha geniş olduğundan, nötr elektrot çevresinde oluşan elektriksel aktivite önemsiz boyuttadır. Aktif uçtan çıkan akım ise, uygulama bölgesinde iki önemli olaya neden olur. Bunlar ısı oluşumu ve elektromanyetik alan oluşumudur (20, 23).

Aktif uç çevresinde ısı oluşumunun sebebi, dokunun yüksek frekanstaki akıma karşı gösterdiği dirençtir. Oluşan elektromanyetik alanın dokudaki elektrolitlerin yüklü iyonları üzerinde oluşturduğu elektriksel güç, bu iyonlarda

hareket ve sürtünme artışına sebep olur (24- 27). Isı artışı, akım yoğunluğunun en fazla olduğu aktif uç çevresinde en belirgindir. Dokudaki ısınma sonucu elektrot ucu da ısınır (6, 20). Dokuda oluşan lezyon aktif ucun proksimalinde distale göre daha geniştir (28, 30). Bu nedenle konvansiyonel RF uygulamalarında elektrodun sinir dokusuna paralel olarak yerleştirilmesi önerilmektedir (29).

Teorik olarak, homojen bir dokuda, RF uygulaması sırasında dokuya iletilen ve ısı oluşumuna neden olan enerji (Q) şu şekilde hesaplanır:

$$Q = P \times t$$

Burada P; watt cinsinden, 1 saniyede dokuya iletilen enerji ve t; saniye cinsinden süredir. I'nın amper cinsinden elektrik akımı ve V'nin volt cinsinden voltaj farkı olduğu bir formülde eşitlik şu şekilde yeniden düzenlenebilir.

$$P = I \times V$$

$$Q = I \times V \times t$$

Bir başka eşitlikte ise empedansın [R (Ohm)] rolü izlenmektedir.

$$V = I \times R$$

Sonuç olarak;

$$Q = I^2 \times R \times t \quad \text{veya} \quad Q = V^2 \times t / R \quad \text{eşitlikleri elde edilir.}$$

Bu formüller lezyon boyutunun belirlenmesinde etkili olan ısı oluşumunun; voltaj, akım, empedans ve uygulama süresi ile nasıl etkilendiğini açıklamaktadır (31). Lezyon boyutunu belirleyen diğer bir faktör ise ısının kaybıdır. Bunu belirleyen ise dokunun ısı iletkenliği ve kan dolaşımı ile ısının uzaklaştırılmasıdır. Ayrıca elektrodun kalınlığı, aktif ucun uzunluğu gibi teknik özelliklerde bu parametreleri etkilemektedir.

Dokuda oluşan lezyonun boyutunu belirlemek, etkileyen faktörlerin çeşitliliği nedeni ile oldukça zordur. Bu nedenle kontrollü lezyon oluşturabilmek için RF uygulamalarında, elektrot ucu sıcaklığı "thermocouple tekniği" olarak adlandırılan özel bir teknikle monitörize edilir. Sıcaklık monitörizasyonu yaparak şu noktalara dikkat edilir:

- Elektrot ucu sıcaklığının, yapılan uygulamanın çeşidine uygun değere erişmesi
- Ani sıcaklık oynamalarının olmaması

- Kaynama noktası olan 100°C üzerindeki sıcaklıklara çıkılmaması 100°C üzerindeki sıcaklıklarda kaynama sonucu gaz oluşumu ve kömürleşme gerçekleşir. Bu durumda doku içinde hava dolu boşluklar oluşur, akım ölçerde okunan değer düşer, voltaj yükselir (10, 27, 30, 32).

Konvansiyonel RF uygulamasına bağlı oluşan ısı lezyonunun tanımlanması amacıyla Moringlane ve ark'nın (28) tavşan beyni üzerinde yaptığı morfolojik çalışmada, 3 farklı bölge tanımlanmıştır.

- En iç kısımda yer alan nekroz bölgesi
- Çekirdek bölgeye komşu, dejenere hücre ve sinir liflerinin bulunduğu sirküler bölge
- Normal beyin dokusuna komşu, ödemli ve süngersi görünümde en dış bölge

Lezyonun boyutu üzerine uygulama süresinin etkilerinin incelendiği çalışmalarda, belli bir kararlı duruma ulaşıldıktan sonra uygulama devam etse bile lezyon boyutunda anlamlı büyümenin olmadığı gösterilmiştir. Cosman ve ark'nın (26), kedilerde arka kök giriş bölgesi (Dorsal Root Entry Zone, DREZ) üzerinde yaptıkları çalışmada, elektrot ucu sıcaklığının 75°C'de sabit tutulduğu durumda, 30 sn sonrasında lezyonun boyutunun sadece %20 arttığı, 60. sn'den sonra ise lezyon boyutunda değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Sluijter ve Van Kleef'in (24) bilgisayar modelleri kullanarak yaptıkları çalışmada, yumuşak dokuda standart lezyon (medial dal lezyonu, arka kök ganglionu lezyonu, sempatik zincir lezyonları) oluştururken, 60 saniyeden uzun süreli uygulama yapmanın anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır.

RF uygulamaları ameliyathane ortamında lokal anestezi ve sedasyon uygulanarak radyolojik görüntüleme eşliğinde yapılır. Girişim çeşidine göre seçilen elektrot, ilgili bölgeye perkütan olarak yerleştirildikten ve yeri radyolojik olarak kontrol edildikten sonra 50 Hz (duysal) ve 2 Hz (motor) frekanslardaki uyarılar ile stimülasyon uygulanır. Motor stimülasyon ile motor sinir liflerinden güvenli uzaklıkta bulunulduğu doğrulanır. Ardından uygulamanın tipine göre değişen elektrot ucu sıcaklarında (örneğin arka kök ganglionu lezyonu için 67°C, gasser ganglion lezyonu için 80°C) ve değişen sürelerde (örneğin arka kök ganglionu lezyonunda 60 sn., intervertebral disk lezyonunda 3-6 dakika)

akım uygulanır. Uygulamalar sırasında, devrenin bütünlüğünü ve kısa devre oluşumunu kontrol etmek, elektrodun doğru yerleşiminden emin olmak amacıyla empedans monitörizasyonu da uygulanmaktadır. Ekstradural yapıların empedansı 300 ohm ile 600 ohm arasında değişirken, medulla spinalisin empedansı 1000 ohm'un üzerinde, intervertebral diskin ise 200 ohm'un altındadır.

2. Pulse RF

Yakın zamana kadar RF uygulamalarında klinik etkiden ısının oluşturduğu sinir hasarı sorumlu tutulmaktayken, son dönemde ısı dışı faktörlerin etkili olabileceği fikrinin doğması araştırmacıları ısı oluşturmadan RF akımı uygulamaya yöneltmiştir. Doku hasarı oluşturacak boyutta ısı oluşturmadan RF akımı uygulama yolları şunlardır:

- Nötr plağın hastaya bağlanmaması

Bu durumda elektromanyetik alan oluşmasına rağmen ısı artışı gözlenmez; çünkü akım oluşmaz (25, 33, 34).

- Elektrot ucunun serum fizyolojik ile soğutulması (33)
- Konvansiyonel RF tekniğinde düşük güç kullanarak, sıcaklığın 42°C'nin üzerine çıkartılmadan uygulamanın yapılması
- RF akımının saniyede iki kez, 20 milisaniye süresince uygulandığı pulse RF tekniği

Her aktif siklus arasındaki 480 milisaniye boyunca dokunun soğumasına olanak kaldığı için ısınma oluşmaz.

Pulse RF'te klinik etkiden sorumlu olduğu düşünülen elektromanyetik alan elektrodun aktif ucundan çevreye doğru azimutal olarak yani elektrot aksı çevresindeki çemberlere tanjansiyel şekilde yayılır.

Elektromanyetik alanın en yoğun olduğu kısım, elektrodun sivri olan uç kısmıdır (35). Bu nedenle pulse RF uygulamalarında, konvansiyonel RF'in aksine, elektrot sinir dokusuna dik olarak yaklaştırılır (36).

Pulse RF'in uygulanması sırasında konvansiyonel RF'te olduğu gibi elektrot işlem yapılacak bölgeye radyolojik görüntüler ile kontrol altında

yerleştirildikten, stimülasyon uygulayarak ve empedans kontrolü yaparak elektrot ucunun yeri doğrulandıktan sonra 45 volt cihaz çıkış gücü ile saniyede 2 kez 20 ms süreli RF akımı 120 saniye süre ile uygulanır. Pulse RF ağrısız bir uygulama olduğu için lokal anesteziye gereksinim yoktur. Uygulama sırasında elektrot ucu sıcaklığının 43°C'yi geçtiği görülürse çıkış gücü 40 volta düşürülür (20).

Doğru endikasyon koyularak, doğru teknikle yapılmış pulse RF uygulamasının ardından şu klinik seyir gözlenir:

- **1. faz, afallama (stunning) fazı:** Uygulamadan hemen sonra hastaların çoğunda ağrı geçer.
- **2. faz, postoperatif rahatsızlık fazı:** Bu faz, postoperatif 3 yada 4 haftaya kadar sürebilir. Bu durum konvansiyonel RF uygulamalarındakine benzerdir, ancak pulse RF uygulamalarında konvansiyonel yöntemde sıklıkla gözlenen nörit benzeri reaksiyon gözlenmez. Isı lezyonunu takiben görülen rahatsızlık hissini iki komponenti olduğu düşünülmektedir. Birincisi hedef sinir dokusunda destrüksiyona bağlı sözü edilen nörit benzeri reaksiyon, ikincisi ise pulse RF uygulaması sonucunda da görüldüğü için elektromanyetik alan uygulamasına bağlanan rahatsızlıktır.
- **3. faz, klinik iyileşmenin gözleendiği faz:** Bu fazın süresi hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Bazı çalışmalar konvansiyonel yöntem ile pulse RF yöntemi arasında 3. fazın süresi açısından farklılık bulunmadığını belirtirken bazıları da pulse RF uygulamasının daha kısa süreli iyileşme oluşturduğunu belirtmektedir (20).
- **4. faz, rekürrens fazı:** Bu dönemde hastanın eski ağrısı yeniden ortaya çıkar.

c. Konvansiyonel ve Pulse RF Uygulamalarının Karşılaştırılması

Konvansiyonel RF'de ısı ile doku hasarı oluşturulurken, pulse RF tekniği klinik olarak gözlelendiği kadarıyla nondestrüktif bir uygulamadır.

Konvansiyonel RF'de yeterli lokal anestezi uygulanmazsa girişim ağrılı olabilir, uygulamayı takip eden dönemde nörit benzeri reaksiyon gözlenebilir ve duysal kayıp ortaya çıkabilir. Uygulama bölgesi kemik komşuluğunda ise yada doku homojen değil ise lezyon boyutu beklenenden büyük olabilir. Ayrıca elektrodun yanlış bölgeye yerleştirilmesi durumunda istenmeyen hasarlar (ör: ön motor sinir hasarı) meydana gelebilir (35).

Pulse RF nondestrüktif bir yöntem olduğundan, konvansiyonel RF'in uygulanamadığı bazı durumlarda (nöropatik ağrı, C₈'in arka kök ganglionu, motor lifleri olan periferik sinirler) uygulanabilir.

Girişim genel olarak ağrı oluşturmaz, girişim sonrasında uygulama bölgesinde rahatsızlık hissedilse de bu konvansiyonel RF'e göre oldukça düşük düzeydedir.

Pulse RF nörit benzeri reaksiyon ve duysal kayıp oluşturmaz. Uygulama bölgesinin kemik veya skar dokusu komşuluğunda olması pulse RF'in komplikasyon riskini arttırmaz.

Pulse RF tekniği elektrot ucundan uzak bir bölgede etki oluşması istendiğinde uygun değildir. Çünkü ısı çevreye yayıldığı halde elektromanyetik alan yayılmaz (ör: disk RF uygulaması) (36).

d. PERİFERİK SİNİRLERİN YAPI VE FONKSİYONLARI

Sinir sistemi insanlarda 10 milyardan fazla nöron ve bunları oluşturan primitif nöroeffektör hücrelerden ibarettir. Bu hücreler kontraksiyon yoluyla değişik uyarıları karşılar ve iletir.

Sinir sistemi; beyin ve medulla spinalis'ten oluşan merkezi sinir sistemi ve sinir lifleri ve sinir hücrelerinin küçük kümeleri olan sinir ganglionlarından oluşan periferik sinir sistemi olmak üzere anatomik olarak ikiye ayrılır (37, 38).

Sinir dokusu iki hücre tipi içerir. Bunlar sinir lifleri içeren *nöronlar* ve nöronları koruyan, destekleyen, nöral aktiviteye ve nöral beslenmeye katılan, merkezi sinir sisteminin savunmasını, myelinizasyonu sağlayan *nöroglia* hücreleridir (37- 39).

Sinir lifleri ektodermal orjinli *myelin* denen özel kılıflarla sarılabilen aksonlardan ibarettir. Aksonlar merkezi sinir sistemi tractuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Myelin kılıfını; periferik sinir liflerinde *Schwann hücreleri*, merkezi sinir liflerinde ise *Oligodendrosit*'ler oluşturur. Küçük çaplı aksonlar çoğunlukla myelinsizdir. Gittikçe kalınlaşan aksonlar genellikle artan sayılardaki konsantrik myelin lamelleri ile sarılmıştır. Sinir impulsunun aksonal iletimi büyük çaplı ve kalın myelin kılıflı aksonlarda daha hızlıdır (37, 40-46).

Myelin:

Akson çevresini sarar ve iletim hızını arttırır. Sinirler boyunca iletim hızı aksonun rezistansı ve elektrik kapasitesi tarafından sınırlanmıştır. Çünkü, geniş aksonlar dar aksonlardan daha düşük kapasiteye sahiptir. Akson çapı artışı sinir iletim hızı artışı anlamına gelir.

Elektrik kapasitesinin redüksiyonu ve izolasyonu myelin kılıfı tarafından yapılır. Aksonların etrafındaki lipidce zengin membran tabakasını oluşturan bu hücreler; merkezi sinir sisteminde *oligodendrosit*, periferik sinir sisteminde *Schwann hücreleri* olarak isimlendirilir. Bir schwann hücresi sadece bir aksonun myelinizasyonunu sağlarken, bir oligodendrosit çok sayıda komşu aksonun myelinizasyonunu sağlar. Ancak, myelin yapısında farklılıklar vardır (41, 44, 46).

Myelinli Aksonlar:

Myelin oluşmasında ilk aşama aksonun Schwann hücresine penetrasyonu ile başlar. Bu penetrasyonda karşılıklı gelen Schwann hücre membranları, *mezaksonu* oluşturmak üzere bir araya gelir ve böylece iki kenarın plazma membranları birleşir. Mezakson akson çevresinde birkaç kez dolanır, dolanım sayısı myelin kılıfın kalınlığını belirler. Her akson Schwann hücreleriyle çevrilidir (40, 41, 47-50). Myelin kılıfın kesintiye uğradığı yerlere *Ranvier Boğumu* adı verilir (51). Bu yapılar aksonun uzunluğu boyunca komşu Schwann hücreleri arasındaki boşluklardır. İki boğum arasındaki uzaklık *internod* adını alır ve bir Schwann hücresi tarafından oluşturulur. Aksonun çapına bağlı olarak internodun uzunluğu ve myelinin kalınlığı değişir. Ancak myelin kalınlığı bir akson boyunca sabittir. Işık mikroskopunda görülebilen *Schmidt-Lanternman yarıkları* myelin kılıftaki koni şekilli, dıştan içe doğru uzanan, heliks şeklinde sitoplazmik tünellerdir (44, 52-54).

Merkezi sinir sisteminde myelin kılıf oligodendrositlerin uzantılarıyla oluşturulur. Bunlar Schwann hücrelerinden farklıdır. Bir hücrenin farklı dalları birkaç aksonun segmentini çevreler. Merkezi sinir sisteminde Ranvier Boğumları görülmeyebilir ve Schmidt-Lanternman yarıkları yoktur (41, 44, 47-50, 52, 55).

