



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI**

RAT SİYATİK SİNİRİNE UZUN SÜRELERDE PULSE RADYOFREKANS UYGULAMASININ HİSTOLOJİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mustafa Can AZGAN

Antalya, 2013



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI**

RAT SİYATİK SİNİRİNE UZUN SÜRELERDE PULSE RADYOFREKANS UYGULAMASININ HİSTOLOJİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mustafa Can AZGAN

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Mehmet Arif YEĞİN

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

Antalya, 2013

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca yardım, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. Mehmet Arif YEĞİN'e, uzmanlık eğitimim süresince eğitimime katkıda bulunan Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Necmiye HADİMOĞLU ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalının diğer bütün saygıdeğer öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda emeği olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Necdet DEMİR ve değerli yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Sayra DİLMAÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık hayatım boyunca her türlü fedakarlığı beraber gösterdiğimiz, arkadaşlık ve aile ortamını paylaştığım, beraber çalışmaktan keyif aldığım bütün asistan arkadaşlarıma, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda çalışan bütün tekniker, teknisyen, hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne kadar bana hep destek olan, sevgi ve özverilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. RF Uygulamalarının Tarihçesi	3
2.2. RF Uygulamaları	4
2.2.1. Konvansiyonel RF	4
2.2.2. Pulse RF	8
2.2.3. Konvansiyonel ve pulse RF uygulamalarının karşılaştırılması	10
2.2.4. Periferik sinirlerin yapı ve fonksiyonları	10
2.2.5. Sinir liflerinin histofizyolojisi	17
2.2.6. Sinir lif tipleri ve işlevleri	18
2.2.7. Periferik sinir sisteminin dejenerasyon ve rejenerasyonu	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. ÖZET	47
7. ABSTRACT	49
8. KAYNAKLAR	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

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

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Sinir hücre anatomisi	12
2.2. Uzantılarına göre nöronların sınıflandırılması	13
2.3. A: Sinir kılıfları şematik çizim B: Sinir kılıfları elektron mikroskop görüntüsü	16
4.1. Kontrol grubuna ait siyatik sinirden alınmış ışık mikroskopik mikrogaf. a) Düşük büyütme de sinirin bağdokusu kılıflarında preperasyona bağlı ayrılmalar izlenmekte. b) Yüksek büyütmede siniri oluşturan liflerin görünümü. (HE)	26
4.2. a) Kontrol grubuna ait siyatik sinirden alınmış yarı ince plastik kesitin toluidin mavisi preperatı. b) Aynı alandan alınmış elektron mikrografta miyelinli lifler (M), miyelinsiz (unmyelinated) lifler (U) ve aksoplazma içerisinde mitokondriyonlar (oklar) izlenmekte. Lifleri çevreleyen Schwann hücrelerini (*) kollajen liflerle doldurulmuş endonöryum (E) çevrelemekte	27
4.3. Sham grubuna ait örneklerin ışık mikrografları. a) Düşük büyütmede epinöryum (E) ve perinöryum (P) izleniyor. b) Aynı örneğin yüksek büyütmede ışık mikrografi	27
4.4. a) Sham grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesiti. b) Aynı bölgeden alınan elektronmikrografta Schwann hücrelerince (*) çevrelenmiş miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler ve bunları çevreleyen endonöryal kollajen lifler (C) izlenmekte	28
4.5. 2 dakika PRF uygulanmış siyatik sinire ait düşük büyütme (a) ve yüksek büyütme (b) ışık mikroskop mikrogafı. Bazı miyelinli liflerde akson deformasyonları (oklar) izlenmekte	28
4.6. 2 dakika PRF uygulanmış siyatik sinir plastik kesidi (a) ve elektron mikrogafi (b). Elektronmikrografta Schwann hücresi (S), miyelin kılıf ve Schmit Lanterman yarığı (oklar) normal yapı göstermekte	29

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.7. 2 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra alınan siyatik sinir örneklerinden alınan ışık mikrograflar kontrollerle benzer özellik göstermekte. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme. (E) epinöryum	29
4.8. 2 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra siyatik sinir diseksiyonu uygulanan grupta (a) plastik yarı ince kesit ışık mikrografı ve (b) elektron mikrograf görüntüleri. Elektron mikrografta miyelin kılıf, Schwann hücresi (S) sitoplazması normal görünüm sergilemekte. Hem aksoplazmik, hem de Schwann hücresi mitokondriyonları (Ok başları) normal görünümde. Schwann hücresi sitoplazması gelişmiş granüllü endoplazma retikulum sarnıçları içermekte (ok). (N) Schwann hücresi nukleusu	30
4.9. 6 dakika PRF uygulanmış siyatik sinire ait düşük büyütme (a) ve yüksek büyütmede alınmış (b) ışık mikroskop mikrografları. Siyatik siniri oluşturan yapılar kontrol grubuyla benzer görünüm sergilemekte	30
4.10. 6 dakika PRF uygulanmış siyatik sinir plastik kesidi (a) ve elektron mikrografı (b). Elektronmikrografta miyelin kılıfı (M) saran Schwann hücresi sitoplazmasında mitokondriyonlar (oklar) ve farklı boyutlarda SER vezikülleri (ok başları) izlenmekte. Shewann hücresi membranı ve bazal laminası bütünlüğü açık olarak izlenmekte	31
4.11. 6 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra alınan siyatik sinir örneklerinden alınan ışık mikrograflar kontrollerle benzer özellik göstermekte. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme. (E) epinöryum	31
4.12. 6 dakika PRF uygulanmış deneklerin 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinir plastik kesidi (a) ve elektron mikrografı (b). Elektron mikrografta miyelinli lif (M), miyelinsiz lifler (U) ve bunları izole eden Schwann hücresi (S), endonöryum (E) izlenmekte	32
4.13. 9 dakika PRF uygulamasından sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinde, bazı alanlarda lokal kanamalar (oklar) dikkat çekmekte. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme	33

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.14. 9 dakika PRF uygulamasını takiben diseke edilen siyatik sinir örneklerinden elde edilen plastik yarı ince kesitte (a) bazı fasiküllerde miyelin deformasyonları (oklar) dikkat çekmekte. Elektron mikrografta (b) Schwann hücresi (S) sitoplazmasında granüllü endoplazmik retikulum sarnıçlarını düzensiz bir şekilde genişlemiş olduğu(oklar) ve mitokondriyon (ok başı) matriks elektron dansitesinin zayıfladığı izlenmekte. (M) miyelin kılıf, (U) miyelinsiz kılıf, (C) endonöryal kollajen lifleri	33
4.15. 9 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikrogramları. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme	34
4.16. 9 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinirlerin plastik yarı ince kesiti (a) ve elektron mikrogramı (b). Miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler, mitokondriyonlar (oklar) ve aksoplazma içerisinde düz endoplazmik retikulum vezikülleri (ok başları) izleniyor	34
4.17. 12 dakika PRF uygulamasından sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikrogramları. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme	35
4.18. 12 dakika PRF uygulamasından sonra diseke edilen siyatik sinirlerin plastik yarı ince kesiti (a) ve elektron mikrogramı (b). Miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler izleniyor	35
4.19. 12 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikrogramları. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme. Sinir lifleri arasında yoğun lokosit infiltrasyonu dikkat çekmekte	36
4.20. 12 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinirlerin plastik yarı ince kesiti (a) ve elektron mikrogramı (b). Miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler, izleniyor	36

TABLÖLAR DİZİNİ**Sekil****Sayfa****2.1.** Memeli sinirinde sinir lifi tipleri**19**

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı tarihinin başlangıcı insanoğlunun başlangıcı kadar eskidir. İnsanoğlu var olduğundan beri ağrı çekmektedir. Semptomlar açısından bir sorun olan ağrı, hastaların sağlık sektörü çalışanlarından yardım istemesine en sıklıkla neden olan bulgudur.

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı (IASP)'na göre ağrı, var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoşla gitmeyen duysal ve emosyonel bir deneyim olarak tanımlanmıştır. Bu tanıma göre ağrı, bir duyum ve hoşla gitmeyen yapıda olduğundan her zaman öznelidir. 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 anestezikler, opioidler, steroidler, nörolitik ajanlar ile) ve yine nöroablasyon temeline dayalı kriyokoagülasyon, koterizasyon, iyonizan radyasyon, ultrason, cerrahi destrüksiyon ve radyofrekans termokoagülasyon (RF)'dur.

RF yöntemi, Rosomoff ve arkadaşlarının tanımladığı 1965 yılından bu yana çeşitli kronik ağrı sendromlarının tedavisinde ağrı iletimini durdurmak amacıyla kullanılmakta ve başarılı sonuçlar alınmaktadır (%E). Konvansiyonel radyofrekans uygulamalarında, RF elektrodunun çevresinde meydana gelen yüksek sıcaklıktan dolayı dokuda koagülasyon nekrozu meydana gelmekte ve ağrı iletiminde kesilmeye yol açmaktadır. Ancak yüksek ısı ile yaratılan bu ablasyon deafferantasyon sekeline yol açabilmektedir. RF uygulaması 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. Fakat buna rağmen RF tedavisi sonrası nadiren nöropatik ağrı problemi görülebilmektedir (2-5).

Slappandel ve arkadaşları, dorsal root ganglionuna 40°C ve 67°C RF uygulamışlar ve ağrı sağaltımı açısından fark olmadığını saptamışlardır (6). Bunun

üzerine ısı fizyolojik sınırlarda tutularak ağrı iletimini durdurabilen radyofrekans yöntemleri üzerinde çalışılmaya başlanmış ve pulse RF (PRF) tekniği geliştirilmiştir.

Sluijter ve arkadaşları, KRF tekniğindeki devamlı akımı, saniyede 2 frekans olacak şekilde pulse hale getirilerek ısıнын konvansiyonel yöntemdeki kadar yüksek olmasına gereksinim kalmadığını ve yöntemin etkinliğinin aynı olduğunu saptamışlardır (7). Böylelikle ısı nörodestrüktif seviyelere çıkmamış olur. PRF yeni bulunan bir teknik olmasına rağmen, doku hasarı oluşturmadaan ağrıyı azaltmasından dolayı klinik kullanımda hızlı bir şekilde kabul görmüştür (6,7).