Myelinsiz Aksonlar:

Merkezi ve periferik sinir sisteminin her ikisinde de aksonların tümü myelin ile örtülmemiştir. Periferik sinir sisteminde tüm myelinsiz aksonlar Schwann hücrelerinin basit örtüsüyle çevrelenmiştir (44, 45, 51, 56, 57). Myelinsiz sinir liflerinde Ranvier Boğumu yoktur (40, 44, 53, 57). Bitişik Schwann hücreleri, sürekli bir kılıf oluşturmak için longitudinal olarak birleşirler. Özellikle merkezi sinir sistemi, myelinsiz aksondan zengindir (44, 51, 57).

Schwann hücreleri:

Üçgen görünümlü, oval nükleus içeren hücrelerdir. Dokuzuncu güne kadar Schwann hücreleri uzunca görünüşlü olup, kendine ait aksonlarla birlikte tanımlanırlar. Miyelinizasyon döneminde sitoplazmasında granular endoplazmik retikulum, poliribozomlar, iyi gelişmiş golgi kompleksi, hücre iskeletinin elemanter yapılarını içerirler. Miyelinizasyon dönemindeki sitoplazmik uzantıları, spiralleşme göstererek artan sayıda aksonun etrafını kuşatırlar. Bu sitoplazmanın kalıntıları sadece Schmidt-Lantermann ve paranodal bölgede miyelinizasyonu oluşturmaktadır (51, 58-62).

Sinirler:

Periferik mikst (motor ve duysal lifler taşıyan) bir sinirin enine kesitinde en dışta, sinirin bütünü örtün *epinöryum* tabakası yer alır. Bunun altında gruplar halinde motor ve duysal aksonları içeren *fasiküller* yer alır. Bir periferik sinir içinde ortalama 3-5 fasikül bulunur. Fasikülü *perinöryum* çevreler. Periferik sinir boyunca fasikülün lif içerimi değişir. Yani, bir fasiküldeki sinir lifi, periferik sinir boyunca bir başka fasiküle geçebilir. Fasikülün içinde aksonların arasındaki bağ dokusuna ise *endonöryum* adı verilir. Periferik sinir içinde kanı taşıyan kapiller damar sistemi *vasa nervorum* adını alır. Bir periferik sinirin hücre gövdesi ve aksonu vardır. Hücre gövdesi arka kök ganglionunda veya omurilik ön boynuzda yerleşimli iken, aksonun uzunluğu 1 metreyi aşabilir. Miyelinli liflerde aksonun etrafını miyelin örter.

e. SINİR LİFLERİNİN HİSTOFİZYOLOJİSİ

Sinir dokusunun tam işlev görmesi sinir impulslarının üretimi, taşınması ve özel sinir hücrelerinde üretilen nörotransmitterlere bağlıdır. İmpuls iletiminde hücre membranı çok önemli bir yer tutar.

Dinlenme Potansiyeli: Hücre içi iyon konsantrasyonları, hücre dışı sıvılarınkinden farklıdır. Bir nöronda bulunan K^+ konsantrasyonu, hücre dışı sıvıdaki konsantrasyonundan yirmi kat fazladır. Na^+ iyonları da hücre dışında

hücre içinden on kez daha yoğundur. Hücre membranı K^+ iyonuna daha geçirgendir. Sonuçta, pozitif yükler membranın dış yüzünde toplanır ve hücredeki negatif yüklü makromoleküllerle dengelenir. Bu olay, diffüzyon kuvvetinin dengelenip, pozitif yükün pozitif alana geçişinin zorlaştığı zamana dek sürer. Bu andaki hücre membranı yüküne *dinlenme membran potansiyeli* denir (37).

Konsantrasyon farklılıkları Na^+ - K^+ pompalarıyla sürdürülür. Bunun için ATP kullanılır. Çünkü, bu olay enerji gerektiren aktif bir transporttur. ATP-az enzimi, içteki Na^+ iyonlarını dıştaki K^+ iyonlarıyla değiştirir (37, 63).

Aksiyon Potansiyeli: Nöronların kas hücrelerinin plazma membranları iyon seçici kanal olarak görev yapan integral membran proteinleri içerir. Herhangi bir anda bu kanallar açık, kapalı veya inaktive olabilir. Açık veya kapalı olma durumu membran potansiyeli ile belirlenir. Bu kanallar voltaj kapatan kanallar olarak isimlenirler (37).

Dinlenme fazında zar potansiyeli yaklaşık 90 mV'tur ve çoğu Na^+ ve K^+ kanalları kapalı durumdadır. Post-sinaptik hücredeki eksitator sinaptik girişin bir sonucu; hücrenin kısmi depolarizasyonudur. Membran potansiyeli 0 V'a doğru değişir. Depolarizasyon kritik bir düzeye eriştiğinde (eşik), Na^+ kanalları açılır ve Na^+ iyonunun geçmesine izin verir. Bu, hücreyi daha fazla depolarize eder ve daha çok sayıda Na^+ kanalı açılır. Bu kısımda, membran potansiyelinde tersine bir değişiklik olur. Na^+ kanalları bundan sonra spontan olarak inaktive olur ve bu durumda 1-2 milisaniye kalır (37).

Membran potansiyel değişiklikleri sonucunda K^+ kanalları da açılır. Ancak, bu uzun bir zaman periodunda olur. Bu membran potansiyelini orijinal düzeyine getirir, hatta altına iner (hiperpolarizasyon). Bu olaylar, aksiyon potansiyeli eşik üzerinde bir uyarım yapıncaya kadar sabit kalır. 1-2 milisaniye sonra (refrakter period) kanallar orijinal durumlarına döner ve membran yeniden bir uyarıya açık hale gelir. Aksonlar saniyede bin kez aksiyon potansiyeli üretebilirler (37, 64).

f. SİNİR LİF TİPLERİ VE İŞLEVLERİ

Periferik sinir lifleri kalınlık ve ileti özelliklerine göre başlıca üç gruba ayrılır: A, B ve C lifleri. A grubu da alfa (α), beta (β), gama (γ) ve delta (δ) liflerine ayırmıştır (Tablo 1). A lifleri en hızlı iletilen en kalın miyelinli liflerdir. Ağrı; A- δ ve C lifleriyle iletilir. A- δ lifleri, ağrının yanısıra dokunma ve ısı duyularını da iletirler. Kas içciklerinden gelen afferent lifler, derinin kalın miyelinli hızlı ileten duysal afferentleri ve omurilik ön boynunda yer alan motor hücrelerin kaslara giden efferent lifleri bu gruptadırlar. B lifleri daha ince miyelinli olup preganglionik otonomik efferent lifleri içerir. C lifleri küçük çaplı miyelinsiz lifleri içerir. Postganglionik otonomik efferent lifler ve ağrı, ısı duyumunda görevli somatik afferent liflerin çoğunluğu bu gruptadırlar. Diğer lifler olasılıkla omurilik ve beyin sapında entegre edilen refleks yanıtlarla ilgilidir (37, 55, 65, 66). En kalın miyelinli aksonların çapları 20 μm kadarken miyelinsiz aksonların çapları 0.2-3.0 μm arasında olup en çok 1.5 μm civarındadır.

İletim hızı ve lif çapındaki farklılıklara ek olarak, periferik sinirlerdeki liflerin çeşitli sınıfları hipoksi ve anesteziye maddelere duyarlılıkları bakımından da farklılık gösterirler. Lokal anesteziye A grubundaki dokunma liflerini etkilemeden önce C grubundaki liflerin iletimini deprese ederler. Aksine, sinir üzerinde oluşturulan baskı, liflerdeki motor, dokunma ve basınç iletiminin kaybına neden olurken, ağrı duyusu nispeten sağlam kalır (40).

Tablo 1: Memeli sinirinde sinir lifi tipleri¹

Lif tipi	İşlevi	Lif çapı (µm)	İletim hızı (m/s)	Dikensi bölüm süresi (ms)	Kesin duyarsız dönem(ms)
A					
α	Derin duyu, somatik motor	12-20	70-120	0.4-0.5	0.4-1
β	Dokunma, basınç	5-12	30-70		
δ	Kas içciklerine motor	3-6	15-30		
γ	Ağrı, soğuk, dokunma	2-5	12-30		
B	Preganglionik otonom	< 3	3-15	1.2	1.2
C					
Arka kök	Ağrı, sıcaklık, bazı mekanik algılamalar, refleks yanıtlar.	0.4-1.2	0.5-2	2	2
Sempatik	Postganglionik sempatikler	0.3-1.3	0.7-2.3	2	2

¹A ve B lifleri miyelinlidir; C lifleri miyelinsizdir.

g. PERİFERİK SİNİR SİSTEMİNİN DEJENERASYON VE REJENERASYONU

Etkili düzeyde rejenerasyonun olmadığı merkezi sinir sisteminden farklı olarak periferik sinir sisteminde hem dejenerasyon hem de rejenerasyon görülür (67-69). Buna bağlı olarak periferik sinir sisteminde üç değişik dejenerasyon şekli göze çarpar:

- a)Wallerian dejenerasyon
- b)Aksonal dejenerasyon
- c)Segmental dejenerasyon

Wallerian dejenerasyon: Periferik sinirin aksonunun herhangi bir yerinin herhangi bir nedenle (travma, infarktüs, uzamış veya şiddetli baskı gibi) hasarlanması ve bütünlüğünün bozulması sonucunda oluşan zararlanmadır. Aksonun kesintiye uğradığı yerin distalinde akson ve ardından çevresindeki miyelin kılıf dejenere olur, makrofajlarla fagosite edilir. Aksonun hasar yerinin proksimalinde kalan kısmı ve periferik sinir hücre gövdesi sağlam kalır. Periferik sinir hücresinin aksonu kesintiye uğradığında Wallerian dejenerasyonunun

gelişimi belirli bir zaman alır. Bu süre 4 - 11 gün arasında değişir. Akson ne kadar distalde kesintiye uğrarsa Wallerian dejenerasyonu o kadar erken gelişir. Wallerian dejenerasyonunda ilk günlerde aksonun hasarının distalinde kalan kısmı elektrikle tamamen normal olarak uyarılabilir. Daha sonra hasar yerinin, aksonun ucuna uzaklığına göre, değişen bir süre içinde, sinirin uyarılabilirliği azalır en çok 11 gün içinde sinir uyarılamaz hale gelir. Motor sinirlerde ise sinir uyarımını takiben kastan alınan yanıt, nöromüsküler kavşağın periferik sinirden iki gün daha önce dejenere olması nedeniyle, hasarın en geç dokuzuncu gününde kaybolur. Sinir kılıfının devamlılığının korunmuş olması halinde, dejenerasyonu takiben sinir, hasarlandığı yerin distaline doğru günde yaklaşık 1 mm hızla rejenere olur. Aksonun kesintiye uğrayan kısmından distale doğru rejenere olan kısım aksonun ilk haline göre daha ince miyelinlidir ve internodal aralıklar daha kısadır

Aksonal dejenerasyon: Periferik sinir hücre gövdesinin veya aksonunun hasarı söz konusudur. Nedeni çoklukla metabolik veya toksikdir. Prognozu en kötü olan zararlanma tipidir. Periferik sinir hücresi canlılığını yitirdiyse artık geri dönüş yoktur. Eğer neden, aksonun bütünlüğü bozulmadan ortadan kaldırılırsa akson haftalar - aylar içinde fonksiyonuna kavuşabilir. Dejenerasyon alt uçtan veya periferde aksonun ucundan başlar ve hücrenin gövdesine doğru uzanır. Buna “*dying back*” adı verilir. Genellikle, hücre gövdesinde *kromatoliz* vardır. Aksonal dejenerasyonun devam ettiği bölgede wallerian dejenerasyondan daha az schwann hücre çoğalması görülmüştür (51, 67, 70-73).

Nöron fonksiyon bozukluğu durdurulabilir veya geriye döndürülebilirse rejenerasyon ve biraz iyileşme sağlanabilir. Eğer, büyümeleri için bir engel yoksa, yenilenen aksonlar dejenere aksonu sindirirken geride kalan schwann hücreleriyle birlikte sinir gövdesinden aşağıya doğru günde 1mm’lik hızla büyürler (69-73).

Segmental dejenerasyon: Miyelinli sinir liflerinde, periferik sinir aksonunda bir hasar olmaksızın etrafındaki schwann hücresinde ve/veya miyelin kılıfında hasar söz konusudur. Demiyelinizasyon, herediter nöropatilerde olduğu gibi tüm sinir boyunca olabilir veya edinsel demiyelinizan durumlarda (Guillain-Barré Sendromu veya kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati

gibi) belirli bir sinir segmentinde söz konusu olabilir. Demiyelinizasyondan sonra kalan schwann hücrelerinin çoğalmasıyla remiyelinizasyon oluşabilir. Tekrarlayan miyelin kaybı ve yenilenmesi atakları oluşabilir ve tabakalar şeklinde birbirini izleyen schwann hücresi ve kollojen, hipertrofik nöropatide görülen konsantrik dizilimler oluştururlar (67, 71-76).

III- GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın uygulama kısmı Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında, elektron mikroskopik incelemesi Mersin Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı.

Yetişkin erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Deneklerin genel anestezisi için ketamin hydrochlorid 0,15 mg/kg (Ketalar, Pfizer, İstanbul) + %2'lik Xylazin hydrochlorid 0,02 mg/kg intraperitoneal (Rompun, Bayer, Levekusen- Germany) kullanıldı. Genel anestezi uygulamasının ardından sıçanlar, abdominal ve sağ gluteal bölgelerinde cilt açığa çıkarılacak şekilde traş edildi. Uygulama sahasına pron pozisyonda yatırılan sıçanların, abdominal bölgesine çalışmada kullanılan radiofrekans aygıtının (RFG 3C Plus, Radionics) nötr plağı yapıştırıldı. Ardından gluteal bölge antiseptik solüsyonla silinerek steril olarak örtüldü. Cerrahi insizyon ile cilt, cilt-altı geçilerek siyatik sinire ulaşıldı; 22 gauge, aktif ucu 2 mm SMK-5 elektrotu (Slujter Mehta, Radionics) sinire hasar vermeyecek şekilde çok yakınına yerleştirildi. Daha sonra iğne RF cihazına bağlandı. Empedans değerinin 300-700 ohm olduğu görüldükten sonra 2 Hz frekansta elektrik stimülasyonu verilerek motor hareket gözlemlendi. 1.0 V altındaki bir değerde hareket gözlenene kadar iğne yeri oynatılarak siyatik sinirin içine girmeden yeterli yakınlığa ulaşılması sağlandı. KRF40 grubunda, 90 saniye süreyle 40°C KRF uygulandı. KRF80 grubunda, 90 saniye süreyle 80°C KRF uygulandı. PRF grubunda, 240 saniye süreyle, 45 V, 42°C'yi geçmeyecek şekilde PRF uygulandı. Kontrol grubundaki deneklere hiçbir işlem yapılmadı. Sham grubunda RF elektrodu yerleştirildi ancak RF enerjisi verilmedi. Her sinire yapılan uygulama sonrası, insize edilen katlar tek tek 4/0 kromik katgüt ile, deri ise USP 2/0 ipek iplik ile dikildi. Daha sonra hayvanlar 48 saat steril ortam ve uygun şartlarda takip edildi.

Kontrol, Sham, KRF 40, KRF 80 ve PRF olmak üzere gruplar oluşturuldu. Her grup için 6 sıçan kullanıldı. İki gün bekleme sonunda %2,5'lük fosfat tamponlu glutraldehid solüsyonu intrakardiak perfüzyon ile tespit için kullanıldı.

Tespit edilen deneklerden sinirin uygulama yapılan bölgesinden alınan yaklaşık 1cm uzunluğundaki sinir parçası diseksiyon mikroskobu altında diseke edilerek çıkarıldı (Ek 1). Alınan örnekler uygun fiksatiflerde tutularak hem ışık hem de elektron mikroskobu (EM) takibine yönlendirildi (Ek 2).