Yapılan çalışmalarda PRF tedavisinin etki mekanizması tam olarak açıklanamaz; yapısal bir hasar oluşturmadığı gösterilmiştir (6-9,12,13,14,19,20). PRF'in hangi endikasyonlarda ve bölgelerde ne kadar sürelerde uygulanacağına yönelik kesin bilgiler bulunmamaktadır. Klinisyenler tarafından genellikle PRF uygulama süresi 120 saniye olarak belirlenmiştir. Son zamanlarda daha etkin tedavi için bazı klinisyenler tarafından PRF'in uygulama süresi arttırılmaktadır. İntradiskal uygulamalarında RF akımı 15-20 dakikaya boyunca uygulanmaktadır (10-12). Literatürde PRF tedavisinin histolojik etkilerini araştıran az sayıdaki çalışmalarda PRF akımı dokuya 120 veya 240 saniye boyunca uygulanmıştır (13-16). Daha uzun sürelerde uygulanan PRF'in dokuda yaratabileceği morfolojik ve patolojik değişikliklerle ilgili bir çalışma henüz yapılmamıştır.

Bu çalışmamızda uzun süreli PRF uygulamasının dokuda meydana getirebileceği morfolojik ve patolojik değişikliklerin ışık ve elektron mikroskobu ile inceleyerek uygulama süresi ile meydana gelebilecek değişiklikler arasında bağlantı olup olmayacağını araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. RF Uygulamalarının Tarihçesi

Bazı hastalıkların tedavisinde, dokulara elektrik akımı uygulayarak lezyon meydana getirme fikri, ilk defa 1931 yılında Kirschner'in çalışmasıyla ortaya atılmıştır (17). 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 (18) ise 1953'te bu tarz 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 (19), perkütan lateral kordotomi uygulaması için kullanmış, aynı yıl Rosomoff (20) aynı uygulamada radyofrekans (RF) akımını kullanmıştır. Sweet ve Wepsic (21) 1974 yılında, trigeminal nevralji tedavisinde RF akımını kullanarak Gasser ganglionu lezyonu oluşturdukları tekniği, Uematsu ve arkadaşları (22) ise 1977 yılında 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) (23).

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

1980 yılında Sluijter ve Mehta (24) 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 gelişmeler de RF uygulamalarının gündeme gelişinde etkin olmuştur.

1990'lı yılların ilk yarısına kadar KRF uygulamalarında klinik etkiden sadece oluşan ısı lezyonu ve sinir hasarı sorumlu tutulmaktaydı (25). 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 miyelinsiz ve miyelinli sinir lifleri üzerindeki selektif etkisine (27) bağlanmaya çalışılmış, ancak yapılan yeni çalışmalar böyle bir etkiyi gösterememiştir (28-32).

Slappendel ve arkadaşlarının 1997 yılında yaptığı bir çalışmada; 40°C ve 67°C'de uyguladığı KRF uygulamalarının klinik sonuçlarının arasında bir fark bulunmadığı sonucuna varmıştır (6).

1996 yılında ilk pulse RF uygulamasını gerçekleştiren, ilk sonuçlarını 1998 yılında yayımlayan Sluijter, Slappendel ve ark.'nın (6) iddia ettiği gibi konvansiyonel RF'in düşük voltaj uygulayarak 42°C'de kullanımının etkili olmadığını ortaya koymuştur. Sluijter ve arkadaşları aynı çalışmada RF akımının aralıklı olarak uygulandığı pulse RF tekniğini tanımlamıştır (33). Sluijter ve arkadaşları PRF tekniğinin etkisinin, dokuda meydana gelen elektromanyetik alana bağlı olduğu fikrini ortaya koymuşlardır.

2.2. RF Uygulamaları

2.2.1. Konvansiyonel RF

Konvansiyonel RF uygulamasının temeli, elektrot ucundaki ısı ile hasar oluşturulmasıdır. Konvansiyonel yöntem ile uygulanan radyofrekans akımında, işlem için özel olarak tasarlanmış aygıtın ürettiği yüksek frekanslı elektrik akımı ile oluşan ısı bir elektrot sistemi aracılığı ile ilgili dokuya ulaştırılır (1).

RF jeneratörüne bağlı RF elektrodu perkütan olarak hedeflenen nöronal dokunun yakınına yerleştirilir ve jeneratörden çıkan elektrik akımıyla oluşturulan ısı RF elektrodunun etrafındaki dokulara ulaştırılır. Sonuç olarak ağrı yollarını kesen diğer nörolitik işlemlerde olduğu gibi, hedeflenen dokuda koagulasyon nekrozu meydana gelmektedir (32). Temel amaç hedef dokuda ısıнын 42-50°C'nin üzerinde çıkılarak doku hasarının elde edilmesidir. 42-50°C'nin üzerindeki ısılar 'lethal temperatur range' olarak tanımlanır ve bu ısılara 20 saniye üzerinde maruz kalan dokularda hücre yapısı bozularak kalıcı hasar meydana gelir. Çoğu RF lezyonu iğne ucu ısısı 60-80°C arasında olduğunda meydana gelir (26,34-40). Dokudaki ısı iğne ucundan uzaklaştıkça hızla düşer ve böylelikle belirli bir alanda ısı lezyonu meydana gelir. RF tedavisi, iğne ucunun etrafında sınırları kontrol edilebilen lezyonlar (koagulasyon nekrozu) meydana

getirmesinden dolayı diğer nörolitik ağrı kesme yöntemlerine göre daha yaygın ve güvenli kullanılmaktadır.

Yüksek ısıda uygulanan KRF hedef dokuda meydana getirdiği bu koagülasyon nekrozu periferik sinirin ilgili dermatomda hipoestezi meydana getirerek uzun dönem ağrı kesilmesine neden olmaktadır (26). Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda oluşan lezyonun C ve A-delta lifleri üzerinde seçici bir etkisi olduğunu ileri sürülmüş; ancak daha sonra yapılan çalışmalarda hem ince hem de kalın liflerin eşit derecede etkilendiği gösterilmiştir.

Elektrotlar bölgesel anesteziye kullanılan iğnelerden yapılmıştır. 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 (3,30).

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 (33,41,42,43). Isı artışı, akım yoğunluğunun en fazla olduğu aktif uç çevresinde en belirgindir. Dokudaki ısınma sonucu elektrot ucu da ısınır (6,30). Elektrot ucundan mesafe arttıkça doku ısı hızla düşmektedir (44,45). Bu sebeple RF tekniğinde sınırları iyi kontrol edilebilen lezyonlar meydana getirilmesinden dolayı dokuda geniş hasar meydana getiren kimyasal nörolitik işlemlere göre daha avantajlıdır. Dokuda oluşan lezyon aktif ucun proksimalinde distale göre daha geniştir (34,46). 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;

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

Bu formüller lezyon boyutunun belirlenmesinde etkili olan ısı oluşumunun; voltaj, akım, empedans ve uygulama süresi ile nasıl etkilendiğini açıklamaktadır (48). Lezyon boyutunu belirleyen diğer bir faktör ise ısıнын kaybıdır. Bunu belirleyen ise dokunun ısı iletkenliği ve kan dolaşımı ile ısıнын uzaklaştırılmasıdır. Lezyonun büyüklüğünü ısı, uygulama süresi, elektrodun kalınlığı, aktif ucun tipi ve uzunluğu gibi teknik özelliklerde 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 (19,34,43,49).

Konvansiyonel RF uygulamasına bağlı oluşan ısı lezyonunun tanımlanması amacıyla Moringlane ve ark.'larının (46) 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 süngerimsi 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.'larının (42), 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 (33) bilgisayar modelleri kullanarak yaptıkları çalışmada, yumuşak dokuda standart lezyon (medial dal lezyonu, arka kök gangliyonu lezyonu, sempatik zincir lezyonları) oluştururken, 60 saniyeden uzun süreli uygulama yapmanın anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır.

RF uygulamaları ameliyathane ortamında lokal nestezi ve sedasyon uygulanarak radyolojik görüntüleme eşliğinde yapılır. Girişim çeşidine göre seçilen elektrot, ilgili bölgeye perkütan olarak yerleştirilir ve yeri radyolojik olarak kontrol edildikten sonra radyofrekans jeneratörüne bağlanır. Sinir stimülasyonu ile 50 Hz (sensoryal) ve 2 Hz (motor) frekanslardaki uyarılar ile stimülasyon uygulanır. Motor stimülasyon ile motor sinir liflerinden güvenli uzaklıkta bulunulduğu doğrulanır. Bu monitörizasyon olanakları sayesinde elektrot doku içinde, empedans ölçümü 500 ohm'da sabit durumdayken, sinire teması halinde sinirin uyarılabilmesi için 0,25 V, elektrot sinirden 1 cm uzakta olması halinde ise 2 V akıma gereksinim olduğu saptanmıştır (1). 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 3-20 dakika) akım uygulanır. Uygulamalar sırasında, devrenin bütünlüğünü ve kısa devre oluşumunu kontrol etmek, elektrodun doğru yerleşiminden emin olmak amacıyla elektrot ilettilirken ve sürekli 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.

2.2.2. 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 oluşturmada RF akımı uygulamaya yöneltmiştir.

Doku hasarı oluşturacak boyutta ısı oluşturmada RF akımı uygulama yolları şunlardır:

- Nötr plağın hastaya bağlanmaması.

Bu durumda elektromanyetik alan oluşmasına rağmen ısı artışı gözlenmez; çünkü akım oluşmaz (3,41,50).

- Elektrot ucunun serum fizyolojik ile soğutulması (3).
- 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.

Slappendel ve arkadaşlarının 1997 yılında yaptığı bir çalışmada; 40°C ve 67°C'de uyguladığı KRF uygulamalarının klinik sonuçlarının arasında bir fark bulunmadığı sonucuna varmıştır (6). 1998 yılında yayımlayan Sluijter ve ark.'larının bir çalışmada, Slappendel ve ark.'nın iddia ettiği gibi konvansiyonel RF'in düşük voltaj uygulayarak 42°C'de kullanımının etkili olmadığını ortaya koymuştur (7,33). Sluijter ve arkadaşları yine aynı çalışmada RF akımının daha düşük sıcaklıklarda ve pulse şeklinde aralıklı olarak uygulandığı yeni bir tekniği tanımlamıştır.