Işık Mikroskopik İnceleme: Örnekler oda ısısında, %10'luk formalin solusyonu içinde 24- 48 saat tespit edildikten sonra, bir gece akar su altında yıkanarak standart parafin doku takibine alındı. Doku örnekleri dehidratasyon, şeffaflaştırma, parafine gömme, bloklardan alınan 5 µ'luk seri kesitlere deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerinden sonra rutin *Hematoksilen-Eosin* (H-E) ve *Toluidin mavisi* boyaları ile boyandı (Ek 3).

İmmünohistokimyasal İnceleme: Seri kesitler indirekt immunoperoksidaz yöntemi ile değerlendirildi. *Laminin* ve *miyelin basic* protein boyamalarına tabi tutuldu. İmmünoaktivitelerin spesifik olup olmadığını test etmek amacı ile birer kesit fizyolojik tamponlu solüsyon (PBS) ile kontrol boyaması yapıldı.

Elektron Mikroskopik İnceleme: Kardiyak perfüzyon sonrasında sinir örneklerinden alınan 1 mm³ büyüklüğündeki dokular önce % 2.5 gluteraldehit solüsyonunda (fosfat tamponda hazırlanmış) +4°C da 1 gece süre ile tespit edildi. Fosfat tampon ile yıkanan doku örnekleri aynı tampon ile hazırlanmış % 1 osmiyum tetroksit solüsyonu ile +4°C'da 1 saat süreyle tespit edildi. Fosfat tampon solüsyonu ile yıkamadan sonra, dehidratasyon işlemi yapıldı ve infiltrasyon için propilen oksit uygulanan dokular karışıma alıştırma sürecinden geçirildi. *Araldite* karışımına (Araldite CY 212 20 ml, DDSA 22 ml, BDMA 1.1 ml, Dibutilphtalate 0.5 ml) gömüldü. Elde edilen bloklar 60°C'da 48 saat tutularak polimerizasyon işlemi tamamlandı ve bloklardan yarı-ince kesitler alınarak Metilen mavisi-Azur II birleşik boyası ile ışık mikroskop altında değerlendirildikten sonra, ince kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlama yapıldı. Transmission Electron Microscope (TEM-Zeiss) ile incelenerek görüntüler digital ortama alındı. Hem ince kesitlerde hem de TEM görüntülerinde morfometrik analizler yapılarak miyelin hasarı ve sinirde oluşan dejeneratif değişiklikler değerlendirildi (Ek 4).

Morfometrik İnceleme:

Patolojik skorlama: Kesitlerin dijital ortama aktarılması sonrasında görüntüler kör bir şekilde ödem, schwann hücre ve miyelin bozuklukları açısından az (+1), orta (+2) ve çok (+3) olmak üzere her grubun 6 farklı deneğinden alınan örnekler için derecelendirildi. Aritmetik ortalama ve standart sapmaları (SD) bulunarak, tablo halinde sunuldu.

Histomorfometrik ölçüm: Daha önceki çalışmalardan (38, 40, 41, 60, 61, 69, 113-115, 124, 140) uyarlanan morfometrik yöntem kullanılması ile akson sayısı, çapı ve miyelin kalınlığı hesaplanarak bu veriler excel 5.0 grafik-matematik ve Graphpad 1.0 istatistik programları kullanılarak değerlendirildi. $P < 0.001$ oldukça anlamlı ve $P < 0.05$ anlamlı bir fark olarak kabul edildi. Alanların hesabı + işaretlerinin bulunduğu bir skala içeren şablonun ışık mikroskopik fotoğrafların üzerine sabitlenmesi ve her bir akson alanının ve miyelin kalınlığının saptanması ile sağlandı (Şekil 2.1). Herbir miyelinli aksonun çapı oranında standardize edilmiş miyelin alanı bulunarak bu verilerin aritmetik ortalaması, standart sapması Excel 5.0 programında hesaplanıp bu verilere bağlı grafikler Excel 5.0'da çizildi ve istatistiksel değerlendirilmesi Graphpad 1.0 programı ile yapıldı. Verilerin ortalama ve standart sapmaları Excel 5.0 da hesaplanıp, Graphpad 1.0 programı ile tek yönlü varyasyon analizi (ANOVA) uygulanarak gruplar arasında saptanan istatistiksel fark $P < 0.001$, oldukça anlamlı (***) ve $P < 0.05$, anlamlı (*) olarak değerlendirildi.

IV- BULGULAR

Tüm deneklerin, deney öncesi yapılan fizik muayenelerinde motor ve duysal fonksiyonlarının olağan olduğu saptandı.

KRF80 grubu dışındaki deneklerin, deney sonrası örnekler alınmadan önce yapılan nörolojik kontrollerinde, deney yapılan bacaklarında paralizisi veya duysal kayıp benzeri bulgulara ve enfeksiyona rastlanmadı. Ancak KRF80 grubunda işlemde hemen sonra düşük ayak ve duysal kayıp gelişti.

IV.1 Işık Mikroskopisi

HE boyamalarda:

KONTROL grubu örneklerinde epinöryum ve perinöryum normal görünümde olup, miyelinli liflerde endonöryum ve perinöral aralık normal görünümde bulundu.

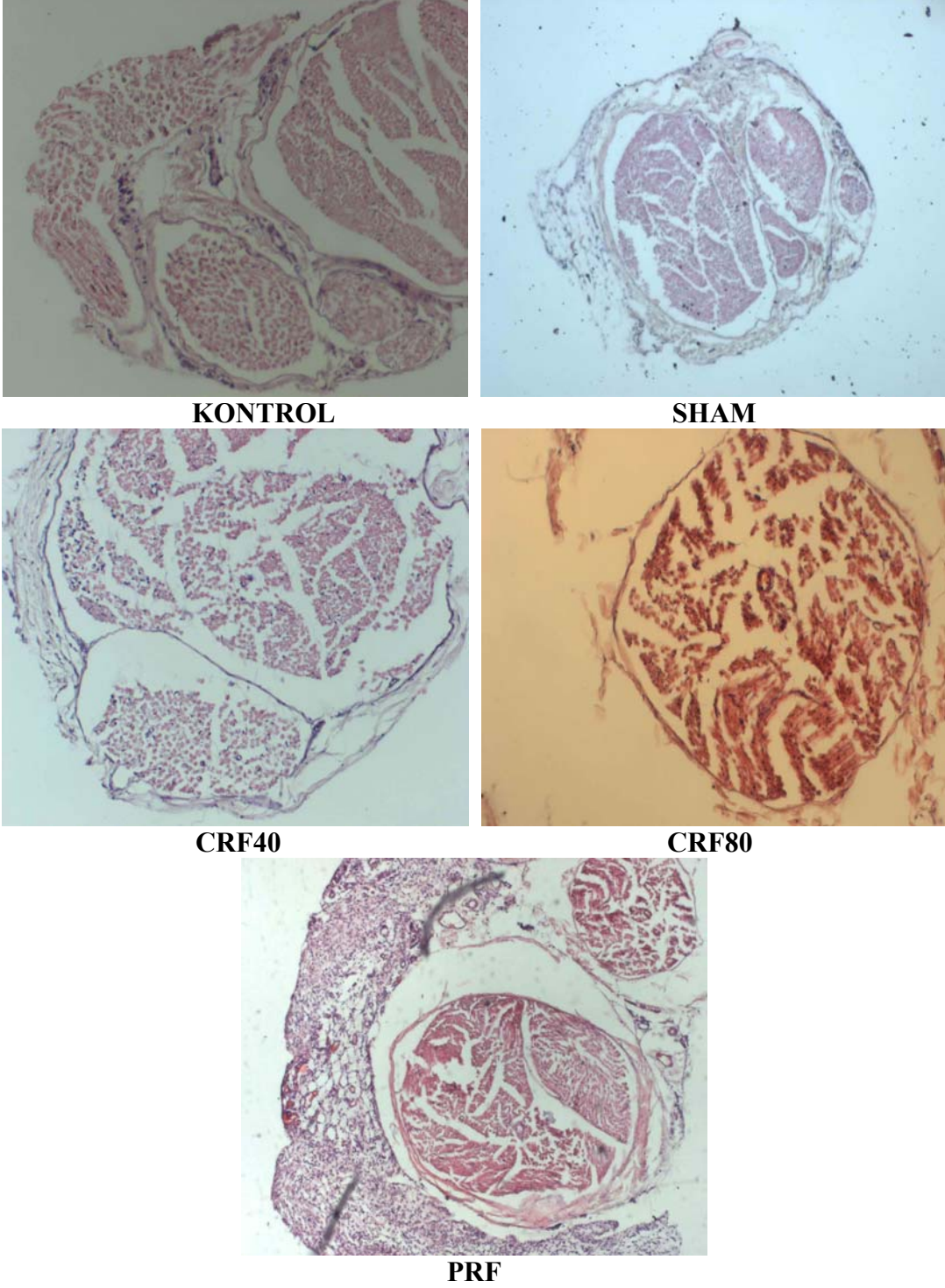
SHAM grubu örneklerinde 48 saat sonra alınan transvers kesitlerin normal görünümlü kapiller damarlarının dışında özellikle miyelinli liflerde miyelin kılıfında az miktarda deformasyon ve konfigürasyonlar ile endonöral ödem görüldü.

KRF40 grubu örneklerinde siyatik sinir transvers kesitinde normal morfolojik yapılar olan kapiller damarın dışında, transvers miyelinli liflerde bozulma, konfigürasyonlar ve protrüzyonlar gözlemlendi. Endonöryum ve perinöryumda ödem, aksoplazmada ayrışmalar izlendi.

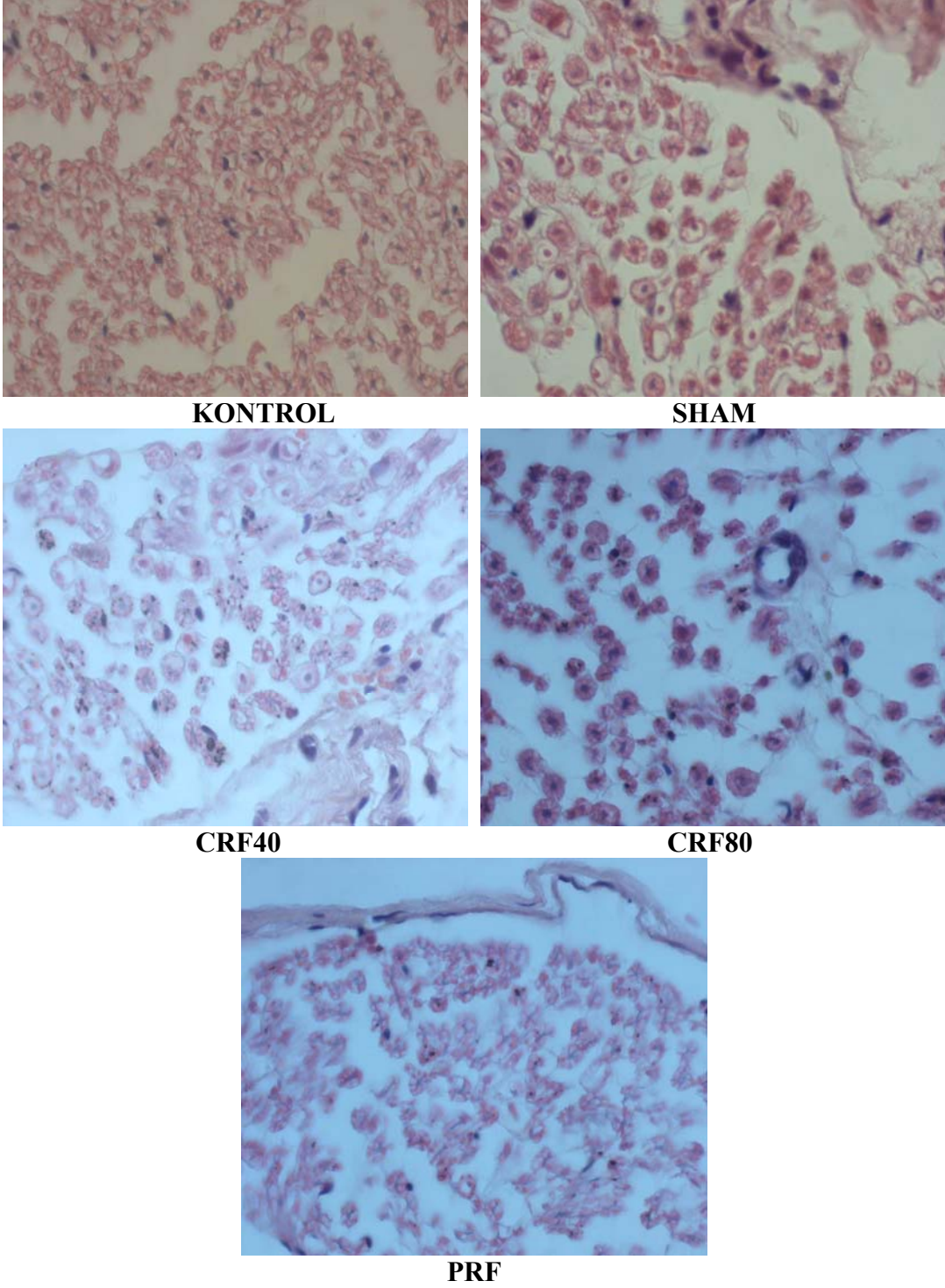
KRF80 grubu örneklerinde siyatik sinir kesitinde miyelinli liflerde bozulma ve protrüzyonlar gibi bozuklukların KRF40 grubuna göre daha artmış olduğu saptandı.

PRF grubu örneklerinde diğer RF uygulamalarında bulunan patolojilere benzer bulgular göreceli olarak daha az oranda görüldü (Şekil IV.1.1). Büyük büyütme incelemelerde küçük büyütme ile paralel bulunan patolojiler daha detaylı olarak izlendi (Şekil IV.1.2).

SHAM grubunda görülen bozuklukların sırasıyla PRF, KRF40, KRF80 gruplarında giderek arttığı saptandı.



Şekil IV.1.1 Grupların HE boyalı küçük büyütme histolojik kesitlerinde, transvers ve uzunlamasına miyelinli sinir lifleri, kapiller damar, fibroblast, endonöryum, epinöryum ve perinöryum kontrol için normale yakın görünümde olup, sham, CRF40 ve CRF80 için giderek artan hasar, özellikle ödeme bağlı boşluklar şeklinde izlendi. PRF için diğer RF uygulamalarına göre bu hasarın daha az gerçekleştiği görüldü. X100



Şekil IV.1.2 Grupların HE boyalı büyük büyütme histolojik kesitlerinde, transvers ve uzunlamasına miyelinli sinir lifleri, kapiller damar, fibroblast, endonöryum, epinöryum ve perinöryum kontrol için normale yakın görünümde olup, sham, CRF40 ve CRF80 için giderek artan hasar izlendi. PRF için bu hasarın daha az gerçekleştiği görüldü. RF uygulamalarında belirginleşen ödeme bağlı boşluklar, miyelinli liflerde bozulma, konfigürasyonlar ve endonöryumuda içine alan yapısal bozulma görüldü. X400

Toludin mavisi ile boyamalarda:

KONTROL grubu örneklerinde siyatik sinir yapısının normal görünümde olup, miyelinli lifler ve endonöryum ve perinöral aralık normal bulundu.

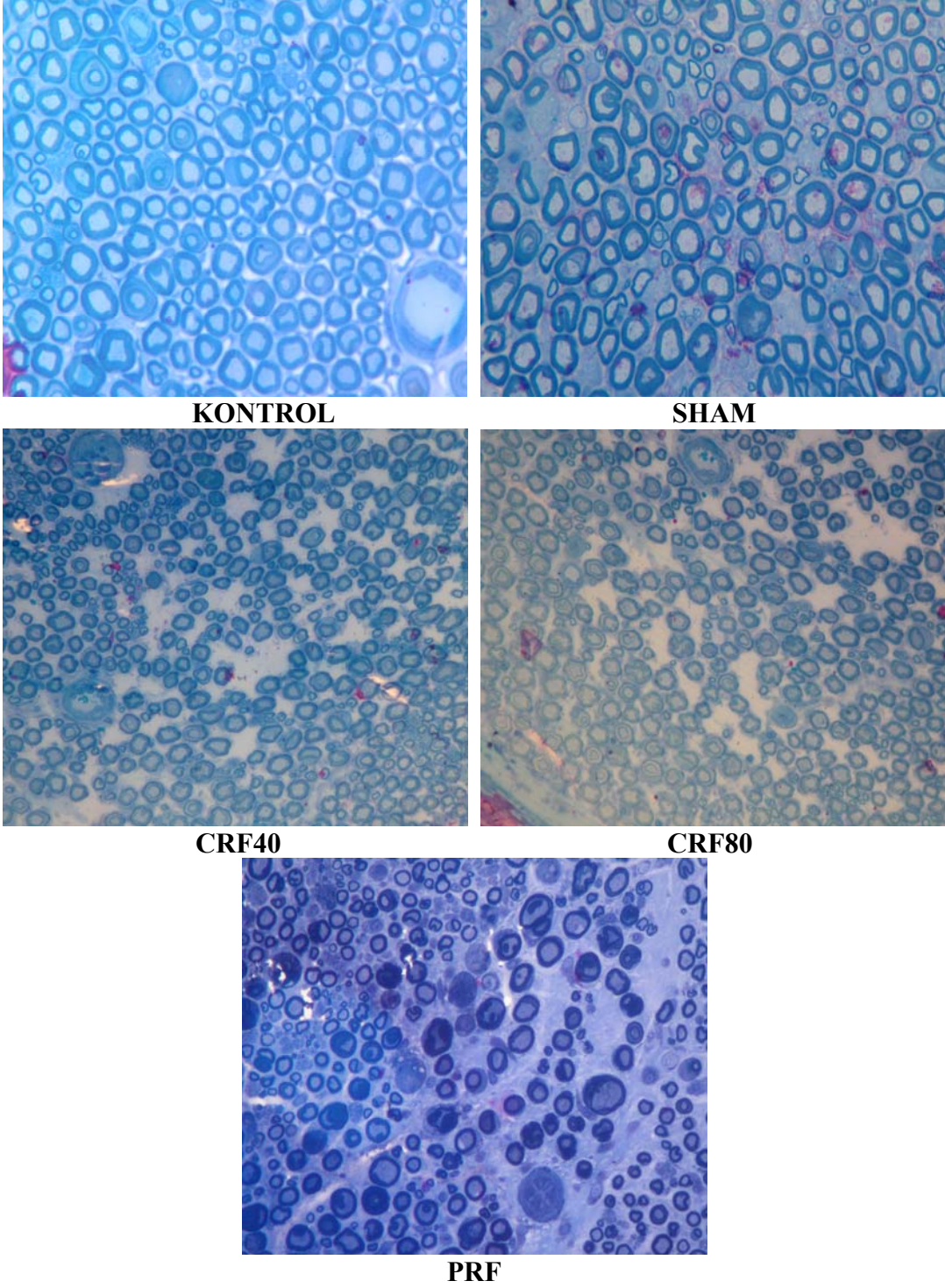
SHAM grubu örneklerinde siyatik sinir nükleusları ile birlikte schwann hücreleri ve mast hücresi ile miyelinli liflerde konfigürasyonlar gözlemlendi.

KRF40 grubu örneklerinde siyatik sinir transvers kesitinde miyelinli sinir liflerindeki değişiklikler ve konfigürasyonlar küçük büyütmede saptandı.

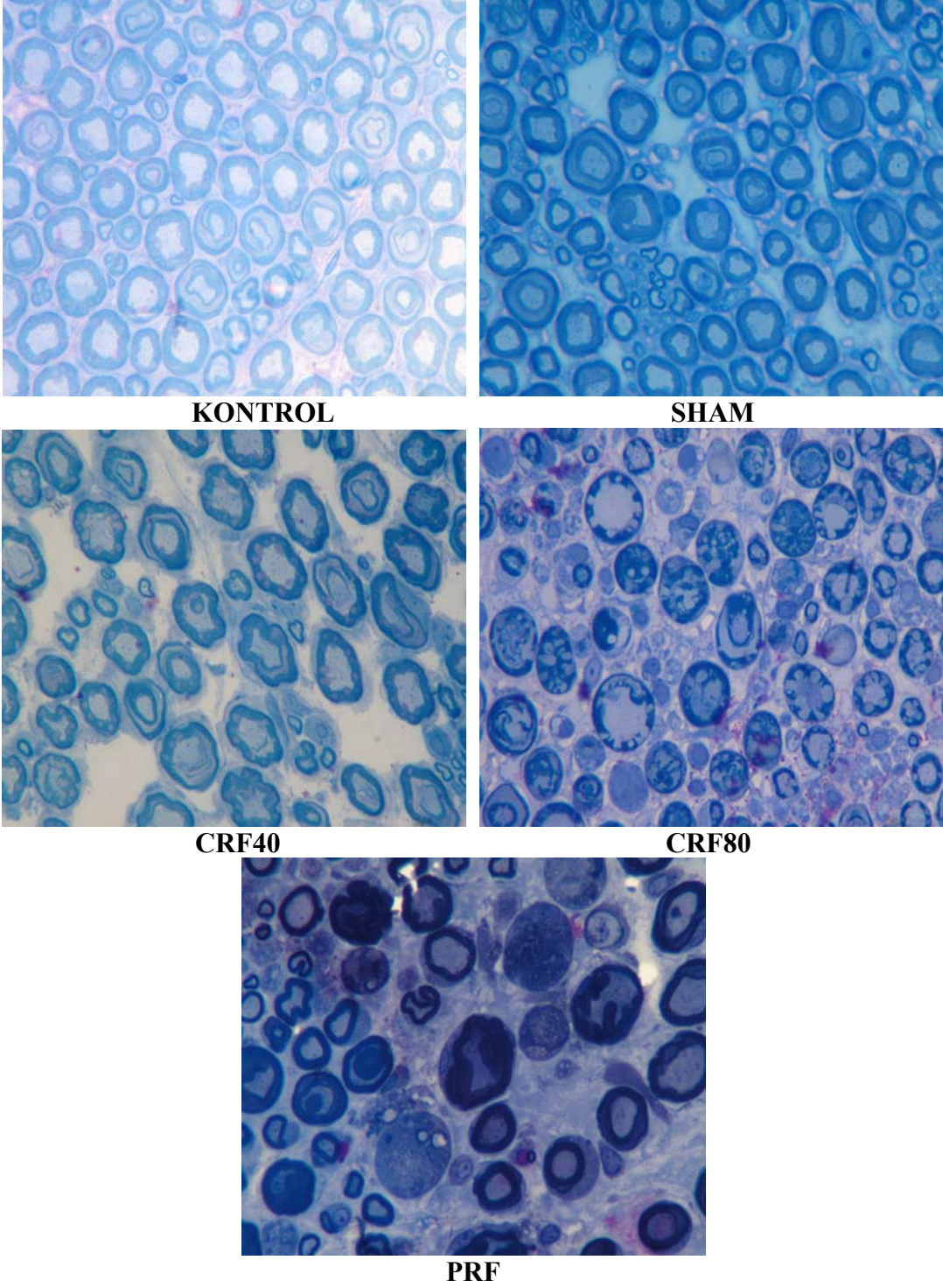
KRF80 grubu örneklerinde miyelinli liflerde bozulma ve konfigürasyonlar, endonöryumda ödem ve aksoplazmada ayrışmalar izlendi. Patolojilerin KRF40 grubuna göre göreceli olarak arttığı saptandı.

PRF grubu örneklerinde ise, diğer RF uygulamalarında bulunan patolojilere benzer bulgular göreceli olarak daha az oranda görüldü (Şekil IV.1.3).

Büyük büyütmelemler ile daha detaylı görülen bozuklukların kontrol grubunda görülmediği, diğer gruplarda ise sırayla SHAM, PRF, KRF40 ve KRF 80'de giderek artış gösterdiği izlendi (Şekil IV.1.4).



Şekil IV.1.3 Grupların küçük büyütme toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitlerinde, transvers ve uzunlamasına miyelinli sinir lifleri, kapiller damar, fibroblast, endonöryum, epinöryum ve perinöryum kontrol için normale yakın görünümde olup; sham, CRF40 ve CRF80 için giderek artan hasar, özellikle ödeme bağlı boşluklar şeklinde izlendi. PRF için bu hasarın daha az gerçekleştiği görüldü. RF uygulamalarında belirginleşen ödeme bağlı boşluklar, miyelinli liflerde bozulma, konfigürasyonlar ve endonöryumuda içine alan yapısal bozulma görüldü. X1000



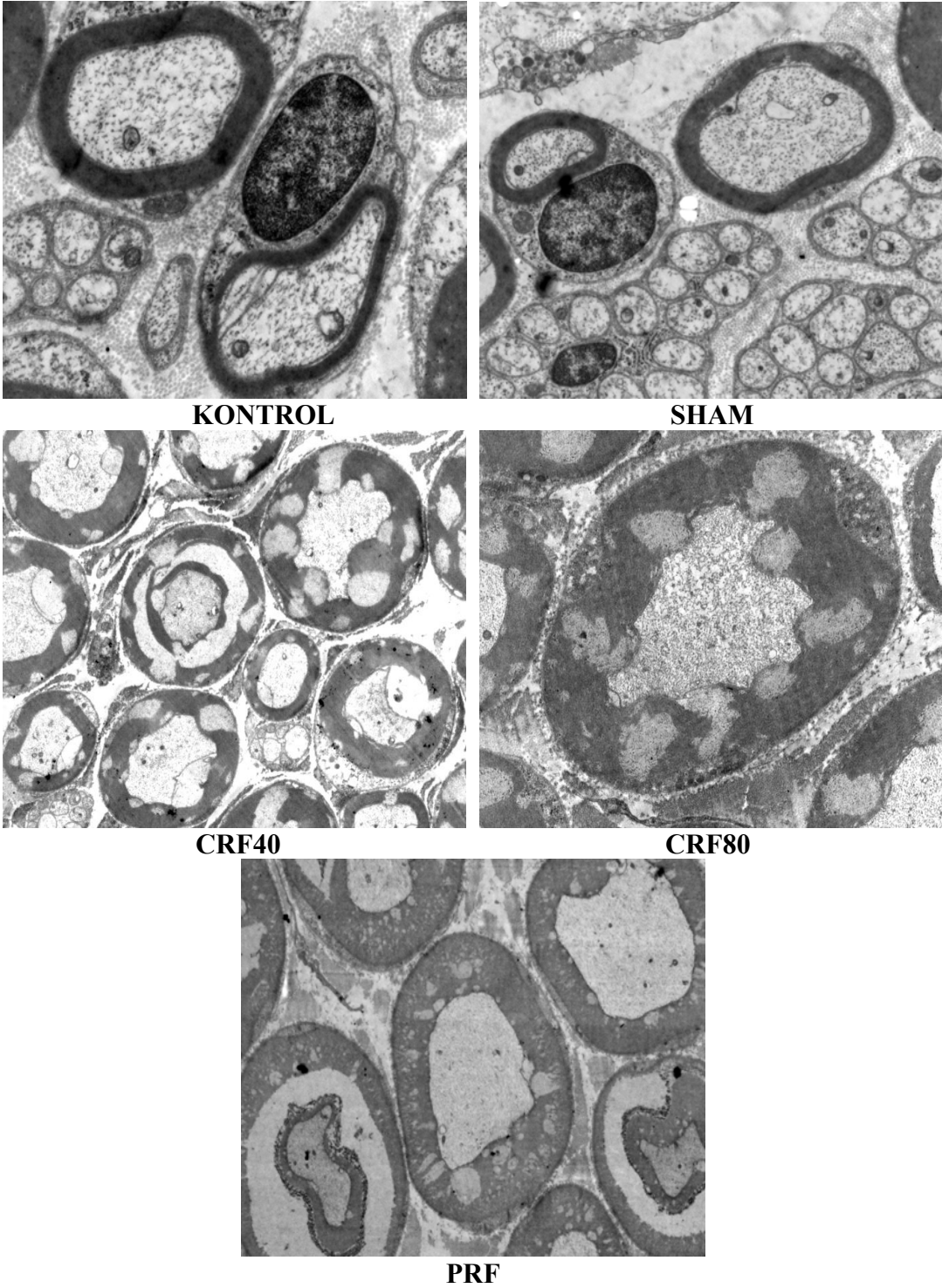
Şekil IV.1.4 Grupların büyük büyütme toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitlerinde, transvers ve uzunlamasına miyelinli sinir lifleri, kapiller damar, fibroblast, endonöryum, epinöryum ve perinöryum kontrol için normale yakın görünümde olup, sham, CRF40 ve 80 için giderek artan hasar, özellikle ödeme bağlı boşluklar şeklinde izlendi. PRF için bu hasarın daha az gerçekleştiği görüldü. RF uygulamalarında belirginleşen ödeme bağlı boşluklar, miyelinli liflerde bozulma, konfigürasyonlar ve endonöryumuda içine alan yapısal bozulma görüldü. X1000

IV.2 Elektron Mikroskopisi

Işık mikroskopunda oluşan değişikliklerin daha detaylı incelenmesi ve hücre organelleri, hücre ve hücreler arası doku iskeleti düzeyinde bu değişikliklerin tanımlanması için yapılan elektron mikroskopu çalışmalarında ışık mikroskopu ile paralellik gösteren bulgular yanısıra, RF uygulamalarının hücre organellerinde ve iskeletinde hasar meydana getirdiği bulundu. Işık mikroskopu bulguları ile uyumlu olarak SHAM grubunda minimal değişiklikler saptandı.

Kontrol grubunda normal yapısal karakterler ve değişik çapta miyelinli ve miyelinsiz aksonlar gözlendi. Çok nadir olarak miyelin protrüzyonu bulundu ve bu bulgu histolojik inceleme için sinir örneği alınırken yapılan cerrahi hasara bağlandı. SHAM ve RF uygulamalarında miyelin konfigürasyonları, lamellöz ayrışma, miyelin protrüzyonu, miyelinli aksonlarda nörofilament ve nörotubulus akümüasyonu, endonöryumda ödem olduğu saptandı. Hasarın şiddetinin artması ile lamellöz ayrışma, lizis, intraaksonal vakuoller, schwann hücresi basal laminasında bozulma, granülali endoplazmik retikulum artışı, sitoplazmik dejenerasyon, intrastoplazmik lipid birikimi, aksonlarda dejenerasyon gözlendi.

Bulguların ışık mikroskopisi ile son derece benzer şekilde ve çok daha detaylı izlenmek üzere yapılan EM incelemede hasarın aslında en az şekilde olsa bile kontrolde de görüldüğü, SHAM grubunda arttığı, sırasıyla PRF, KRF40, KRF80'de giderek belirginleştiği saptandı (Şekil IV.2.1).