Konvasiyonel RF(KRF) tekniğine alternatif olarak, lezyon jeneratöründen çıkan miktar sabit tutulmasına karşı akım kesintiye uğratarak oluşturulan ısının iletimi ve dolayısıyla yayılmasına izin verildiği pulse RF (PRF) tekniği geliştirilmiştir. PRF ile 20 msn'den oluşan 2 aktif siklus oluşturulur. Her siklusa 500 kHz'lik frekans uygulanır. Böylece maximum elektrot ısı nörodestrüktif seviye olan 42°C'nin

üzerine çıkmamış olur. PRF yeni bulunan bir teknik olmasına rağmen; doku hasarı oluşturmada ağrıyı azaltmasından dolayı hızlı bir şekilde kabul görmüştür.

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 (51). Bu nedenle pulse RF uygulamalarında, konvansiyonel RF’in aksine, elektrot sinir dokusuna dik olarak yaklaştırılır (52).

Pulse RF’in uygulanması sırasında konvansiyonel RF’te olduğu gibi ameliyathane koşullarında uygulanır. Elektrot işlem yapılacak bölgeye radyolojik görüntüler ile kontrol altında yerleştirildikten, stimülasyon uygulayarak ve empedans kontrolü yapılarak 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 (30).

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 KRF uygulamalarındakine benzerdir, ancak PRF uygulamalarında konvansiyonel yöntemde sıklıkla gözlenen nörit benzeri reaksiyon gözlenmez. Isı lezyonunu takiben görülen rahatsızlık hissinin iki komponenti olduğu düşünülmektedir. Birincisi hedef sinir dokusunda destrüksiyona bağlı sözü edilen nörit benzeri reaksiyon, ikincisi ise PRF uygulaması sonucunda da görüldüğü için elektromanyetik alan uygulamasına bağlanan rahatsızlıktır.
- ✓ **3. faz, klinik iyileşmenin gözlemlendiği 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 PRF uygulamasının daha kısa süreli iyileşme oluşturduğunu belirtmektedir (30).

- ✓ **4. faz, rekürrens fazı:** Bu dönemde hastanın eski ağrısı yeniden ortaya çıkar.

Yapılan birçok çalışmada, PRF uygulamalarının ağrı tedavisinde KRF'in etkinliği kadar iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir.

2.2.3. Konvansiyonel ve pulse RF uygulamalarının karşılaştırılması

Konvansiyonel RF'de ısı ile doku hasarı oluşturulurken, PRF tekniği klinik olarak gözlemlendiği 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 (örn: ön motor sinir hasarı) meydana gelebilir (51).

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 düşüktür.

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 (örn: disk RF uygulaması) (52).

2.2.4. Periferik sinirlerin yapı ve fonksiyonları

Sinir sistemi; beyin ve medulla spinalisten 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 (53,54).

Periferik sinir sistemi, santral sinir sistemi ile periferik hedef organlar arasında çift yönlü uyarı iletimini sağlayarak duyu, otonomik ve motor fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynar (55).

Embriyolojik olarak periferik sinirler ektoderm tabakasından gelişir. Gestasyonun üçüncü ve dördüncü haftalarında nöral krest hücreleri nöroektodermi oluştururlar ve bu yapı mezoderm içine göç eder. Burada dorsal kök gangliyonlarına, Schwann hücrelerine ve diğer nöroblastik hücrelere dönüşürler. Spinal kord geliştikçe, bazal plaktaki motor nöron aksonları mezodermal tabakadan gelişen kas dokusu içine dağılırlar. Dorsal kök gangliyonlarından da periferik doğru dağılım başlar. Fetal yaşamın yaklaşık dördüncü ayında Schwann hücreleri bu dağılan aksonların miyelinizasyonuna başlarlar. Bazı motor nöronlarda ise bu miyelinizasyon süreci doğum sonrası birinci yıla kadar uzayabilir (56).

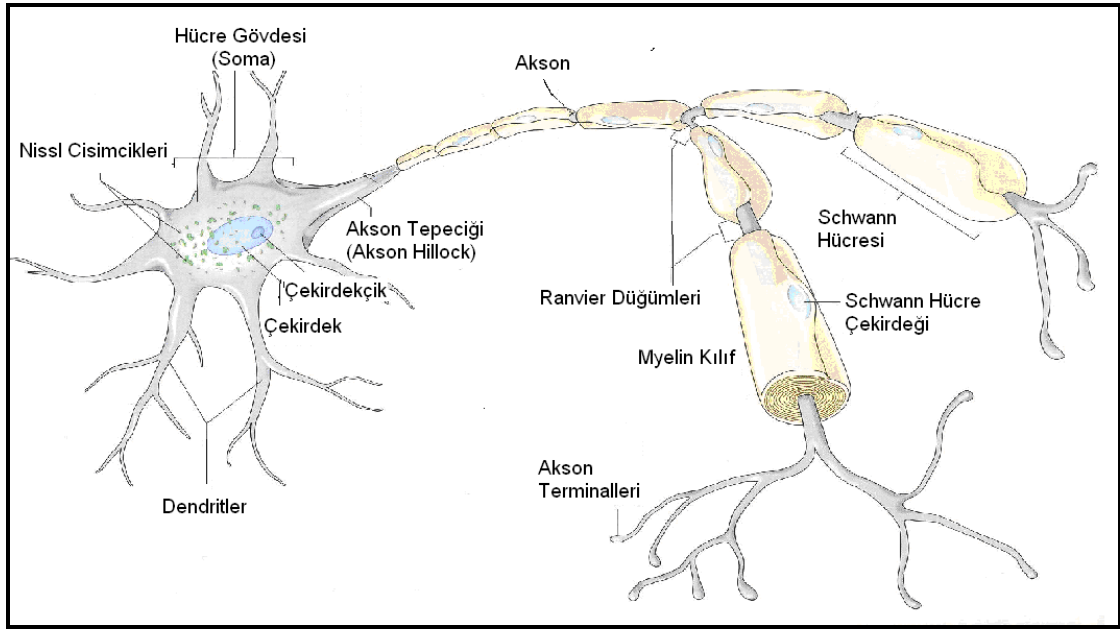
Periferik sinir duyu, motor ve sempatik liflerden oluşur. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri dorsal spinal arka kökler içerisinde yerleşmiştir. Duyu ve motor lifleri içeren periferik sinirler, dorsal ve ventral spinal köklerin birleşmesinden oluşmaktadır. Otonom sinir sistemine ait nöronlar ise, merkezi sinir sistemi içinde ve dışında bulunan nükleus ve ganglionlarda toplanmışlardır (57).

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, miyelinizasyonu sağlayan nöroglia hücreleridir (53,54,58).

Sinir lifleri ektodermal orjinli miyelin denenen özel kılıflarla sarılabilen aksonlardan ibarettir. Aksonlar merkezi sinir sistemi traktuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Miyelin 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 miyelin kılıflı aksonlarda daha hızlıdır (53, 59-65).

Sinir Hücresi

Sinir sisteminin fonksiyonel ünitesi sinir hücresidir (nöron). Her bir sinir hücresi; hücre gövdesi (perikaryon, soma), dendrit ve akson olmak üzere 3 kısımdan oluşur (Şekil 2.1).



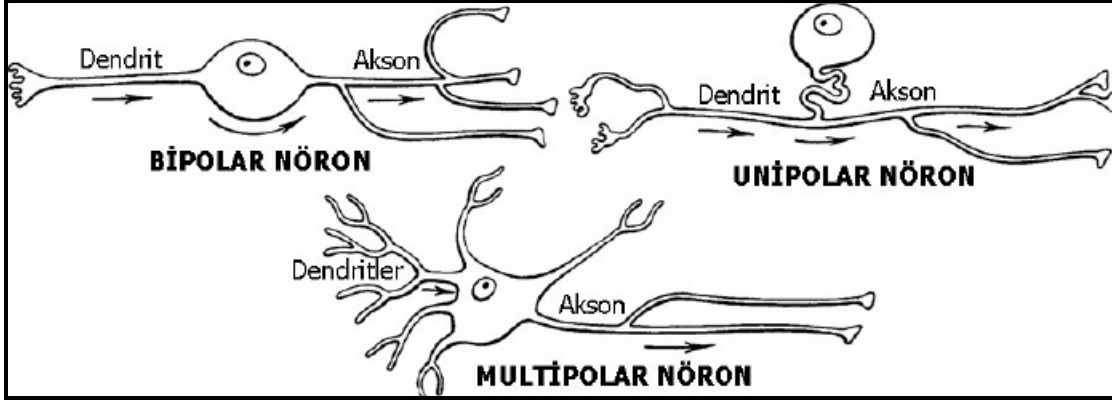
Şekil 2.1. Sinir hücre anatomisi (Shier D, Butler J, Lewis R. Hole's Essentials of human anatomy and physiology. 9th ed. New York: McGraw Hill, 2006: 393'den çevrilerek alınmıştır) (55).

Hücre gövdesinde yerleşik reseptör fonksiyonu gören çok sayıdaki sitoplazmik çıkıntı dendrit olarak adlandırılır. Dendritler, çevreden gelen uyarıları hücre gövdesine iletirler ve nöronlar arasındaki iletişimi sağlarlar. Sinir hücrelerinin perifer ile iletişimini sağlayan uzantı ise aksondur. Sıklıkla her bir sinir hücresinin pek çok dendriti olmasına karşın, tek bir aksonu vardır. Aksonlar, orijinal hücre gövde çapının binlerce katı kadar uzunlukta perifere uzanım gösterebilirler.

Sinir hücresinde metabolik olaylar, hücre gövdesinde gerçekleşir; bu nedenle sinirin fonksiyonunu yapabilmesi için, periferik aksonal uzantılar ile sinir gövdesinin devamlılık göstermesi gerekir. Aksonun gövde ile ilişkisi herhangi bir nedenle kesintiye uğrarsa, aksonda sinir fonksiyonunun devamlılığı için gereken metabolik olaylar gerçekleşemediği için distal kısımları dejenerasyona uğrar (66,67).

Her bir sinir hücresi içerisinde tek bir çekirdek ve birden fazla çekirdekçik bulunur. En belirgin sitoplazmik organeller golgi cisimcikleri ve mitokondrilerdir. Bu organeller nöronal uyarı iletiminde enerji kaynakları olarak görev yaparlar. Bazofilik Nissle cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulum da gövdede mevcuttur ve bu yapılar sinir rejenerasyonu gibi metabolik hızın arttığı durumlarda sayıca artış gösterirler (67,68).