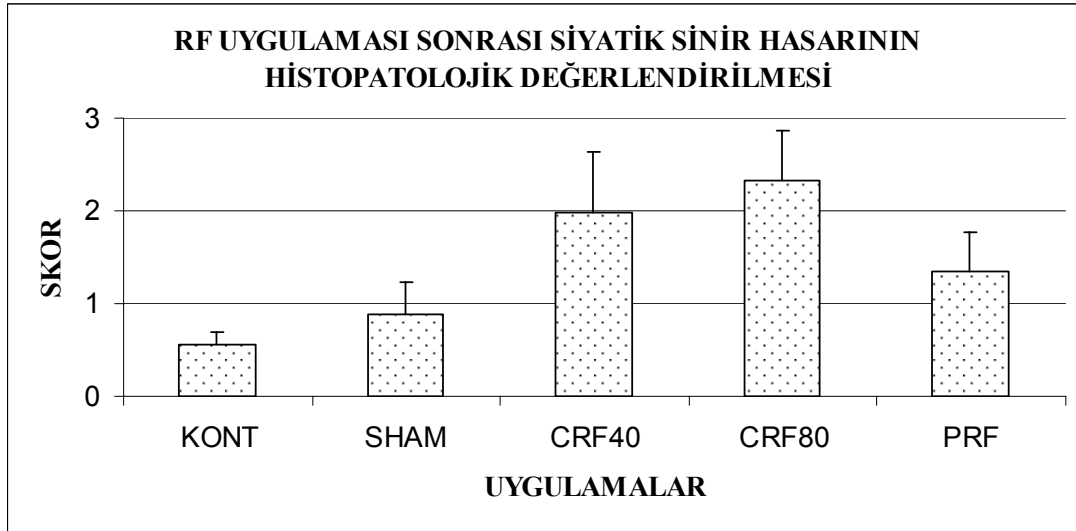
Şekil IV.2.1 Grupların elektron mikroskop kesitlerinde, değişik çapta miyelinli ve miyelinsiz aksonlar, konfigürasyonlar, lamellöz ayrışma, lizis, miyelin protrüzyonu, nörofilament ve nörotubulus akümülayonu, intraaksonal vakuoller ve basal laminada oluşan bozulmalar gözlemlendi. Bu hasar kontrolde ve shamde minimal iken, CRF40 ve CRF80 için belirgin şekilde arttı, PRF de daha az olduğu saptandı. X 9000

IV.3 Morfometri Bulguları

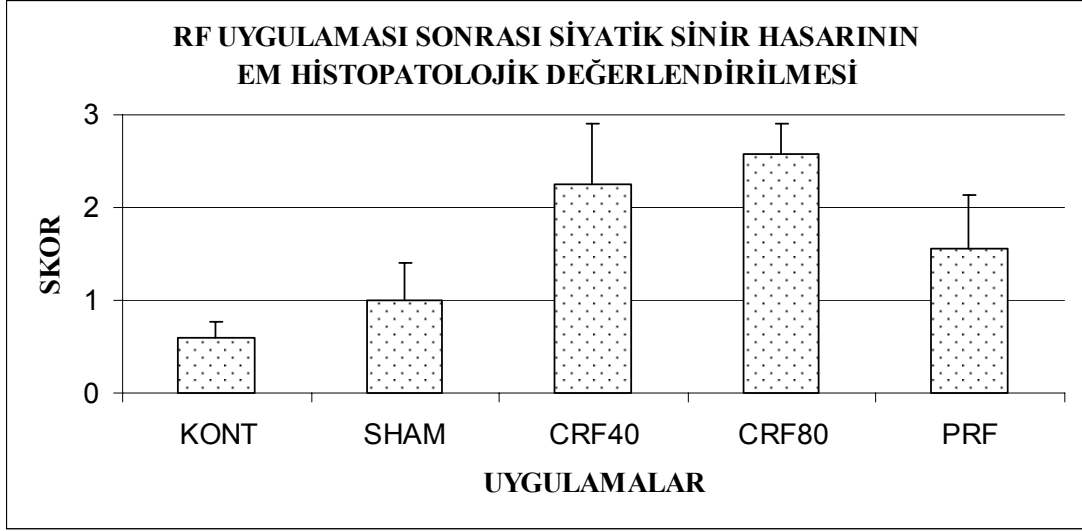
RF uygulamalarının yaptığı sinir hasarının farklı düzeylerde olmasının, çekilen fotoğrafların ortaya çıkardığı tesadüfi bir sonuç olmadığını göstermek için morfometrik ölçüm yöntemi kullanıldı. Patolojik skorlama için örnek olarak seçilen fotoğrafların diğer fotoğraflar ile uyumluluğu, morfometrik ölçümlerle yine örnek olarak seçilen fotoğraflarda saptanan patolojik bulguların tüm deneklerden alınan verileri yansıtması ve genelleme yapılması sağlandı.

Patolojik skorlama: Hem ışık mikroskobu (Tablo 2) hem de EM (Tablo 3) görüntülerinde her denekten alınan 3 ayrı fotoğrafta yapılan skorlama sonucunda kontrole göre (0.7 ± 0.5) anlamsız ($p > 0,05$) artmış SHAM hasarı (1.0 ± 0.6); KRF 40 (2.3 ± 0.6) ve KRF 80 (2.8 ± 0.4) de oldukça anlamlı ($p < 0,001$) artışa döndü. PRF hasarı (1.7 ± 0.5) diğer RF uygulamalarına göre anlamlı ($p < 0,05$) olarak daha az saptandı.

Kontrol < Sham < PRF < KRF40 < KRF80



Tablo 2: Işık Mikroskobisinde Patolojik Skorlama. Histolojik görüntülerin az (+1), orta (+2) ve çok (+3) şeklinde kör olarak değerlendirilmesinde, kontrole göre anlamsız ($p > 0,05$) artmış sham hasarı, KRF 40 ve KRF 80 de anlamlı ($p < 0,001$) artışa döndü. PRF hasarı shame göre anlamlı ($p < 0,05$) olarak artmış idi.



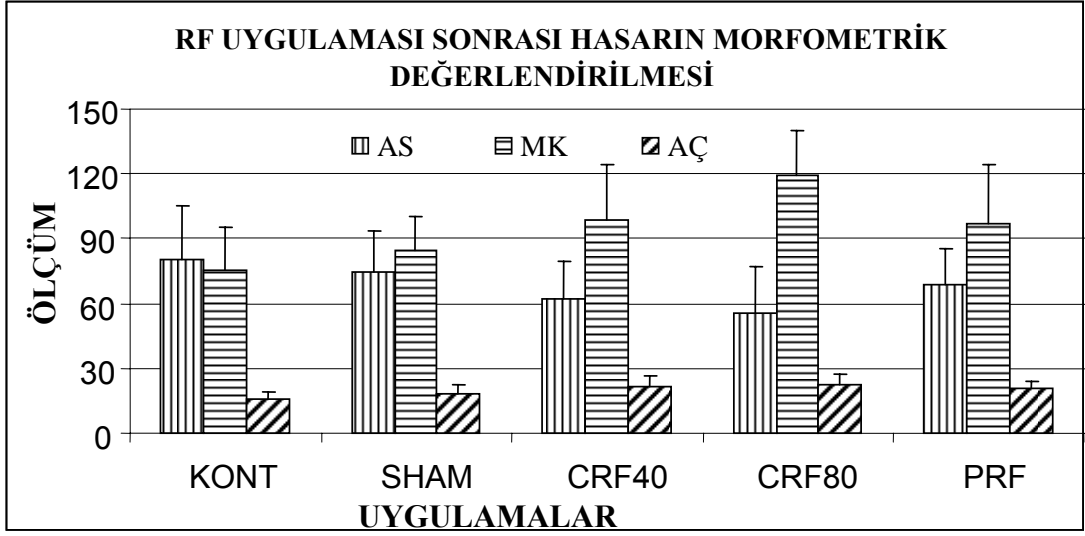
Tablo 3: Elektron Mikroskopisinde Patolojik Skorlama. Histolojik görüntülerin az (+1), orta (+2) ve çok (+3) şeklinde kör olarak değerlendirilmesinde, kontrole göre anlamsız ($p>0,05$) artmış sham hasarı, KRF 40 ve KRF 80 de ileri derecede anlamlı ($p<0,001$) artışa döndü. PRF hasarı shame göre anlamlı ($p<0,05$) olarak artmış bulundu.

Histomorfometrik ölçüm: Işık mikroskopik (Tablo 4) fotoğraflardan yapılan ölçümlerde akson sayısı (AS, piksel); KONTROL grubunda $80,33\pm 22,51$, SHAM grubunda $74,50\pm 19,66$, KRF40 grubunda $61,33\pm 17,00$, KRF80 grubunda $55,67\pm 20,19$ ve PRF grubunda $69,50\pm 17,43$ olarak ölçüldü.

Akson çapı (AÇ, piksel); KONTROL grubunda $75,25\pm 16,84$, SHAM grubunda $93,65\pm 25,55$, KRF40 grubunda $106,56\pm 24,90$, KRF80 grubunda $121,83\pm 30,08$ ve PRF grubunda $101,25\pm 29,48$ olarak ölçüldü.

Miyelin kalınlığı (MK, piksel); KONTROL grubunda $14,90\pm 3,33$, SHAM grubunda $18,55\pm 5,06$, KRF40 grubunda $21,10\pm 4,93$, KRF80 grubunda $24,13\pm 5,96$ ve PRF grubunda $20,05\pm 5,84$ olarak ölçüldü.

IM fotoğraflardan yapılan AS, AÇ ve MK ölçümlerinin istatistiksel karşılaştırmalarında; akson sayısının kontrole göre diğer gruplarda anlamsız olarak azaldığı ($p>0,05$), akson çapının gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği ($p>0,05$) ve miyelin kalınlığının KONTROL ve SHAM arasında anlamlı bir fark göstermezken, KRF40 ve 80'de, kontrol grubuna göre oldukça anlamlı ($p<0,001$), PRF'de ise anlamlı ($p<0,05$) bir artış gösterdiği saptandı.



Tablo 4: Işık Mikroskopisinde Histomorfometrik Ölçüm. Yarı kesitlerin dijital ortama aktarılması sonrasında Excel programında yapılan ölçümlerde akson sayısı (AS), akson çapı (AÇx100) ve miyelin kalınlığı (MKx100) ölçüldü. Alanda akson sayısının kontrole göre diğer gruplarda anlamsız olarak azaldığı, akson çapının gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği ve miyelin kalınlığının kontrol ve shame göre RF uygulamalarında anlamlı şekilde arttığı bulundu.

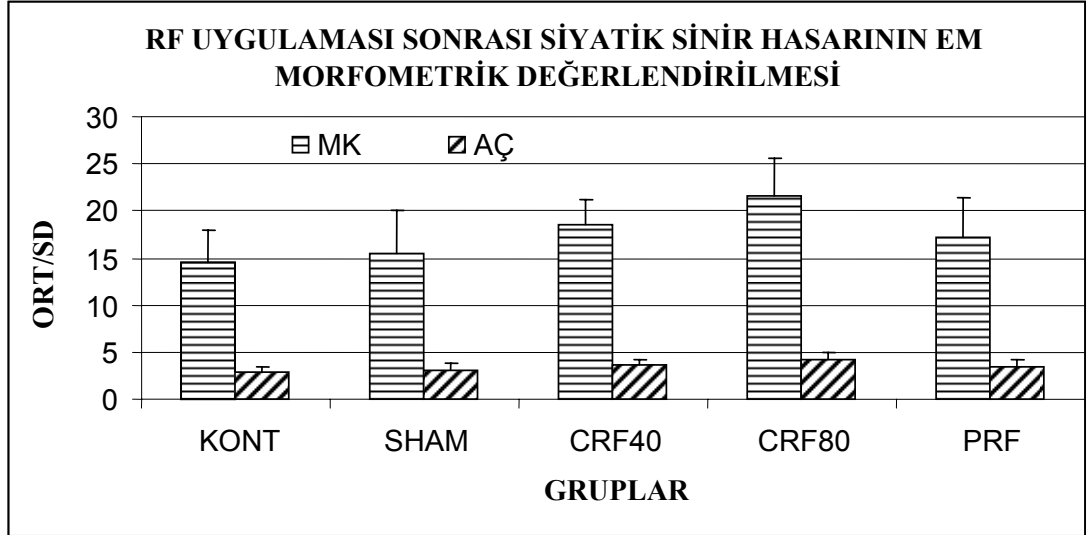
Elektron mikroskopik (Tablo 5) fotoğraflardan yapılan ölçümlerde AS (piksel) KONTROL grubunda $0,67 \pm 0,47$, SHAM grubunda $1,00 \pm 0,58$, KRF40 grubunda $2,33 \pm 0,47$, KRF80 grubunda $2,83 \pm 0,37$ ve PRF grubunda $1,67 \pm 0,47$ olarak ölçüldü.

AÇ (piksel), KONTROL grubunda $14,05 \pm 3,44$, SHAM grubunda $15,70 \pm 2,91$, KRF40 grubunda $18,31 \pm 3,70$, KRF80 grubunda $21,56 \pm 5,88$ ve PRF grubunda $17,31 \pm 4,08$ olarak ölçüldü.

MK (piksel), KONTROL grubunda $2,83 \pm 0,60$, SHAM grubunda $2,99 \pm 0,48$, KRF40 grubunda $3,69,10 \pm 0,49$, KRF80 grubunda $4,16 \pm 0,99$ ve PRF grubunda $3,58 \pm 0,66$ olarak ölçüldü.

EM mikroskopik (Tablo 5) fotoğraflardan yapılan AS, AÇ ve MK ölçümlerinin istatistiksel karşılaştırmalarında akson sayısının kontrole göre diğer gruplarda anlamsız olarak azaldığı ($p > 0,05$), akson çapının gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği ($p > 0,05$) ve miyelin kalınlığının KONTROL ve

SHAM arasında anlamlı bir fark göstermezken, KRF 40 ve 80'de, kontrol grubuna göre oldukça anlamlı ($p<0,001$), PRF'de ise anlamlı ($p<0,05$) bir artış gösterdiği saptandı.



Tablo 5: EM Mikroskobisinde Histomorfometrik Ölçüm. Yarı kesitlerin dijital ortama aktarılması sonrasında Excel programında yapılan ölçümlerde akson çapı (AÇ) ve miyelin kalınlığı (MK) ölçüldü. Alanda akson çapının gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği ($p>0,05$) ve miyelin kalınlığının KONTROL ve SHAM arasında anlamlı bir fark göstermezken, KRF 40 ve 80'de, kontrol grubuna göre oldukça anlamlı ($p<0,001$), PRF'de ise anlamlı ($p<0,05$) bir artış gösterdiği saptandı.

V- TARTIŞMA

Radyofrekans termokoagülasyon (RF) yöntemi kronik ağrı tedavisinde nöroablasyon yaratarak ağrı iletimini durdurmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak yüksek ısı (80°C) ile yaratılan bu ablasyon deafferantasyon sekeline yol açabilmektedir. Uygulamalar sırasında komşu sinir dokusunda oluşacak hasar uzun sürebilecek hatta geri dönüşümsüz duysal ve motor fonksiyon kaybı riskine sahiptir. Bu sorun mümkün olduğunca C liflerine selektif olarak RF tedavisi yapılması ve miyelinli liflerin korunmasıyla sınırlandırılmaya çalışılmıştır. Ancak buna rağmen RF tedavisi sonrası zaman zaman nöropatik ağrı problemi ile karşılaşılmaktadır(3, 4, 5, 6).

1990'lı yılların ilk yarısına kadar RF uygulamalarında klinik etkiden sadece oluşan ısı lezyonu ve sinir hasarı sorumlu tutulmaktaydı. Ancak Van Kleef ve ark.'nın (17) 1993 yılında yayımladıkları çalışmada servikal arka kök gangliyonlarına konvansiyonel RF uygulanan hastaların uygulama sonrası ilgili dermatomda ağrının tekrar ortaya çıkmasının, sensoryal kaybın normale dönmesinden çok daha uzun sürdüğünü göstermeleri ile bazı soru işaretleri doğmuştur. Bu farklılık önceleri RF' in miyelinsiz ve miyelinli sinir lifleri üzerindeki selektif etkisine bağlanmaya çalışılmış, ancak yapılan yeni çalışmalar böyle bir etkiyi gösterememiştir (17, 18-22).

1996 yılında ilk pulse RF uygulamasını gerçekleştiren Sluijter, ilk sonuçlarını 1998 yılında yayımlamış ve ısı artışı oluşturmadan elektromanyetik alan uygulamada, Slappendel ve ark.' nın iddia ettiği gibi konvansiyonel RF'i düşük voltaj uygulayarak kullanmanın etkili olmadığını belirtmiştir (24).

Pulse RF nondestrüktif bir yöntem olduğundan, konvansiyonel RF'in uygulanamadığı bazı durumlarda (nöropatik ağrı, C₈'in arka kök ganglionu ve motor lifleri olan periferik sinirler) uygulanabilir. Biz de çalışmamızda motor, duysal ve otonom liflerin tümünü içeren bir periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde çalışarak, periferik sinirlerde PRF uygulamalarının nöroablatif etkilerinin konvansiyonel RF yöntemleri ile karşılaştırılmasını amaçladık.