Nöronlar içerdikleri akson ve dendritlerin sayısı, uzunluk ve şekillerine göre unipolar, bipolar ve multipolar olmak üzere 3 gruba ayrılırlar (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Uzantılarına göre nöronların sınıflandırılması (69).

Aksonlar

Hücre gövdesinden huni şeklinde bir genişleme (akson tepeciği, akson hillock) ile çıkan sinir uzantısıdır. Akson boyunca devamlılık gösteren, yüksek fosfolipid içeriği olan ve istirahat potansiyelinin devamlılığını sağlayabilecek özelliklere sahip üç katlı aksolemma adı verilen bir zarla çevrilidir (67).

Hücre sitoplazmasının akson içerisindeki eş değeri aksoplazmadır. Aksoplazmada, çeşitli proteinler, hücre iskeletini oluşturan mikrotübüller ve nörofilamanlar bulunur. Bunlar yapısal bütünlüğün devamının sağlanmasında ve aksonal iletimde önem taşırlar. Nörofilamentler ile mikrotübülleri içeren hücre iskeleti akson boyunca uzanır. Bu oluşum, akson yapısal bütünlüğünün korunmasında etkilidir ve akson boyunca iletide faydalıdır (70). Aksonlar, miyelinli ya da miyelinsiz olabilirler (57).

Aksoplazma içerisinde mitokondri, düz endoplazmik retikulum, lizozom ve veziküller gibi organellerin bulunmasına karşın, protein sentezi yapabilen golgi cisimcikleri ya da granüllü endoplazmik retikulumlar yoktur. Bu nedenle canlılıklarını koruyabilmek için hücre gövdesi ile devamlılıklarının korunması gerekir (67). Hücre gövdesinde ve dendritlerde bulunan Nissle cisimcikleri aksonlarda bulunmaz.

Sinirin akson terminalinde, başka bir sinir hücresi, kas ya da salgı bezi ile yaptığı bağlantıya sinaps adı verilir. Sinaps ile sinir üzerinde ilerleyen uyarı hedef organa iletilmiş olur (57).

Miyelin

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 (60,63,65,71).

Miyelinli Aksonlar

Miyelin oluşmasında ilk aşama aksonun Schwann hücresine penetrasyonu başlar. Bu penetrasyonda karşılıklı gelen Schwann hücre membranı, mezaksonu oluşturmak üzere bir araya gelir ve böylece iki kenarın plazma membranları birleşir. Mezakson akson çevresinde birkaç kez dolanır, dolanım sayısı miyelin kılıfın kalınlığını belirler. Her akson Schwann hücreleriyle çevrilidir (60,63,72-75). Miyelin kılıfın kesintiye uğradığı yerlere Ranvier boğumu adı verilir (76). 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 miyelinin kalınlığı değişir. Ancak miyelin kalınlığı bir akson boyunca sabittir. Işık mikroskopunda görülebilen Schmidt-Lanterman yarıkları miyelin kılıftaki koni şekilli, dıştan içe doğru uzanan, heliks şeklinde sitoplazmik tünellerdir (63,77-79).

Miyelin periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından yapılırken, merkezi sinir sisteminde myelin kılıf oligodendrositlerin uzantılarıyla oluşturulur. Bunlar Schwann hücrelerinden farklıdır. Bir hücrenin farklı dalları birkaç aksonun segmentini çevrelerler. Merkezi sinir sisteminde Ranvier Boğumları görülmeyebilir ve Schmidt-Lanterman yarıkları yoktur (60,63,72-75,77,80).

Miyelin yapısı diğer hücre zarlarına benzemesine karşın içeriği farklıdır. Biyokimyasal olarak %75 lipid ve %25 proteinden meydana gelir. Miyelin tabaka

içerisinde bulunan lipidlerin %20 ila %30'unu oluşturan kolesterol, multilamellar yapının stabilizasyonunu sağlamaktadır. Miyelin içeriğindeki diğer lipidler, glikolipid yapısında olan galaktoserebrozid, sülfatid ve gangliosiddir. Myelin kılıfının %25'ini oluşturan proteinler ise glikoprotein yapısında olup; bunların başlıcaları protein zero (Po), periferik myelin protein 22 kDa (PMP 22), myelin ilişkili glikoprotein (MAG), epiteliyal kadherin ve periaksindir (81).

Miyelinsiz Aksonlar

Merkezi ve periferik sinir sisteminin her ikisinde de aksonların tümü miyelin ile örtülmemiştir. Periferik sinir sisteminde tüm miyelinsiz aksonlar Schwann hücrelerinin basit örtüsüyle çevrenmiştir (63,64,76,82,83). Miyelinsiz sinir liflerinde Ranvier boğumu yoktur (59,63,78,83). Bitişik Schwann hücreleri, sürekli bir kılıf oluşturmak için longitudinal olarak birleşirler. Özellikle merkezi sinir sistemi, miyelinsiz aksondan zengindir (63,76,83).

Schwann Hücreleri

Schwann hücreleri nöral krestten kaynaklanırlar. Fetal yaşamın 4. ayının başında, birçok sinir lifi miyelin birikimine bağlı olarak beyazımsı bir görünüme bürünmeye başlar (84).

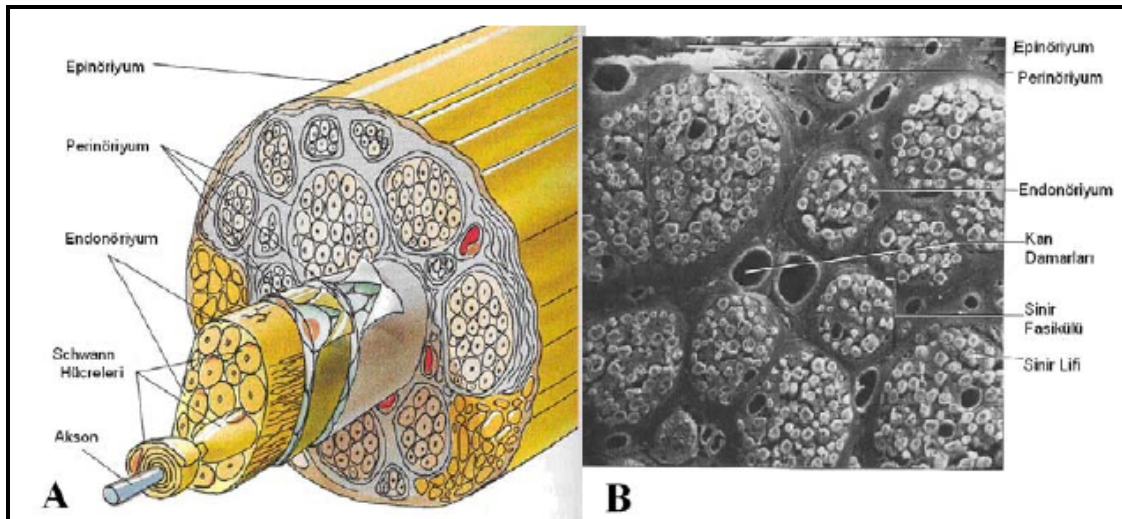
Üçgen görünümlü, oval nükleus içeren hücrelerdir. Dokuzuncu güne kadar Schwann hücreleri uzunca görünüşlü olup, kendine ait aksonlarla birlikte tanımlanırlar. Miyelinizasyon döneminde sitoplazmasında granüllü endoplazmik retikulum, poliribozomlar, iyi gelişmiş golgi kompleksi, hücre iskeletinin elemanter yapılarını içerirler. Miyelinizasyon dönemindeki sitoplazmik uzantıları, spiralleşme göstererek artan sayıda aksonun etrafını kuşatırlar. Bu sitoplazmanın kalıntıları sadece Schmidt-Lantermann ve paranodal bölgede miyelinizasyonu oluşturmaktadır (76,85-89).

Schwann hücreleri tarafından üretilen ve temel olarak ekstraselüler matriks proteinlerinden (kollajen tip IV ve laminin) oluşan bir bazal membran sinir lifini çevrelemektedir ve bunun laminar yapının rejenerasyonu için önemi büyüktür ve yeni büyümekte olan aksonal tomurcukların distal sinir güdüğüne uzanımları sırasında rehberlik görevi görür (67,71).

Schwann hücreleri, akson etrafında yer alan, iyon dengesinin sağlanmasına, nörotransmitterlerin dağılımına ve aksolemma boyunca sodyum kanallarının yerleşimine katkıda bulunan hücrelerdir. Nöroektodermal kökenli bu hücreler, periferik sinir sisteminin uydu hücreleridir ve akson çevresinde konsantrik karakterde fosfolipid bir tabaka olan miyelin kılıfını sentezlerler. Miyelinli ya da miyelinsiz olsun, her sinir lifinde aksonlar ucuca dizilmiş Schwann hücreleri ile sarılmışlardır (67).

Periferik Sinir Anatomik Katmanları

Periferik sinirler birbirinden bağımsız 3 farklı destek doku ile çevrelenmiştir. Sinirin enine kesitinde en dışta, sinirin bütünü örtün epinöryum tabakası, bunun altında perinöryum en içte ise endonöryum bulunur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. A: Sinir kılıfları şematik çizim (Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2001: 204'ten çevrilerek alınmıştır.) (90) **B:** Sinir kılıfları elektron mikroskop görüntüsü (Shier D, Butler J, Lewis R. Hole's Essentials of human anatomy and physiology. 9th ed. New York: McGraw Hill, 2006: 393'ten çevrilerek alınmıştır) (55).

Epinöryum

Gevşek kollajen bağ dokusundan oluşur. Epinöryum tip 1 ve tip 3 kollajen liflerden, elastik liflerden, fibroblastlardan ve değişen oranlarda yağ dokudan meydana gelir. Dış epinöryum fasikülleri grup halinde saran en dış kılıftır. Buradan grup fasiküllerin arasına giren ve fasikülleri içeriden saran uzantıları iç epinöryumu (interfasiküler epinöryum) oluşturur. Periferik sinirden kesit alındığında, sinir fasikülü, epinöryum oranı sinirden sinire, kişiden kişiye ve aynı sinirde geçtiği

anatomik yerlere göre değişiklik gösterir (%25-75) (63). Esas görevi fasikülleri ekstremite hareketi esnasında travmalara karşı korumaktır. Bu nedenle eklem ve kemik çıkıntılar yakınından geçen daha yüzeyel sinir bölümlerinde daha kalındır (66,91,92).

Perinöryum

Perinöryum, herbir sinir fasikülünü saran kılıftır. Zar yapısı ortalama on tabaka halinde katmanlanmış, düzleşmiş hücrelerden oluşmuştur. Kan-beyin bariyerinin devamı gibi işlev görür. Difüzyonu düzenler ve infrafasiküler basıncın oluşumunda etkilidir (93). Enfeksiyonun endonöryuma geçişine bariyer etkisi yapar (94). Perinöryumun çıkartılması sinir iletimini engeller. Ancak epinöryumu çıkartmanın sinir iletimine akut etkisi yoktur.

Endonöryum

Endonöryum, aksonları paketleyen ve perinöryum içinde tutan kollajen doku görevi görür. Endonöryum, mukopolisakkarit ana madde içerisinde yer alan kollajen ve retiküler liflerden, fibroblast, makrofaj, mast hücreleri gibi hücrelerden ve kapiller sistemden oluşan bir bağ dokudur. Elastin içermez. Schwann hücre tüpünün (Schwann hücresi ve miyelinli aksondan oluşan silindirik yapı) oluşumuna katılır (67,92,94,95).

2.2.5. Sinir liflerinin histofizyolojisi

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 (53).

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 (53,96).

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 (53).

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 (53).

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 (53,97).

2.2.6. Sinir lif tipleri ve işlevleri

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 2.1). A lifleri en hızlı iletilen en kalın miyelinli liflerdir. Ağrı; A- δ ve C lifleriyle iletilir. A- δ lifleri, ağrının yanı sıra 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 (53,80,98,99). 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 anestezi maddelere duyarlılıkları bakımından da farklılık gösterirler. Lokal anestezi 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 (59).

Tablo 2.1. 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

¹: A ve B lifleri miyelinlidir; C lifleri miyelinsizdir.

2.2.7. Periferik sinir sisteminin 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:

- Wallerian dejenerasyon,
- Aksonal dejenerasyon,
- Segmental dejenerasyon.

Wallerian dejenerasyon

Wallerian dejenerasyonun moleküler özellikleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (64,66). Wallerian dejenerasyon işlemi kabaca kesik aksonun distal güdüğünün temizlenmesi ve sonrasındaki proksimal güdük rejenerasyonu için zemin hazırlanmasıdır (66).

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 elektriklerle 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, nöromusküler 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 1 mm'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).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı tarafından yürütülerek, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı.

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında 64 adet Wistar Albino cinsi rat çalışmaya alındı. Çalışmada ratlara genel anestezi için ketamin hydrochlorid 0,15 mg/kg (Ketalar, Pfizer, İstanbul) +%2'lik Xylazin hydrochlorid 0,02 mg/kg (Rompun, Bayer, Leverkusen, Germany) intraperitoneal kullanıldı. Genel anestezi uygulamasının ardından, cerrahi girişim amacı ile ratlar tespit tahtalarına pron pozisyonunda yerleştirilip abdominal ve sağ gluteal bölgelerinde cilt açığa çıkarılacak şekilde traş edildi. Gluteal bölge önce povidon iyodin ile sterilize edildikten sonra traşlanıp tekrar PVD iyodin ile cilt silinerek sterilizasyon sağlandı. Uygulama sahasına pron pozisyonunda yatırılan sıçanların, abdominal bölgesine çalışmada kullanılan radiofrekans aygıtının 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 RF elektrotu sinire hasar vermeyecek şekilde yerleştirildi. Daha sonra iğne RF cihazına bağlandı. Empedans değerinin 300-700 ohm olduğu görüldükten sonra 2 Hz frekansta elektrik stimülasyonu verilerek motor hareket gözlemlendi.

Ratlar 6 gruba ayrıldı;

- 1. grup kontrol grubu (n:3) olarak siyatik sinirleri disseke edildi; fakat herhangi bir ek işlem yapılmadı.
- 2. grup sham grubu (n:5) siyatik sinirlere RF elektrodu konuldu, başka bir işlem yapılmadı.
- 3. gruptaki (n:14) ratların siyatik sinirine RF elektrodu konuldu ve 120 saniye boyunca 42°C'de RF akımı uygulandı.
 - A) 120 saniye PRF uygulandıktan hemen sonra siniri diseke edilen grup (n:7)
 - B) 120 saniye PRF uygulandıktan 48 saat sonra siniri diseke edilen grup (n:7)

- 4. gruptaki ratların (n:14) siyatik sinirine RF eletrodu yerleştirildi ve 6 dakika boyunca 42°C’de RF akımı uygulandı.
A) 6 dakika PRF uygulandıktan hemen sonra siniri diseke edilen grup (n:7)
B) 6 dakika PRF uygulandıktan 48 saat sonra siniri diseke edilen grup (n:7)
- 5. gruptaki (n:14) ratların siyatik sinirine RF elektrodu yerleştirildi ve 9 dakika boyunca 42°C’de RF akımı uygulandı.
A) 9 dakika PRF uygulandıktan hemen sonra siniri diseke edilen grup (n:7)
B) 9 dakika PRF uygulandıktan 48 saat sonra siniri diseke edilen grup (n:7)
- 6. gruptaki (n:14) ratların siyatik sinirine RF elektrodu yerleştirildi ve 12 dakika boyunca 42°C’de RF akımı uygulandı.
A) 12 dakika PRF uygulandıktan hemen sonra siniri diseke edilen grup (n:7)
B) 12 dakika PRF uygulandıktan 48 saat sonra siniri diseke edilen grup (n:7)

3., 4., 5. ve 6. gruptaki ratların yarısından (n:7) deneyden hemen sonra, diğer yarısından da (n:7) deneyden 2 gün sonra siyatik sinirlerinden örnekler alındı.

İşlemden hemen sinir örnekleme yapılacak deneklerde sinirin uygulama yapılan bölgesinden alınan yaklaşık 1 cm uzunluğundaki sinir parçası diseke edilerek çıkarıldı. Alınan örnekler uygun fiksatiflerde tutularak hem ışık, hem de elektron mikroskobu (EM) takibine yönlendirildi.

2 gün yaşatılan ratlarda; 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. 2 gün sonra genel anestezisi için ketamin hydrochlorid 0,15 mg/kg +%2’lik Xylazin hydrochlorid 0,02 mg/kg intraperitoneal kullanıldı. Genel anestezi uygulamasının ardından cerrahi prosedür aynı şekilde kullanılarak 1 cm uzunluğundaki sinir parçası diseke edilerek çıkarıldı. Heparinize %0,9’luk serum fizyolojik ile (100 ml) vasküler yıkama uygulandı. Vasküler yıkamayı takiben, parafin takibi için aynı yolla %10’luk formaldehid solüsyonuyla; elektron mikroskop takibi için 0,1 M Sorensen’in fosfat tamponunda hazırlanmış Somogi’nin pikrik asitli paraformaldehid-gluteraldehid solüsyonuyla (100 ml) perfüzyon fiksasyonu uygulandı.

Işık Mikroskopi İçin Doku Takibi ve Kesit Alma

Ratlardan alınan siyatik sinir örnekleri %10'luk formalin solüsyonu içerisinde 24 saat fikse edildi. Fiksasyondan sonra dokular 2 saat akan çeşme suyunda yıkandı. Ardından dokular sırasıyla %70, %80, %90'luk etil alkolde 24'er saat ve %100'lük etil alkolde 3 saat tutularak dokulardan suyun uzaklaştırılması sağlandı. Ksilol içinde 3 defa 2'er dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. 56°C'ye ayarlı etüvde örnekler parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü.

Hazırlanan parafin bloklardan rotary mikrotomla 5µm kalınlığında kesitler alınarak lam üzerine yerleştirildi. Kesitler 2 defa 10'ar dakika ara ile ksilolde bekletilerek parafinden kurtarıldı. Daha sonra derecesi azalan alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70) 5'er dakika tutularak suya indirildi ve son olarak distile suya alındı. Daha sonra Hematoksilen boyasında 50 saniye hücre nükleuslarının boyanması için beklendi. Ardından lamlar çeşme suyunda yıkanarak boyanın fazlası uzaklaştırılırken Hematoksilenin morarması sağlandı. Çekirdek boyamasından sonra, sitoplazmanın boyanması için lamlar Eosin boyasında 30 saniye bekletildi. Boyanın fazlasını uzaklaştırmak için çeşme suyunda yıkamayı takiben yükselen alkol serilerinden geçirilerek kesitler sudan kurtarıldı. Ksilolden geçirildi ve entellan ile kapatılıp kalıcı preperat haline getirildi. Preperatlar Zeiss Axioplan ışık mikroskobunda incelenerek fotoğraflandırıldı.

Elektron Mikroskop İncelemeleri İçin Doku Takibi

TEM (geçirimli elektron mikroskop) takibi yapılmak üzere perfizyon sonrası ratlardan alınan siyatik sinirlerin bir parçası canlıdaki durumuna en yakın şekilde korunmak amacıyla %4'lük gluteraldehid ile +4°C'de 2 saat fikse edildi. Dokular fiksasyon solüsyonuna alındıktan yaklaşık 1 saat sonra 1mm³ hacminde parçalara ayrıldı. Ardından dokular 0,1 M Sörensen Fosfat Tamponu (SFT) ile 3 kez 10'ar dakika yıkanarak fiksatifin dokudan uzaklaştırılması sağlandı. Dokular 0,1 M Sörensen Fosfat Tamponunda hazırlanmış %1'lik ozmiyum tetroksit (OsO₄) solusyonunda ikinci kez fiske edildi. Tekrar SFT ile yıkandı ve +4°C'de sırasıyla %30, %50, %70, %80, %90, %96 ve %100'lük etil alkol serilerinden 3X10 dakika geçirilerek dehidrate edildi. Dehidratasyondan sonra, propilen oksitte 2X10 dakika tutularak, ardından oda ısısında en az 4 saat rotatorda araldit-propilen oksit

karışımında (1:1) döndürüldü. Daha sonra siyatik sinir örnekleri gömme materyali içinde (Araldit/DDSA karışımı) oda ısısında rotatorda gece boyu döndürülerek karışımın dokuya penetrasyonu sağlandı. Ertesi gün küçük kapsüller içinde Araldit/DDSA karışımına gömülerek, polimerizasyon için 60°C'ye ayarlı etüvde 48 saat bırakıldı. Elde edilen plastik bloklardan ultramikrotomda yarı ince kesitler alınıp toluidin mavisi ile boyandı. Belirlenen uygun alanlardan 30-70nm'lik ultra ince kesitler bakır gridler üzerine alınarak uranil asetat-kurşun sitrat ile kontrastlama yapıldıktan sonra, kesitler Leo 906E TEM ile incelenip elektronmikrograflar elde edildi.