Önceki çalışmalarda, konvansiyonel RF uygulamalarının miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinde yada her ikisinde yapısal bazı hasarlara sebep olduğu

sonucuna varılmıştır. Letcher ve Goldring (1968) (17) küçük miyelinli lif hasarlarından bahsetmişlerdir. Smith ve arkadaşları (21) köpeklerde yaptıkları çalışmalarında lumbar intervertebral foraminaya yerleştirdikleri elektrotları ile 2 dakika boyunca 85°C RF uygulamışlar; 6 hafta sonunda uyguladıkları rizotomi sonrasında ışık ve elektron mikroskopi ile bulguları değerlendirmişlerdir. Tüm alanlarda miyelinsiz lifler ve yakın bölgelerde miyelinli liflerin kaybını gözlemişlerdir. Aynı çalışmacılar başka köpeklerde yine 2 dakika süre ile 45, 55, 65 ve 75°C ile RF uygulamışlar; bu sıcaklıklarda da 85°C' de olduğu gibi büyük ve küçük miyelinli liflerde hasar gözlemişlerdir. Miyelinsiz liflerde ise yine 85°C ile benzer histopatolojik bulgulara rastlamışlardır. Bu sonuçlarla çelişkili olarak De Louw ve arkadaşları (22) keçi arka kök ganglion hücreleri üzerine 67°C ile KRF uygulamasından 2 hafta sonra ışık mikroskopisinde yapılan incelemelerde hiçbir miyelinli yada miyelinsiz sinir tahribi gözlememişlerdir. Çalışmalarını; Letcher ve Smith tarafından gözlemlenen hasarın, şu anki klinik pratiğinde kullanılan elektrotlardan çok daha genişlerinin kullanılmasına ve elektrotların sinirsel doku içine yerleştirilmesine bağlayarak sonlandırmışlardır.

Araştırma sırasında kullanılan malzemenin yaratabileceği hasarı, ısı lezyonundan ayırt edebilmek için kontrol ve sham gruplarının olduğu çalışmaların sonuçlarını incelemek daha güvenilir olacaktır.

Bizim çalışmamızda kontrol ve sham grubu oluşturulmasının yanısıra modern ince elektrotlar kullanılmış; elektrotlar sinir dokusu içine değil yanına yerleştirilmiş ve böylece mekanik hasardan mümkün olduğunca kaçınılmıştır. Ancak bu önlemlere rağmen, özellikle daha detayın görülebildiği EM incelemelerinde sinir dokusunun bu yaklaşımla bile etkilenebildiği ve hasara uğradığını gördük. Kontrolde saptanan minimal hasarın sinir dokusunun gereken incelemeler için yapılan işlemler sırasında bile etkilendiğini, SHAM grubunda görülen kontrole göre artan hasarın sinir dokusuna yaklaşmak için yapılan cerrahi işlemde de etkilendiğini, konvansiyonel RF uygulamalarının ısıya bağlı belirgin hasar oluşturduğunu ve en önemlisi PRF uygulaması ile bu hasarın engellenemediğini ancak azaltılabildiğini gözledik.

Çalışmamızda kullanılan RF süreleri ve ısıları klinik uygulamalarda sık kullanıldığı için tercih edilmiştir. Klinik işlemlerde çoğu RF lezyonu 60-80°C

arasında ısı problemleri ile oluşturulmuştur (16,30,80,81). Bu yükseklikteki ısılar hedef dokuda koagülasyon nekrozu oluşturur (6). RF termal lezyonları doku ısı 60°C 'yi aştığında geri dönüşümsüz protein denatürasyonu oluşturur. Podhajsky ve arkadaşları (82) 80°C ve 42°C ısı, 120 saniye süre ile uyguladıkları PRF'ın siyatik sinirde oluşturduğu hasarları 2, 7 ve 21. günlerde incelemişlerdir. 80°C lezyon oluşturulmasından 2 gün sonra masif ödem oluştuğunu, 7. günde Wallerian dejenerasyona ilerlediğini ve sonuçta koagülasyon nekrozu oluşturduğunu doğrulamışlardır. 42°C ile uygulama sonucunda da yine 2. günde ödem oluştuğu, 7. günde gerilediği ve 21. günde tamamen iyileştiği saptanmıştır. Bu çalışmalarda sinir doku üzerindeki hasarın total olarak değerlendirilmesinin ödem ve miyelin hasarının yanında endonöral aktivasyonun, inflamasyonun ve infiltrat olan hücresel etkinliğinin de göz önüne alınmasını sağlayacağı ileri sürülmüştür. Aynı zamanda zamana bağımlı hasarın incelenmesinin ödem sonrası hasarda oluşan gerilemenin izlenebilmesini olanaklı kılacağı bildirilmiştir. Endonöral ödemin erken patolojik bulgu olduğu ve schwann ve diğer hücrelerin şişmesi, aksoplasmik hidrasyonunun artması, makrofaj istilası ve fagositoz mekanizmalarının öncesinde gerçekleştiği ileri sürülmekte, 7. günde maksimuma ulaşan bu işleyişin nekroza kadar ilerlediği söylenmektedir.

Slappandel ve arkadaşları (6), dorsal root ganglionuna RF uygulaması yapılan 61 hastanın (29 hastaya 40°C ve 32 hastaya 67°C) 3 ay sonra VAS esas alınarak yapılan ağrı sorgulamasında, ağrının her iki grupta da benzer düzeyde azaldığını izlemişlerdir. Her gruptan hastaların % 50'sinde VAS 2 puan azalmıştır. Bu çalışma RF uygulamalarının analjezik etkinliğinin ısının yarattığı doku hasarından kaynaklanmayabileceğini ilk olarak akla getirmiş ve pulse RF tekniğinin bulunmasına kadar giden araştırmaları başlatmıştır.

PRF tekniği mevcut sorunların aşılabilmesi için geliştirilmiştir. KRF tekniğindeki devamlı akım, saniyede 2 frekans olacak şekilde pulse hale getirilerek yöntemin etkinliği artırılmış ve ısının konvansiyonel yöntemdeki kadar yüksek olmasına gereksinim kalmamıştır. Sinir dokusuna uygulanan ısı fizyolojik sınırlara çekilerek ablasyonun derecesi düşürülmüştür.

PRF'in etki mekanizması henüz bilinmemekle birlikte Cahan ve ark. (83), RF enerjisinin pulse hale getirilmesinin sinaptik aktivitenin geçici inhibisyonuna yol açtığını, böylece ağrı iletimini durdurduğunu öne sürmektedir. Özellikle kronik sırt ağrısı sendromlarının tedavisindeki etkinliğini açıklayabilecek bir başka etki mekanizması ise dorsal root ganglion ve spinal nöropeptit ekspresyonunda değişiklik olabilir.

Sluijter ve arkadaşları (7) PRF tekniği ile KRF tedavisine alternatif oluşturulabileceğini ileri sürmüştür.

Erdine ve arkadaşları (84) tavşan dorsal root ganglionu üzerinde KRF ve PRF etkilerini araştırdıkları çalışmalarında KRF, PRF, kontrol, SHAM olmak üzere 4 grup oluşturmuşlar; KRF 67°C 60 saniye ve PRF 120 saniye süre ile, oluşan ısı 42°C'yi geçmemek koşuluyla uygulamışlardır. Uygulamadan 2 hafta sonra yapılan incelemelerde; ışık mikroskopide hiçbir lenf bezi hücresi, miyelinli veya miyelinsiz sinir hücresinde hasara rastlanmamışlardır. Ancak elektron mikroskopide bizim çalışmamızla benzer şekilde KRF grubunda dev sitoplazmik boşluklar, aşırı genişlemiş endoplazmik retikulum keseleri ve dejenere mitokondria ile çekirdek zarı kaybı gözlemlenmiştir. PRF grubunda ise daha az sayıda genişlemiş sitoplazmik boşluklar ve endoplazmik retikulum keseleri gözlenmiş ancak çekirdek zarında bir hasara rastlanmamıştır. Kontrol ve SHAM grubunda ise hiçbir hasara rastlanmamıştır.

Bizim sonuçlarımız, PRF uygulamasının KRF40'den daha az ve KRF40'ın da KRF80'den daha az hasara yol açtığını göstermektedir. Tedavi etkinliği için ağrı oluşturulan deneklerde aynı uygulamaların yapıp, hasar bulgularının bu anlamda değerlendirilmesi kar ve zarar mantığı için gereklidir.

Higuchi ve arkadaşlarının (85) yaptığı doku kültürü çalışmasında rat dorsal root gangliyonları (DRG) 3 gruba ayrılmıştır. 1. gruba 38°C PRF, 2. gruba yine 38°C KRF 120 sn süresince uygulanmıştır. 3. grup sham grubu olarak değerlendirilmiştir. Sonraki günlerde yapılan incelemelerde PRF uygulanan dokuda iyileşme saptanırken KRF grubunda böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın ana bulgusu DRG'nin PRF'e maruz bırakılması ile spinal kordun gri maddesinin yüzeyel laminasında c-fos ekspresyonunun aktivasyonudur. PRF dorsal boynuz lamina 1 ve 2 sinde c-fos ekspresyonunu indüklemiş, KRF

bunu yapmamıştır. PRF'e maruz bırakılmış DRG'nin hem aynı tarafında hem karşı tarafında artmış sayıda c-fos eksprese olmuş hücre bulunmuştur. PRF ve KRF arasında doku sıcaklıkları arasında belirgin bir fark gözlemlenmediği için bu modelde c-fos ekspresyonunda cerrahi prosedür ve ısı etkileri dikkate alınmamıştır. Dorsal boynuzdaki gözlenen değişiklikler bu çalışmada kullanılan KRF' ten 40 kat daha büyük amplitüdü olan PRF sinyalleri ile oluşan akım yükselip alçılması ile ilişkili olabilir denmiştir.

Kültürde yapılan bu çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde PRF uygulamasına bağlı hasar saptanmış ancak KRF uygulamalarına oranla daha az olduğu ve daha kolay geri döndürülebildiği gösterilmiştir (85). Bu çalışmada uyarılmış potansiyeller ölçülerek tedavi etkinliği ile oluşan hasar ilişkilendirilmiş ve oluşan etkinin ısıdan daha çok RF enerji moduna bağlı olduğu savunulmuştur. Bu bulgular bizim çalışmamızda ısı benzerliğine rağmen PRF grubunda, KRF40 grubuna göre daha az hasar oluşmasını desteklemektedir. PRF uygulamalarında oluşan tedavi edici etkinliğin KRF ile oluşan sinir doku üzerindeki hasardan çok nöromodülasyona bağlanması bu gözlemlerin mekanizmasına işaret etmekte ve detaylı incelemeyi gerektirmektedir. Yüksek frekansın spinal kordda uzun süreli inhibisyona neden olması ve PRF uygulamalarının nöronal c-fos protein aktivasyonunu sağlaması morfolojik değişikliklerden çok metabolik değişikliklerin etki mekanizması seçeneklerini oluşturduğunu göstermektedir.

Van Zundert ve arkadaşları, son yayınlanan kronik servikal ağrı (86) ve trigeminal nevralji (87) olgularının perkütan PRF ile tedavileri sürecinde istenmeyen etki bildirmemişlerdir. Bu yayınlarla ilgili editör eleştirisinden DRG'ye PRF uygulamasının, etkin ve nöroablatif olmayan bir nöromodülasyon tekniği olduğu sonucu çıkarılmıştır (88).

VI- SONUÇ

Bu çalışmada RF uygulamalarının bir örnek olarak siyatik sinir üzerinde oluşturduğu hasar kontrol ve sham grubu ile karşılaştırmalı olarak incelendi ve PRF uygulamaları ile oluşan ödem, hücre ve miyelin patolojilerinin mikroskopik ve morfometrik incelemeleri yapılarak KRF40 ve KRF80 uygulamalarına göre daha güvenli olduğu saptandı.

Kontrol grubunda saptanan minimal hasar, sinir dokusunun gereken incelemeler için yapılan işlemler sırasında bile etkilendiğini; SHAM grubunda görülen kontrole göre artan hasar ise sinir dokusunun cerrahi işlemde de etkilendiğini düşündürdü. Konvansiyonel RF uygulamalarının ısıya bağlı belirgin hasar oluşturduğu ve PRF uygulaması ile bu hasarın engellenemediğini ancak azaltılabildiği gözlemlendi.

Siyatik sinirde meydana gelen hasar en çok miyelin kılıfta gerçekleşmekte idi. RF uygulamaları ile miyelin tabakalarında konfigürasyonlar, protrüzyon, miyelin lamellerinde lizis ve lamellöz ayrılmalar, schwann hücrelerinde lipid damlacıkları ve endonöral ödem gibi bulgular ortaya konuldu.

Bu sonuçlar hem etkinlik hem de hasar oluşturma açısından PRF uygulamalarının daha detaylı çalışılması gerektiğini, çalışmamızda gösterilen hücre ve organel düzeyindeki değişikliklerin moleküler düzeyde de araştırılarak, klinik uygulamalar için güvenliğinin kar-zarar mantığı ile değerlendirilip, mümkün olduğunca ideal olmasının sağlanması gerektiğini ortaya koymaktadır.

VII- ÖZET

RF yöntemi kronik ağrı tedavisinde nöroablasyon yaratarak ağrı iletimini durdurmak amacıyla uzun zamandır kullanılmaktadır. Ancak yüksek ısı ile yaratılan bu ablasyon deafferantasyon sekeline yol açabilmektedir. Uygulamalar sırasında komşu sinir dokusunda oluşacak hasar, uzun sürebilecek hatta geri dönüşümsüz olabilecek duysal ve motor fonksiyon kaybı riskine sahiptir.

Bunun üzerine ısı fizyolojik sınırlarda tutularak ağrı iletimini durdurabilen radyofrekans yöntemleri üzerinde çalışılmaya başlanmış ve pulse RF (PRF) tekniği geliştirilmiştir. Konvansiyonel RF (KRF) tekniğindeki devamlı akım, saniyede 2 frekans olacak şekilde pulse hale getirilerek yöntemin etkinliği artırılmış ve ısının konvansiyonel yöntemdeki kadar yüksek olmasına gereksinim kalmamıştır. Böylece RF uygulamaları daha önce sadece duysal lifleri olan sinirlere yönelik iken artık motor lifleri olan periferik sinirler için de RF teknikleri uygulanabilir hale gelmiştir. Biz de çalışmamızda motor, duysal ve otonom liflerin tümünü içeren bir periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde çalışarak, periferik sinirlerde PRF uygulamalarının nöroablatif etkilerinin konvansiyonel RF yöntemleri ile karşılaştırılmasını amaçladık.

Çalışmada yetişkin erkek Wistar sıçanlar kullanılarak 6 denekten oluşan gruplar oluşturuldu. Kontrol grubundaki deneklere hiçbir işlem yapılmadı. Genel anestezi uygulamasının ardından RF elektrotu, siyatik sinire hasar vermeyecek şekilde çok yakınına yerleştirildi. Sham grubunda RF enerjisi verilmedi. KRF40 grubunda, 90 saniye süreyle 40°C KRF uygulandı. KRF80 grubunda, 90 saniye süreyle 80°C KRF uygulandı. PRF grubunda, 240 saniye süreyle, 45 V, 42°C'yi geçmeyecek şekilde PRF uygulandı.

İki gün bekleme sonunda %2,5'lük fosfat tamponlu glutraldehid solüsyonu intrakardiyak perfüzyon ile tespit için kullanıldı. Alınan örnekler uygun fiksatiflerde tutularak hem ışık hem de elektron mikroskobu (EM) takibine yönlendirildi.

Yapılan ışık mikroskobunda HE ve Toluidin mavisi boyamalarda KONTROL grubu örneklerinde sinir hücrelerinde herhangi bir patolojiye rastlanmadı. SHAM grubu örneklerinde özellikle miyelinli liflerde miyelin kılıfında az miktarda

deformasyon ve konfigürasyonlar ile endonöral ödem görüldü. KRF40 grubu örneklerinde siyatik sinir miyelinli liflerde bozulma, konfigürasyonlar ve protrüzyonlar gözlemlendi. Endonöryum ve perinöryumda ödem, aksoplazmada ayrışmalar izlendi. KRF80 grubu örneklerinde siyatik sinir kesitinde miyelinli liflerde bozulma ve protrüzyonlar gibi bozuklukların KRF40 grubuna göre daha artmış olduğu saptandı. PRF grubu örneklerinde diğer RF uygulamalarında bulunan patolojilere benzer bulgular göreceli olarak daha az oranda görüldü. Büyük büyütme incelemelerde küçük büyütme ile paralel bulunan patolojiler daha detaylı olarak izlendi. SHAM grubunda görülen bozuklukların sırasıyla PRF, KRF40, KRF80 gruplarında giderek arttığı saptandı.