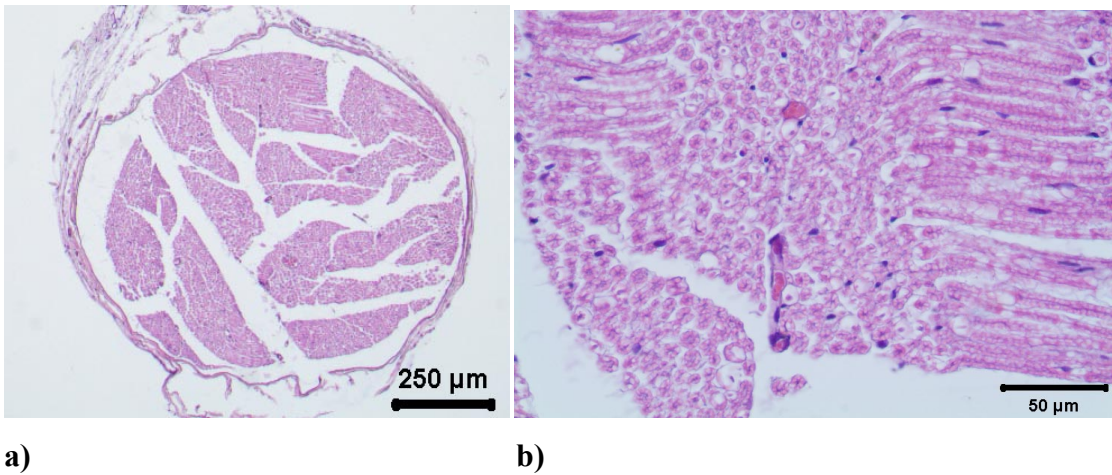
4. BULGULAR

Tüm deneklerin, deney öncesi yapılan fizik muayenelerinde motor ve duysal fonksiyonların doğal olduğu tespit edildi.

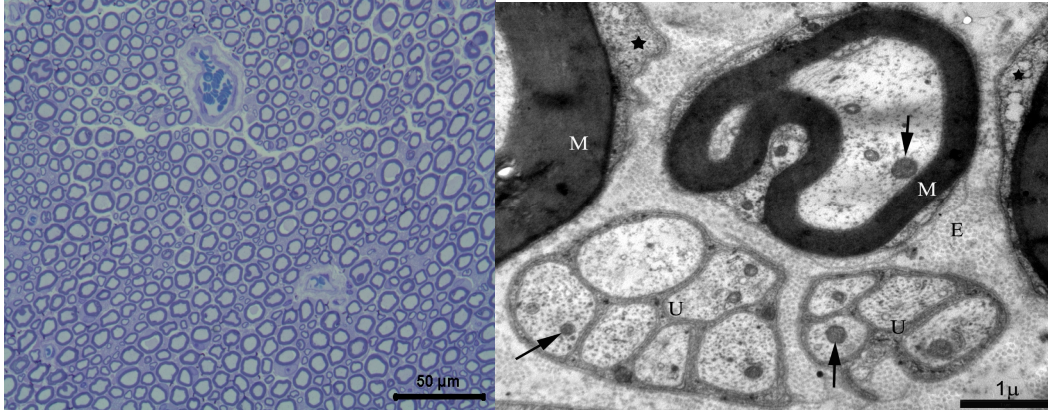
PRF uygulaması yapıldıktan 48 saat sonra sinir örnekleri alınan ratlardan 2 dakika PRF yapılan grupta motor defisit veya paralizi gelişmedi. 6 dakika PRF uygulaması yapılan grupta 4 ratta, 9 dakika PRF uygulanan grupta 5 ratta ve 12 dakika PRF uygulanan grupta 5 ratta düşük ayak meydana geldi.

Histolojik Bulgular

I. Grup; Kontrol Grubu: Herhangi bir işlem uygulanmamış ratlardan diseke edilen siyatik sinirlerin parafin kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde, sinir liflerinin normal görünümüne sahip olduğu, sadece epinöryum ve perinöyumda açılmalar olduğu izlendi. Bu açılmaların preperasyona bağlı artefaktlar olduğu belirlendi. Sinir lifleri ve miyelin kılıfları normal görünümdeydi (Şekil 4.1 a,b). Kontrol grubu siyatik sinir örneklerinin elektron mikroskopik incelemeleri, Shwann hücre membranları, sitoplazma ve sitoplazmik organeller normal görünümdeydi. Miyelinli ve miyelinsiz liflere ait aksoplazmalarda nörotübül ve nöroflaman yapıları, düz endoplazmik retikulum (SER) vezikülleri ve mitokondriler tipik olarak izlenmekteydi. Lifler arasını endonöryuma ait kollejen lifler doldurmuştu (Şekil 4.2 a,b).



Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait siyatik sinirden alınmış ışık mikroskopik mikrograf. **a)** Düşük büyütme de sinirin bağdokusu kılıflarında preperasyona bağlı ayrılmalar izlenmekte. **b)** Yüksek büyütmede siniri oluşturan liflerin görünümü. (HE)

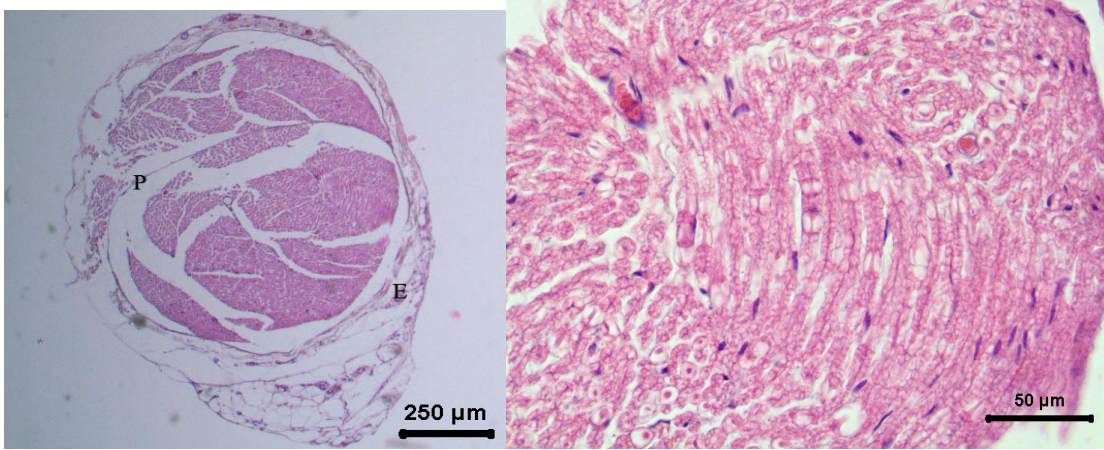


a)

b)

Şekil 4.2. a) Kontrol grubuna ait siyatik sinirden alınmış yarı ince plastik kesitin toluidin mavisi preperatı. b) Aynı alandan alınmış elektron mikrografta miyelinli lifler (M), miyelinsiz (unmyelinated) lifler (U) ve aksoplazma içerisinde mitokondriyonlar (oklar) izlenmekte. Lifleri çevreleyen Schwann hücrelerini (*) kollajen liflerle doldurulmuş endonöryum (E) çevrelemekte.

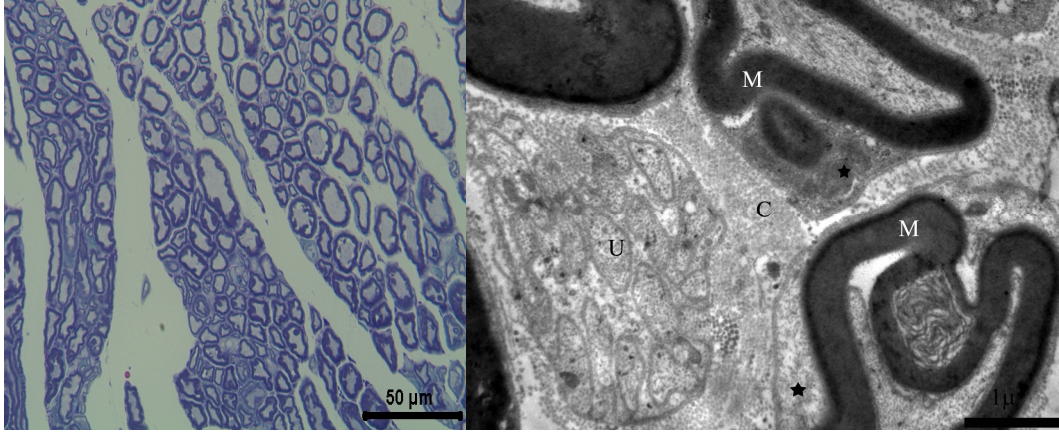
2. Grup; Sham Grubu: Sham grubunda yapılan ışık mikroskopik (Şekil 4.3 a,b.) ve elektronmikroskopik (Şekil 4.4. a,b) incelemelerde siyatik sinir örneklerinin kontrollerle benzer özellikler gösterdiği belirlendi.



a)

b)

Şekil 4.3. Sham grubuna ait örneklerin ışık mikrografları. a) Düşük büyütmede epinöryum (E) ve perinöryum (P) izleniyor. b) Aynı örneğin yüksek büyütmede ışık mikrografı.