Elektron mikroskopu çalışmalarında ışık mikroskopu ile paralellik gösteren bulgular yanısıra, RF uygulamalarının hücre organellerinde ve iskeletinde hasar meydana getirdiği bulundu. Bulguların ışık mikroskopisi ile son derece benzer şekilde ve çok daha detaylı izlenmek üzere yapılan EM incelemede hasarın aslında en az şekilde olsa bile kontrolde de görüldüğü, SHAM grubunda arttığı, sırasıyla PRF, KRF40, KRF80'de giderek belirginleştiği saptandı.

Sonuç olarak bu çalışmada RF uygulamalarının bir örnek olarak siyatik sinir üzerinde oluşturduğu hasar kontrol ve sham grubu ile karşılaştırmalı olarak incelendi ve PRF uygulamaları ile oluşan ödem, hücre ve miyelin patolojilerinin mikroskopik ve morfometrik incelemeleri yapılarak KRF40 ve 80 uygulamalarına göre daha güvenli olduğu saptandı.

Kontrol grubunda saptanan minimal hasar, sinir dokusunun gereken incelemeler için yapılan işlemler sırasında bile etkilendiğini, SHAM grubunda görülen kontrole göre artan hasar ise sinir dokusunun cerrahi işlemde de etkilendiğini düşündürdü. Konvansiyonel RF uygulamalarının ısıya bağlı belirgin hasar oluşturduğu ve PRF uygulaması ile bu hasarın engellenemediği ancak azaltılabildiği kanısına varıldı.

VIII- SUMMARY

THE COMPARISON OF NEUROABLATIVE EFFECTS OF CONVENTIONAL AND PULSE RADIOFREQUENCY TECHNIQUES

Radiofrequency thermocoagulation (RF) has been used for many years in pain treatment in order to interrupt pain transmission by mediating neuroablation. However, this neuroablation caused by high temperatures may lead to deafferentation sequela. During the application, the nerve nearby, due to the possible damage on it, may have a risk of developing a long-term or irreversible loss of sensory and motor function.

Therefore, radiofrequency techniques which maintain the temperature within the physiological limits have been studied and the pulse RF (PRF) technique has been developed. The efficacy of the continuous current used in conventional RF (CRF) technique has been increased by changing it into pulse current, two frequencies a second, and therefore there is no need to have a temperature as high as the one applied in conventional RF. As a result, RF applications, once used on only sensorial nerves, can now also be applied to peripheral nerves with sensory and motor fibers. In our study, we studied on the sciatic nerve, a peripheral nerve which includes all motor, sensory and autonomous fibers, and aimed to compare the neuroablative effects of PRF applications with conventional RF techniques.

In the study, we formed five groups each had six adult male Wistar rats. Any procedure was not applied to the rats in the control group. Following the general anesthesia, RF electrode was placed very close to the sciatic nerve but not to cause any damage to the nerve. RF energy was not given to the rats in Sham group. In the CRF40 group, the rats were applied 40⁰C CRF for 90 seconds. In the CRF80 group, the rats were applied 80⁰C CRF for 90 seconds. In the PRF group, the rats were applied 45 V PRF which did not exceed 42⁰C for 240 seconds.

Two days later, 2.5% glutaraldehyde phosphate buffered solution was used for fixation with intracardiac perfusion. The samples, kept in appropriate fixatives, were monitored both with a light and electron microscope (EM).

In the light microscopy, HE and Toluidin blue staining revealed no pathological changes in nerve cells in the control group. In the samples of the Sham group, there were configurations, endoneural edema and a little deformation in the myelin sheath in myelin fibers. In the CRF40 group, there were configurations, deformation and protrusion in the myelin fibers of the sciatic nerves. Edema in perineurium and resolutions in acsoplasma were also observed. Degeneration and protrusion in myelin fibers in the cross section of sciatic nerves observed in the samples of CRF80 group were more than those in the CRF40 group. In the samples taken from the PRF group, findings similar to the pathological changes found in other RF applications were comparatively fewer than those found in other RF applications. In large magnifying microscobic examinations, pathological changes similar to those in small magnifying microscobic examinations were studied in details. Corruptions seen in the Sham group increasingly detected in the PRF, CRF40 and CRF80 groups.

In the studies conducted with an electron microscope, it was detected that the findings were similar to those found with a light microscope, and it was also found that RF applications caused damage to cell organelles and skeleton. It was also observed that examinations conducted both with the light microscope and the electron microscope revealed some damage, though not much, in the control group but increased in the Sham group and became increasingly more distinct in the PRF, CRF40 and CRF80 groups respectively.

As a result, in this study the damage to the sciatic nerve caused by RF applications in the control and Sham groups was compared. Edema, cell and myelinisian pathological changes due to PRF application were microscopically and morphometrically examined. It was concluded that PRF application was safer than CRF40 and CRF80 applications.

The minimal damage determined in the control group suggested that nerve tissues can be affected even during the any type of procedures applied to

the nerves. The fact that the damage increased more in the Sham group than in the control group also suggested that the nerve tissues are affected by surgical applications as well. It was also considered that, due to high temperature, conventional RF applications caused damage which can not be prevented but decreased by PRF applications.

IX- EKLER

EK1:

Fotoğraflarla perfüzyon yapılış tekniği:

- Genel anestezi altında deri, deri altı ve fasya kaldırıldı
- Processus xphoideus belirlendi
- Processus xphoideus yukarı kaldırılıp, diaphragma belirlendi
- Diaphragma thorax'a girmek için disseke edildi
- Thorax'a girilip, kalbe ulaşıldı
- Sol ventrikül içine branül ile apex'ten girildi
- % 2,5'luk glutraldehit fiksatif dolaşım sistemine perfüze (1cc./1sn./gr.) edildi
- 1-2 sn. sonra sağ atriyum enjektör ucuyla delinerek dolaşım kanının dışarı çıkması sağlandı

EK 2:

E.M. takip şeması:

- % 2,5'luk fosfat tamponlu glutraldehit içinde en az iki saat immersiyon tespiti sağlandı
- Tespit edilen parçalar fosfat tamponuna alındı
- Post fiksasyon için 1:1 oranında osmium tetroksit (OsO4) + Milloning tamponu eklendi (1,5-2 saat). Parçalar temiz bir tüpe aktarıldı
- Üzerine Milloning tamponu ilave edilip 15 dk. bekletildi
- % 50 Alkol (15 dk)
- % 50 Alkol (15 dk)
- % 70 Alkol (25 dk)
- % 95 Alkol (25 dk)
- % 100 Alkol (30 dk)

- % 100 Alkol (15 dk) serilerinden geçirildi. Parçaların dehidrasyonu sağlandıktan sonra
- 1:1 oranında % 100 Alkol-propilenoksit (50 dk.)
- Saf propilenoksit (30 dk.)
- Saf propilenoksitte (30 dk.) bekletildi, temiz tüplere geçirildi ve
- 2:1 oranında propilenoksit + epon karışımı kondu (60 dk.)
- 1:2 oranında propilenoksit + epon karışımında bekletildi (60 dk.). Sonrasında parçalar
- Epon karışımına (DMP-30'suz) alınarak 1 gece (parçalar çökene kadar) buzdolabında +4 C° de bekletildi. Parçalar sonra
- %1.5-2 oranında DMP-30 ihtiva eden epon içerisinde BEEM 036 pyramidal kapsüllere gömüldü
- 37 C° etüvde 24 saat tutuldu
- Etüv ısı 45 C° ye yükseltildi (24 saat)
- Etüv ısı 60 C° ye yükseltildi (24 saat)
- Sonunda etüvden alınan parçaların tamamen sertleşmesi için yaklaşık 10 gün oda ısısında laboratuvarında beklemesi sağlandı
- Reichert, Austria Nr.313864 ultra mikrotom aracılığıyla elektron mikroskobu için ince kesitler alındı
- Kesitler 3,05 mm.çaplı Gilder grids G 200 bakır gridler üzerine yerleştirildi
- Gridler Uranyl Acetate ile boyama için mat yüz solüsyona temas edecek şekilde ters kapatıldı (20 dakika bekletildi)
- Sonra borulu polietilen yıkama şişesinde saf su ile yıkama yapıldı
- Gridler kuruduktan sonra ikinci boyama olan Kurşun Sitrat boyamasına geçildi. Önceden hazırlanmış olan 4 mm'lik dişçi mumlu petri kutularına grid sayısı kadar damlatılan kurşun sitrat boyası üzerine gridler mat tarafı solüsyona temas edecek şekilde yerleştirildi. Havadaki karbondioksiti alması için hazırlanmış olan petri kutusunun bir kenarına sodyum hidroksit (NaOH) konuldu
- 20 dakika sonunda gridler boyadan çıkarılıp yıkandı. Bütün bu işlemlerden sonra gridler elektron mikroskobunda incelenip değerlendirildi ve gerekli

resimler değişik büyütmelerde olmak üzere çekildi

EK 3 :

Işık mikroskobu için boyama yöntemi:

Toluidin blue: %2'lik stok Borax solusyonu kullanılmadan önce yarı yarıya sulandırılır. 1:1 oranında (%1) toluidin blue ile karıştırılıp 60⁰C'lik etüvde 2 dk. boyanıp akar suda yıkanır.

EK 4:

ELEKTRON MİKROSKOBU TAKİBİNDE KULLANILAN FİKSATİFLER VE TAMPONLAR, EPOXY RESİN VE BOYALARIN HAZIRLANMASI

Fiksatifler ve Tamponlar:

GLUTERALDEHİT FİKSATİFİ (Milloning Fiksatif)

Araştırmalarda glutraldehid ile yapılan tespitlerde, ince yapının iyi bir şekilde muhafaza edildiği tespit edilmiştir. Glutraldehid'i osmium tetroksid'li bir fiksatif takip edecek olursa bu şekilde yapılan çifte fiksasyon sonunda elde edilen ince yapı muhafazasının çok iyi olduğu ortaya konmuştur.

Milloning tamponu:

- A:13,36 gr. Na HPO₄. H₂O.....300 ml
- B:15,36 gr. NaOH300 ml
- C:32,4 gr. sukroz.....300 ml
- D:207,5 ml. A solusyonu+ 42,5 ml. B solusyonu

Tampon solusyonu, 25 ml.C solusyonu üzerine 25 ml.D solusyonu eklenip

total volum distile su ile 500 ml.'ye tamamlanarak (pH: 7,2- 7,4) hazırlanır. Sonuçta, %2,5'luk glutraldehit fiksatifi % 25'lik ticari glutraldehit solusyonu ve Milloning tamponundan 1:9 oranında karıştırılarak elde edilir.

OSMIUM TETROKSİD FİKSATİFİ:

Stok solusyon hazırlanması için kullanılacak şişenin kahverengi olması, geniş ağıza sahip bulunması, camdan yapılı kapağının şişe ağzına iyice uyması ve şişenin özel olarak önceden iyi bir şekilde temizlenmesi gerekir. Önceden temizlenmiş ve bu amaç için kullanılacak 100 cc'lik geniş ağızlı ve cam kapaklı şişe bir gece süre ile kesif sülfürik asidte bırakılır. Sonra distile su ile birçok defalar yıkanır ve etüvde kurutulur. Bu şişe içine 50 cc. distile su konduktan sonra osmium tetroksidin 1 gr'lık ampülü bu şişe içinde kırılır. Osmium tetroksid ampülünün de daha önceden iyice temizlenmesi gerekir. Bu amaçla önce ampülün etiketi çıkarıldıktan sonra ampül yıkanır. Ampülün bir ucuna yakın yeri bir ampül testeresi ile halka şeklinde çizilir. Bir ucu çizilmiş olan bu ampül en az bir saat süre ile kesif sülfürik asidte bırakılır. Şişenin temizlenmesinde olduğu gibi distile su ile birçok defalar yıkanır.

Sonra ucu aleve tutulmuş bir pens yardımıyla ampül tutulur ve çizilen uç bir benzen alevinde ısıtıldıktan sonra 50 cc. distile su bulunan şişe içine atılır. Sıcak ampül soğuk suya temas edince testere ile çizilmiş yerinden parçalanır. Serbest kalan osmium tetroksit kristalleri oda ısısında erimeye bırakılır. Osmium tetroksit suda güç eridiğinden eriyiğin kullanılmadan bir gün evvel hazırlanması gerekir. Bu şekilde hazırlanmış %2'lik osmium tetroksit eriyiği çok açık sarı renkte ve berrak görünüşlüdür. 4°C'de birkaç hafta saklanabilir (48).

TUZLU FOSFAT TAMPONU:

- 0,663 gr. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- 4,04 gr. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 8,78 gr. NaCl

1000 ml. Distile suda eritilip, pH:7,4 olabilmesi için 1 N. NaOH solusyonu

damlatılarak hazırlanır.

Fiksatif için OsO_4 stok solusyonu ve tuzlu fosfat tamponu 1:1 oranında karıştırılarak postfiksasyon için OsO_4 fiksatifi elde edilir.

Elektron mikroskobu için kullanılan boyaların hazırlanması ve boyama metodları

Uranyl Asetat Hazırlanışı:

- Uranyl Asetat _____ 3,75 gr.
- Distile su _____ 50 cc.

250 ml'lik erlenmayer kabına 50cc. kaynatılmış-soğutulmuş distile su konur. 3,75 gr. uranyl asetat konur ve 15 dakika karıştırılır. Erlenmayer parafin ile kapatılır. En az 1-2 saat buzdolabında bekletilir.

Stok solüsyonundan 10 ml. pastör pipetle, 15 ml.'lik konik santrifüj tübüne 5 ml. uranyl asetat, 5 ml. ethanol konur. 1800 devirde + 4° de 20 dakika soğuk santrifüj yapılır.

Kesitlerin Uranyl Asetat ile Boyanması: Santrifüj yapılan solüsyondan boya kaplarına yetecek miktarda konarak içersine kesitler temas edecek şekilde üzeri kapatılır (parlak yüzey yukarı, mat yüzey aşağı konur). 5 dakika bekletildikten sonra kesitler pens yardımıyla çıkarılıp distile su ile yıkanır. Petri kutularında kurumaya bırakılır.

Kurşun Boyası :

Kurşun nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) _____ 1,33 gr.
Sodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 5,5 \text{H}_2\text{O}$) _____ 2,137 gr

50 ml. şişeye 30 ml. kaynatılmış distile su konur. Kurşun nitrat + Sodyum sitrat ikisi bir arada karıştırılır. Üzerine 8 ml. 1 N NAOH eklenir. Toplam hacim 50 ml. distile suyla tamamlanarak stok solusyonu hazırlanır.

Stok solüsyonu 10 ml. pipetle 15 ml.'lik santrifüj tûpüne 10 ml. saf kurşun solüsyonundan konur. Soğutmalı santrifüjde 1800 devirde 20 dakika santrifüj yapılır.

Kesitlerin Kurşun ile Boyanması: Santrifüj yapılan solusyon, kesitleri boyamaya hazırdır. Dişçi mumu üzerine bırakılır. Dişçi mumunun bir kenarına NaOH'dan bir parça konulur. 20 dakika bekletilir. Çıkarılıp kesitler tridistile su ile yıkanır. Kurumaya bırakılır.

X- KAYNAKLAR.