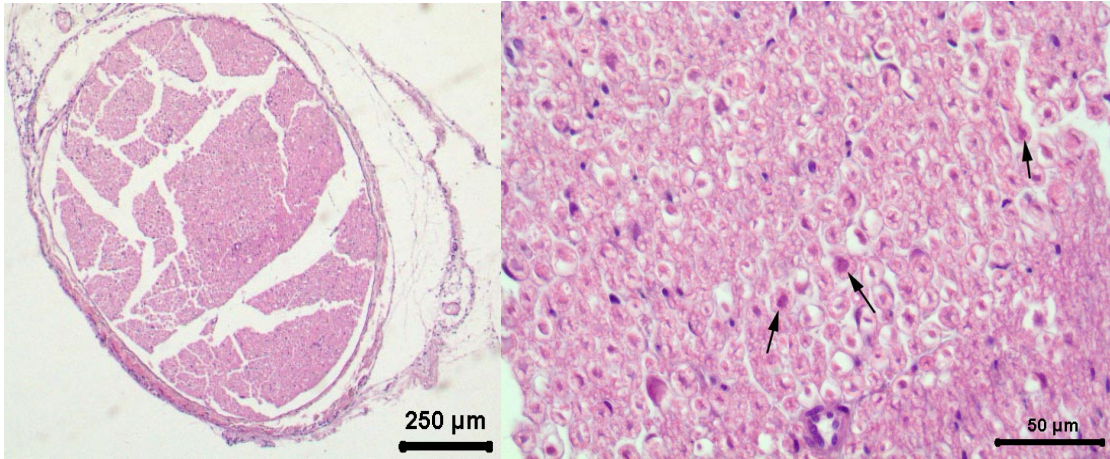


a)

b)

Şekil 4.4. a) Sham grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesiti. b) Aynı bölgeden alınan elektronmikrografta Schwann hücrelerince (*) çevrelenmiş miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler ve bunları çevreleyen endonoryal kollajen lifler (C) izlenmekte.

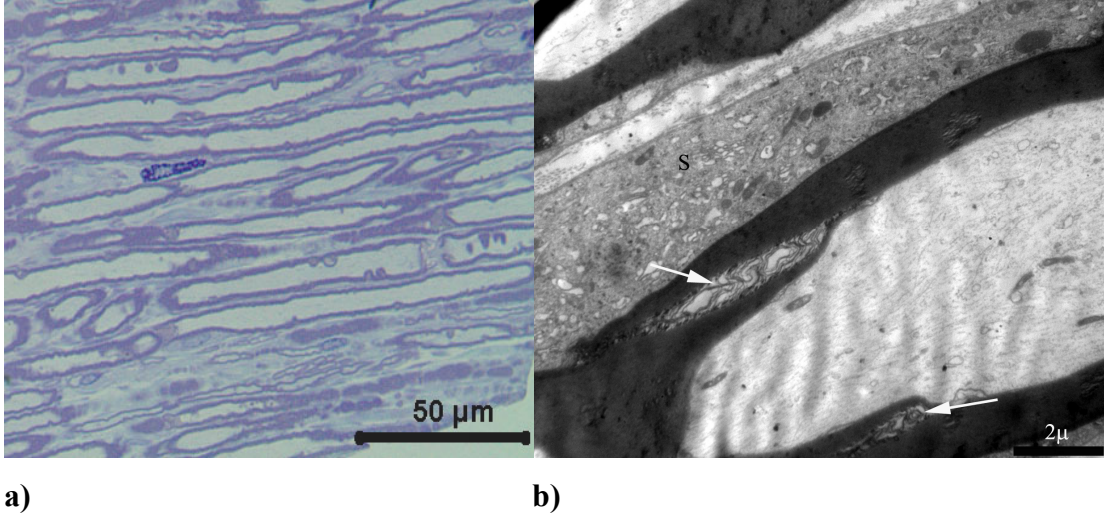
III. Grup. A: 2 dakika PRF uygulaması: Bu grupta sinir morfolojisi genellikle kontrollere benzer şekilde izlenmekle birlikte bir örnekte bazı miyelinli liflerin aksonlarında deformatif özellikler izlendi. Aksoplazma yoğun eosinofilik birikim sergilemekteydi. Ancak bu örnekleri elektron mikrokraflarda izlenemedi. Bu grupta herhangi bir kanama veya lökosit infiltrasyonu izlenmedi (Şekil 4.5)



a)

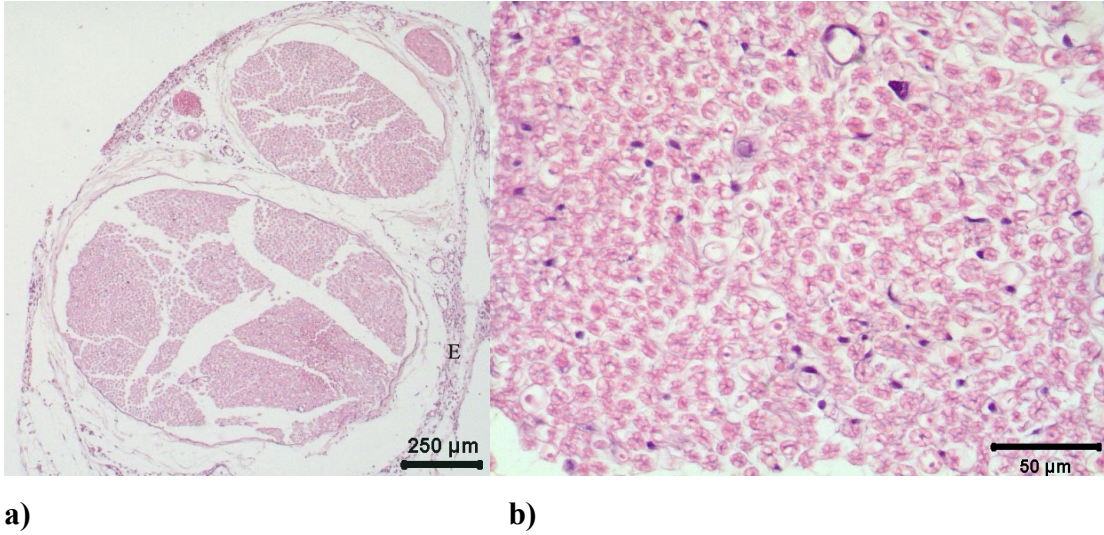
b)

Şekil 4.5. 2 dakika PRF uygulanmış siyatik sinire ait düşük büyütme (a) ve yüksek büyütme (b) ışık mikroskop mikrokrafları. Bazı miyelinli liflerde akson deformatyonları (oklar) izlenmekte.

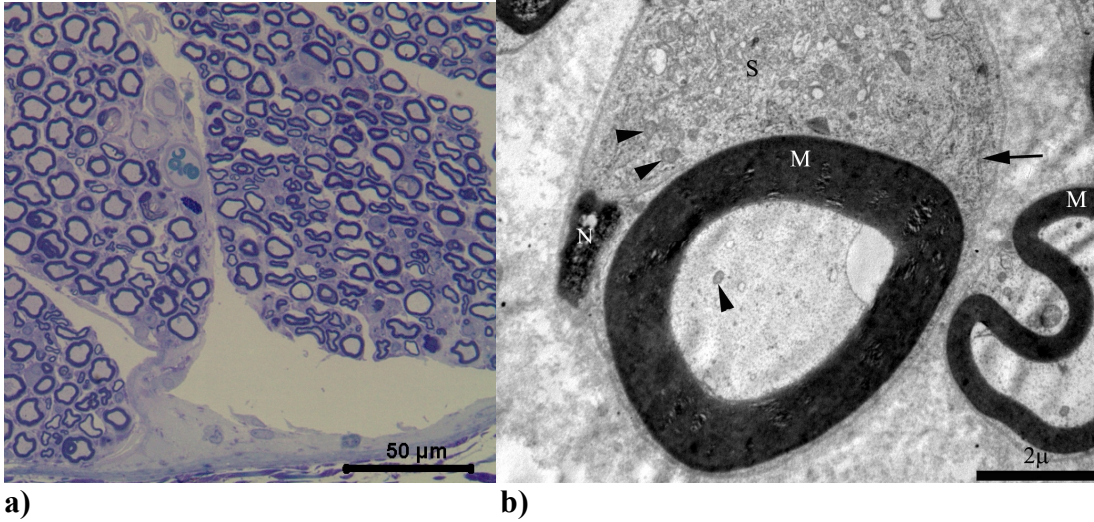


Şekil 4.6. 2 dakika PRF uygulanmış siyatik sinir plastik kesidi (a) ve elektron mikrografi (b). Elektronmikrografta Schwann hücresi (S), miyelin kılıf ve Schmitz Lanterman yarığı (oklar) normal yapıyı göstermekte.

III. Grup B: 2 dakika RF uygulaması, 48 saat sonra siyatik sinir diseksiyonu: Bu gruba ait siyatik sinirler hem ışık mikroskopi düzeyinde (Şekil 4.7), hem de elektron mikroskopi düzeyinde (Şekil 4.8) kontrollerle aynı morfolojiyi sergiledi. Schwann hücreleri, miyelin kılıf yapısı, aksoplazmik nörotübül ve nörofilamanlar, mitokondriyonlar kontrollerle benzer özellikte, normal yapıdaydı.

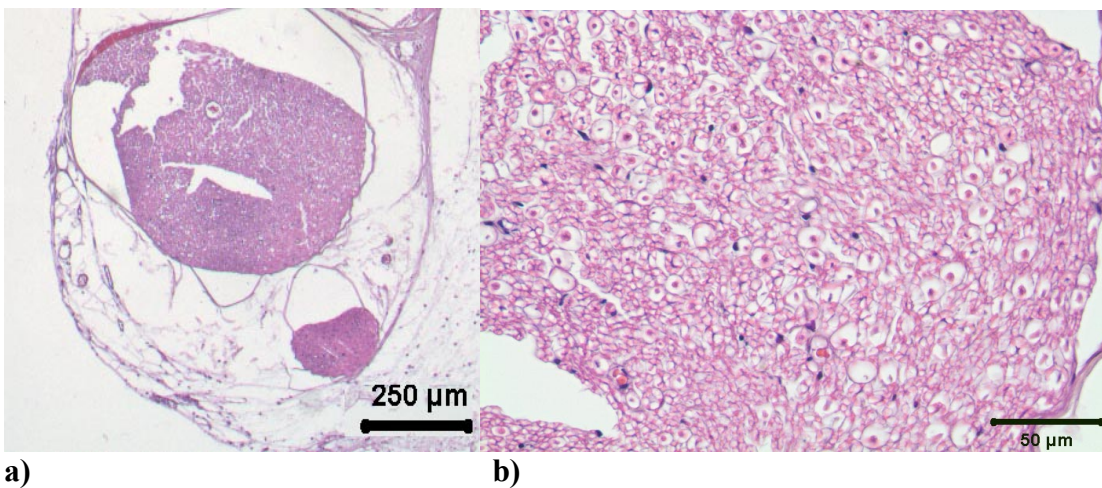


Şekil 4.7. 2 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra alınan siyatik sinir örneklerinden alınan ışık mikrograflar kontrollerle benzer özellik göstermekte. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme. (E) epinöryum.