1. Ağrı, İkinci Baskı. Ed.: Erdine S. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; 651- 64
2. Rosomoff H. L., Carrol F., Brown J., et al. Percutaneous radiofrequency cervical cordotomy technique. J Neurosurg: 1965; 23: 639-44
3. Sweet W. H., Wepsic J. G. Controlled thermocoagulation of trigeminal ganglion and rootlets for differential destruction of pain fibres. J Neurosurg: 1974; 40:143-56
4. Uematsu S., Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nevre trunj, ganglion and rootlets. In: Schmidel H. H., Sweet W. S., Grune and Stratton, eds. Current techique in operative neurosurgery. New York: 1977
5. Sluijter M. E., Radiofrequency, Part 1: The lumbosacral region. FlivoPress. Switzerland: 2001; 50- 51
6. Slappendel R., Crul B. J., Braak G. J., et al. The efficacy of radiofrequency lesioning of the cervical spinal dorsal root ganglionin a double blind randomized study: no difference between 40 degrees and 67 degrees C treatments. Pain: 1997; 73: 159-63
7. Sluijter M. E., Comsan E., Rittman W., et al. The effect of pulsed radiofrequency fields applied to the dorsal root ganglion- a preliminary report. Pain Clin: 1998; 11: 109- 17
8. Kirschner M. Zur Elektrochirurgie. Arch Klin Chir: 1931; 167: 761-5
9. Hunsperger R. W., Wyss O. A. M. Quantitative Ausschaltung von Nervengewebe durch Hochfrequenzkoagulation. Helv Physiol Acta: 1953; 11: 283-304
10. Mullan S., Hekmatpanah J., Dobbin G., et al. Percutaneous intramedullary cordotomi utilizing the unipolar anodal electrolytic lesion. J Neurosurg: 1965; 22: 548-53
11. Rosomoff H. L., Carrol F., Brown J., et al. Percutaneous radiofrequency cervical cordotomy technique. J Neurosurg: 1965; 23: 639-44

12. Sweet W. H., Wepsic J. G. Controlled thermocoagulation of trigeminal ganglion and rootlets for differential destruction of pain fibres. *J Neurosurg*: 1974; 40:143-56
13. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nerve trunk, ganglion and rootlets. In: Schmidel H. H., Sweet W. S., Grune and Stratton, eds. *Current technique in operative neurosurgery*. New York: 1977
14. Shealy C.N. Percutaneous radiofrequency denervation of the lumbar facets. *J Neurosurg*: 1975; 43: 448-51
15. Sluijter M. E., Mehta M. Treatment of chronic back and neck pain by percutaneous thermal lesions. In: Lipton S., Miles J., eds. *Persistent pain, modern methods of treatment*, Vol. 3. Academic Press. London, Toronto, Sydney: 1981; 141-79
16. Van Kleff M., Spaans F., Dingemans W. A. A. M. et al. Effects and side effects of a radiofrequency lesion of the dorsal root ganglion (RF- DRG) in patients with cervical pain syndrome. *Pain*. 1993; 52: 49-53
17. Letcher F. S., Goldring S. The effect of radiofrequency current and heat on peripheral nerve action potential in the cat. *J Neurosurg*: 1968; 29: 42-7
18. Hamann W., Hall S. Acute effect and recovery of primary afferent nerve fibres after graded RF- lesions in anesthetized rats. *Br J Anaesth*. 1992; 68: 443-5
19. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nerve trunk, ganglion and rootlets. In: Schmidel H. H., Sweet W. S., Grune and Stratton, eds. *Current technique in operative neurosurgery*. New York: 1977
20. Van Kleff M. Radiofrequency lesions adjacent to the dorsal root ganglion. Thesis. Datawyse, Maastricht: 1996
21. Smith H. P., Mc Worther J. M., Challa V.R. Radiofrequency neurolysis in a clinical model. *J Neurosurg*: 1981; 55: 346-53
22. De Louw A. J. A., Vles H. S. H., Freling G., et al. The morphological effects of a radio frequency lesion adjacent to the dorsal root ganglion (

- RF- DRG)_ an experimental study in the goat. *European Journal of Pain*. 2001; 5: 1-6
23. Sluijter M. E., *Radiofrequency, Part 1. The lumbosacral region*. FlivoPress, Switzerland: 2001; 50-1
 24. Sluijter M. E., Van Kleff M. Characteristics and mode of action of radiofrequency lesions. *Current Review of Pain* 2. 1998; 143-50
 25. Ruiz- Lopez R. Radiofrequency for the treatment of chronic pain. In: Raj P. P., eds. *Textbook of Regional Anesthesia*. Churchill Livingstone, USA: 2002; 619- 45
 26. Cosman E. R., Comsan B. J. Methods of making nervous system lesions. In: Wilkins R. H., Renschly S. S., McGraw- Hill, eds. *Neurosurgery*: New York: 1985; 2490-9
 27. Cosman E. R., Rittman W. J. Physical aspects of radiofrequency energy applications. In: Huang S. K. S., eds. *Radiofrequency Catheter Ablation of Cardiac Arrhythmias. Basic Concepts and Clinical Applications*. Futura Publishing Company Inc. New York: 1994; 13-23
 28. Moringlane J. R., Koch R., Schafer H., et al. Experimental radiofrequency (RF) coagulation with computer- based online monitoring of temperature and power. *Acta Neurochir*: 1989; 96: 126-31
 29. Bogduk N., Macintosh J., Marsland A. Technical limitations to the efficacy of radiofrequency neurotomy for spinal pain. *Neurosurg*: 1987; 20: 529-35
 30. Cosman E. R., Nashold B.S., Ovelman- Levitt J. Theoretical aspects of radiofrequency lesions in the dorsal root entry zone. *Neurosurgery*: 1984; 15: 945- 50
 31. Sanders M. Application of radiofrequency lesions in patients suffering from chronic pain. ISBN: 90- 72816- 05- 6, 22-3
 32. Fox J. L. Experimental relationship of radiofrequency electrical current and lesion size for application to percutaneous cordotomy. *J Neurosurg*: 1970; 33: 415-21
 33. Sluijter M. E. *Radiofrequency, Part 1. The lumbosacral region*. FlivoPress, Switzerland: 2001; 56

34. Sluijter M. E. Principles of RF lesions and strategy for treatment. Abstract. First Maastricht Workshop on Radiofrequency in the Treatment of Spinal Pain, Part 2, NTPP: 1997; 4: 70-3
35. Sluijter M. E., Comsan E., Ritman W., et al. The effect of pulsed radiofrequency fields applied to the dorsal root ganglion- a preliminary report. Pain Clin: 1998; 11: 109-17
36. Sluijter M. E., Van Kleef M. Characteristics and mode of radiofrequency lesions. Current Review of Pain 2: 1998; 143-50
37. Ganong WF; Çeviren: Doğan A. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Barış kitapevi, 1995
38. Jung-Testas I, Baulieu EE. 1998 Apr Steroid hormone receptors and steroid action in rat glial cells of the central and peripheral nervous system. J Steroid Biochem Mol Biol; 65 (1-6): 243-51
39. Kidd GJ, Heath JW. Double myelination of axons in the sympathetic nervous system of the mouse II. Mechanisms of formation. J Neurocytol: 1988; 17 (2): 263-76
40. Benzon HT, Kim C, Benzon HP, Silverstein ME, et al. Correlation between evoked motor response of the sciatic nerve and sensory blockade. Anesthesiology: 1997; 87 (3): 547-52
41. Covino BG. Systemic toxicity of local anesthetic agents. Anesth. Analg: 1978; 5: 387
42. Eylar EH, Ishaque A, Szymanska I. Guillain-Barre syndrome and allergic neuritis: is the P2 protein a common denominator. Prog Clin Biol Res: 1980; 39: 337-56
43. Griffin JW, Li CY, Ho TW, et al. Jun Guillain-Barre syndrome in northern China. The spectrum of neuropathological changes in clinically defined cases. Brain: 1995; 118 (Pt 3): 577-95
44. Heath JW, Kidd GJ, Trapp BD, et al. Myelin maintenance by Schwann cells in the absence of axons. Neurosci Lett: 1991; 128 (2): 277-80
45. Lundborg G. Ischemic nerve injury. Experimental studies on intraneural microvascular pathophysiology and nerve function in a limb subjected to temporary circulatory arrest. Scan J Plast Reconstr Surg Suppl: 1970; 6:

3-113

46. Romine JS, Bray GM, Aguayo AJ. Jan Schwann cell multiplication after crush injury of unmyelinated fibers. *Arch Neurol*: 1976; 33 (1): 49-54
47. Friede RL, Samorajski T. The clefts of Schmidt-Lantermann: a quantitative electron microscopic study of their structure in developing and adult siyatik nerves of the rat. *Anat Rec Sep*: 1969; 165(1):89-101
48. Friede RL, Samorajski T. Axon caliber related to nörofilaments and microtubules in siyatik nerve fibers of rats and mice. *Anat Rec Aug*: 1970; 167(4):379-87
49. Friede RL, Samorajski T. Relation between the number of myelin lamellae and akson circumference in fibers of vagus and siyatik nerves of mice. *J Comp Neurol*: 1967; 130 (3): 223-31
50. Friede RL, Samorajski T. Axon caliber related to nörofilaments and microtubules in siyatik nerve fibers of rats and mice. *Anat Rec*: 1970; 167 (4): 379-87
51. Berthold CH, Fabricius C, Rydmark M, et al. Nov Axoplasmic organelles at Nodes of Ranvier I. Occurrence and distribution in large myelinated spinal root aksons of the adult cat. *J Neurocytol*: 1993; 22 (11): 925-40
52. Kalichman MW, Powell HC, Myers RR. Pathology of lokal anesthetic-induced nerve injury. *Acta Neuropathol (Berl)*: 1988; 75 (6): 583-9
53. Robertson J D. Preliminary observations on the ultrastructure of Nodes of Ranvier. *Zellforschung*: 1959; 50: 553-60
54. Samorafski,T. Arelation between the number of myelin lamellae and axon cürcumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *F. Comp. Neural.*: 1967; 130: 223
55. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, et al. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol*: 1998; 55 (12): 1513-20
56. Barsa J, Batra M, Fink BR, et al. A comparative in vivo study of lokal nörotoxicity of lidocaine, bupivacaine, 2-chloroprocaine and a mixture of 2-chloroprocaine and bupivacaine. *Anesth Analg*: 1982; 61: 961-7
57. Hess,A. The fine structure and morphological organization of

- nonmyelinated nerve fibers. Proc. Roy. Soc. B.: 1956; 144:496
58. Baulieu EE, Schumacher M. Neurosteroids, with special reference to the effect of progesterone on myelination in peripheral nerves. *Mult Scler*: 1997; 3 (2): 105-12
59. Bridenbaugh LD. Regional anesthesia for surgery of the extremities. *Clin Anesth*: 1969; 2: 193-215
60. Cravioto H. The role of Schwann cells in the development of human peripheral nerves. An electron microscopic study. *J Ultrastruct Res Jun*: 1965; 12(5):634-51
61. Duchen LW, Scaravilli F. The structure and composition of peripheral nerves and nerve roots In the Sprawling mouse. *J Anat*: 1977; 123 (3): 763-75
62. Jessen KR, Mirsky R. Origin and early development of Schwann cells. *Microsc Res Tech*: 1998; 41 (5): 393-402
63. Sokoloff L. Sites and mechanisms of function-related changes in energy metabolism in the nervous system. *Dev Neurosci*: 1993; 15 (3-5): 194-206
64. Butterworth JF 4th, Moran JR, Whitesides GM, et al. Limited nerve impulse blockade by "leashed" lokal anesthetics. *J Med Chem*: 1987; 30 (8): 1295-302
65. Fitzgerald M, Woolf CJ, Gibson SJ, et al. Alterations in the structure, function, and chemistry of C fibers following lokal application of vinblastine to the siyatik nerve of the rat. *J Neurosci*: 1984; 4 (2): 430-41
66. Nagy I, Woolf CJ. Jan Lignocaine selectively reduces C fibre-evoked neuronal activity in rat spinal cord in vitro by decreasing N-methyl-D-aspartate and neurokinin receptor-mediated post-synaptic depolarizations; implications for the development of novel centrally acting analgesics. *Pain*: 1996; 64 (1): 59-70
67. *Temel Patoloji*. Ed:Uğur Çevikbaş. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1995; 732
68. *Neuroanatomy*. M.J.T. Fitz Gerald MD, PhD, DSc. 1992; 16-22

69. Santo Neto H, Teodori RM, Somazz MC,. Axonal regeneration through muscle autografts submitted to lokal Anaesthetic pretreatment. *Br J Plast Surg*: 1998; 51 (7): 555-60
70. Kidd GJ, Heath JW. Myelin sheath survival following aksonal degeneration in double myelinated nerve fibers. *J Neurosci*: 1991; 11 (12): 4003-14
71. Mason P, Attema B, DeVries GH. Fall In vitro use of Schwann cells to elucidate nörotoxic injury. *Neurotoxicology*: 1991; 12 (3): 459-71
72. Odenwald WF, Askanas V. Ultrastructural and cytochemical characteristics of cultured rat Schwann cells. *Acta Neuropathol (Berl)*: 1981; 54 (2): 135-42
73. Pizzolato P, Renegar OJ. Histopathologic effects of long exposure to lokal anesthetics on peripheral nerves. *Anesth Analg*: 1959; 38: 138-41
74. Morell P, Toews AD, Wagner M, et al. Spring Gene expression during tellurium-induced primary demyelination. *Neurotoxicology*: 1994; 15(1): 171-80
75. Wynsberghe D.V, Noback C.R, Carola R. Human Anatomy and Physiology. Third Ed. Mc Graw-Hill, Inc. New York: 1995; 355-72
76. Zetlaoui PJ. Blocs des nerfs sciatiques. [Article in French] *Cah Anesthesiol*: 1996; 44 (2): 119-26
77. Guyton A.C. Basic Neuroscience. Anatomy & Physiology W.B Saunders Company. Phyladelphia, London: 1991; 52-4
78. Jean Bossy, Bastide G, Godlewski G, et al. Anatomie Clinique Neuro-anatomie. Springer- Verlag, Paris, Berlin, Heildenberg, New York, Londres, Tokyo, Hong Kong: 1990; 10-1
79. Williams P.L, Warwick R, Dyson M, et al. Gray's Anatomy. 37. Ed. Churchill Livingstone. Edinburg: 1989; 1145-49 and 896-903
80. Van Wijk R. M., Geurts J. W., Wynne H. J. Long- lasting analgesic effect of radiofrequency treatment of the lumbosacral dorsal root ganglion. *J Neurosurg*: 2001; 94: 227- 31.

81. Van Kleef M., Barendse G. A., Dingenmans W. A., et al. Effects of producing a radiofrequency lesion adjacent to the dorsal root ganglion in patients with thoracic segmental pain. *Clin. J. Pain*: 1995; 11: 325- 32
82. Podhajsky, Ronald J. The histologic effects of pulsed and continuous radiofrequency lesions at 42° C tor at dorsal root ganglion and sciatic nerve. *Spine*: 2005; 1: 30(9): 1008-13
83. Cahana A., Vutskits L., Muller D. Acute differential modulation of synaptic transmission and cell survival during exposure to pulsed and continuous radiofrequency energy. *J Pain*: 2003; 4: 197- 202
84. Erdine S., Yücel A. Effects of pulsed versus conventional radiofrequency current on rabbit dorsal root ganglion morphology. *Eur J Pain*: 2005; 9(3): 251-6
85. Higuchi Y., Nashold BS Jr., Sluijter M., et al. Exposure of the dorsal root ganglion in rats to pulsed radiofrequency energy activates dorsal horn lamina 1 and 2 neurons. *Neurosurgery*: 2002; 50: 850- 5
86. Van Zundert J., Brabant S., Van de Kelft, et al. Pulsed radiofrequency treatment of the gasserian ganglion in patients with idiopathic trigeminal neuralgia. *Pain*: 2003; 104: 449- 52.
87. Van Zundert J., Lame IE, de Louw A., et al. Percutaneous pulsed radiofrequency treatment of the cervical dorsal root ganglion in the treatment of chronic cervical pain syndromes: a clinical audit. *Neuromodulation*: 2003; 6: 6- 14
88. Abejon D., Reig E. Is pulsed radiofrequency a neuromodulation technique *Neuromodulation*: 2003; 6: 1- 3