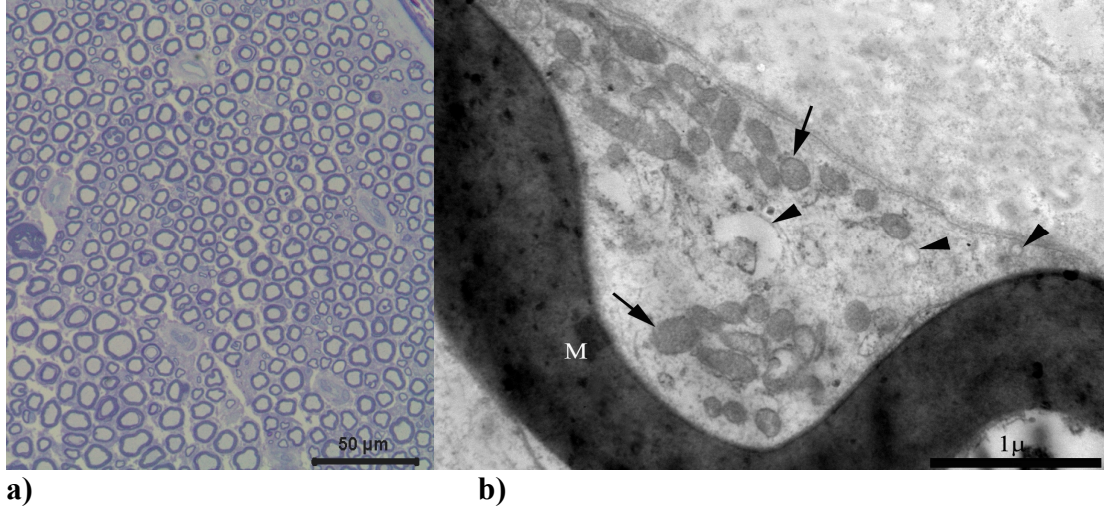


Şekil 4.8. 2 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra siyatik sinir diseksiyonu uygulanan grupta (a) plastik yarı ince kesit ışık mikrografi ve (b) elektron mikrograf görüntüleri. Elektron mikrografa miyelin kılıf, Schwann hücresi (S) sitoplazması normal görünüm sergilemekte. Hem aksoplazmik, hem de Schwann hücresi mitokondriyonları (Ok başları) normal görünümde. Schwann hücresi sitoplazması gelişmiş granüllü endoplazma retikulum sarnıçları içermekte (ok). (N) Schwann hücresi nukleusu.

IV. Grup A: 6 dakika RF uygulaması: 6 dakika PRF uygulaması hem ışık mikroskopi düzeyinde hem de ultrastrüktürel düzeyde periferik sinir morfolojisinde herhangi bir değişikliğe neden olmadı. Sinir çevreleyen epinoryum ve sinir lifleri arasında yer alan vasa nervorumlar yapılarını korumuş herhangi bir ödem ve kanama izine rastlanmadı. Miyelinli ve miyelinsiz aksonlar normal strüktür gösterdi (Şekil 4.9.).

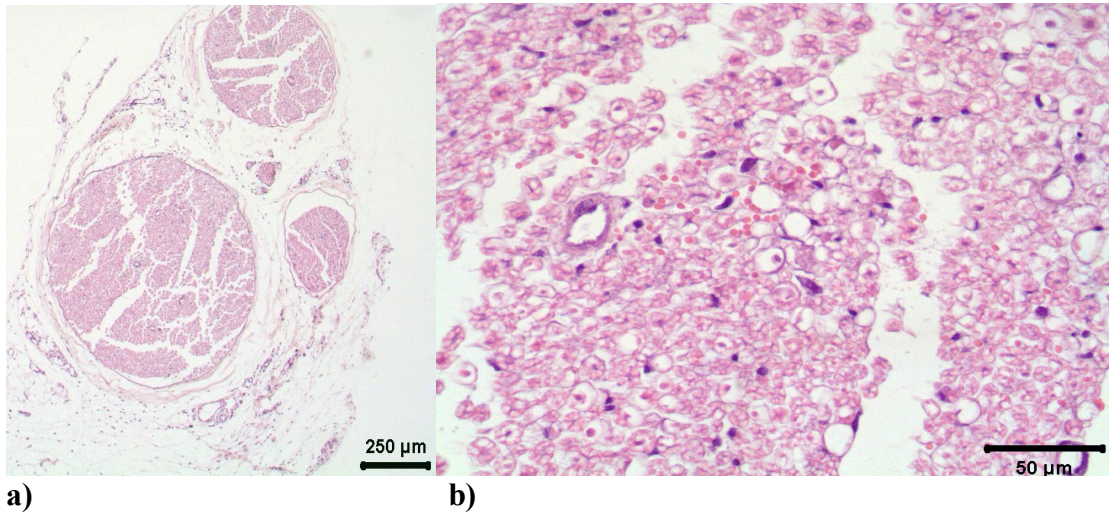


Şekil 4.9. 6 dakika PRF uygulanmış siyatik sinire ait düşük büyütme (a) ve yüksek büyütmede alınmış (b) ışık mikroskop mikrografları. Siyatik siniri oluşturan yapılar kontrol grubuyla benzer görünüm sergilemekte.

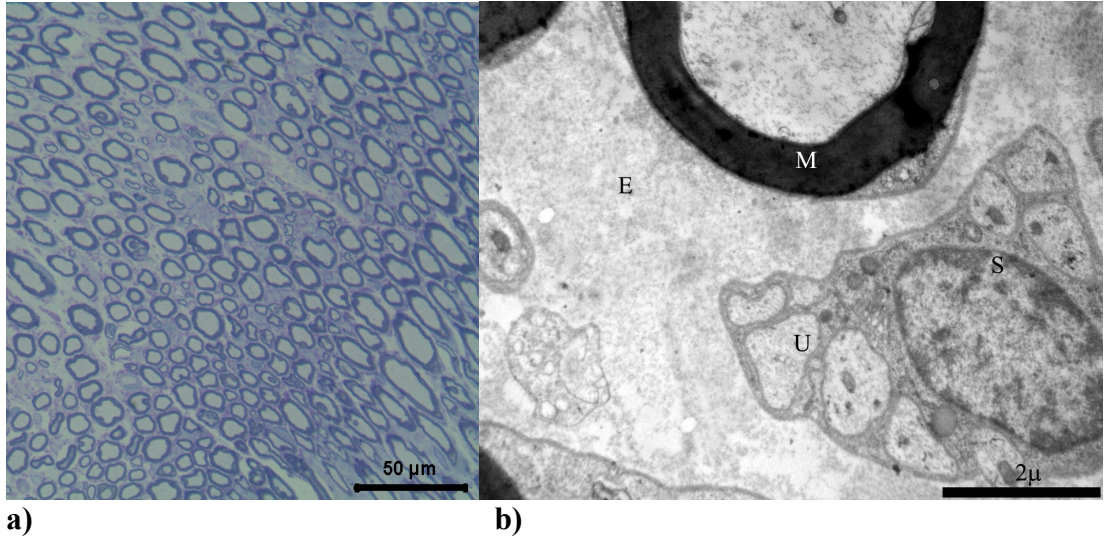


Şekil 4.10. 6 dakika PRF uygulanmış siyatik sinir plastik kesidi (a) ve elektron mikrografı (b). Elektronmikrografta miyelin kılıfı (M) saran Schwann hücresi sitoplazmasında mitokondriyonlar (oklar) ve farklı boyutlarda SER vezikülleri (ok başları) izlenmekte. Schwann hücresi membranı ve bazal laminası bütünlüğü açık olarak izlenmekte.

IV. Grup B: 6 dakika RF uygulaması, 48 saat sonra siyatik sinir diseksiyonu: 6 dakika PRF uygulanmasından 48 saat sonra yapılan sinir diseksiyon örnekleri, RF uygulamasını takiben alınan örneklerle benzer özellikler gösterdi. Işık ve elektron mikroskopik incelemeler altı dakikalık RF uygulamanın 48 saat sonrasında siyatik sinir yapısında sekonder olarak gelişen herhangi bir deformasyona neden olmadığı görüldü (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).

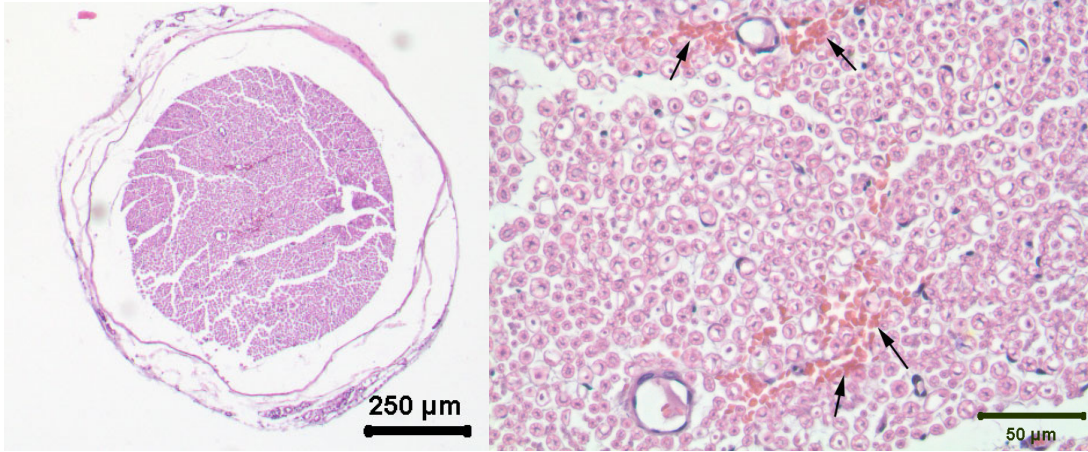


Şekil 4.11. 6 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra alınan siyatik sinir örneklerinden alınan ışık mikrogramları kontrollerle benzer özellik göstermekte. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme. (E) epinöryum



Şekil 4.12. 6 dakika PRF uygulanmış deneklerin 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinir plastik kesidi (a) ve elektron mikrografi (b). Elektron mikrografta miyelinli lif (M), miyelinsiz lifler (U) ve bunları izole eden Schwann hücresi (S), endonöryum (E) izlenmekte.

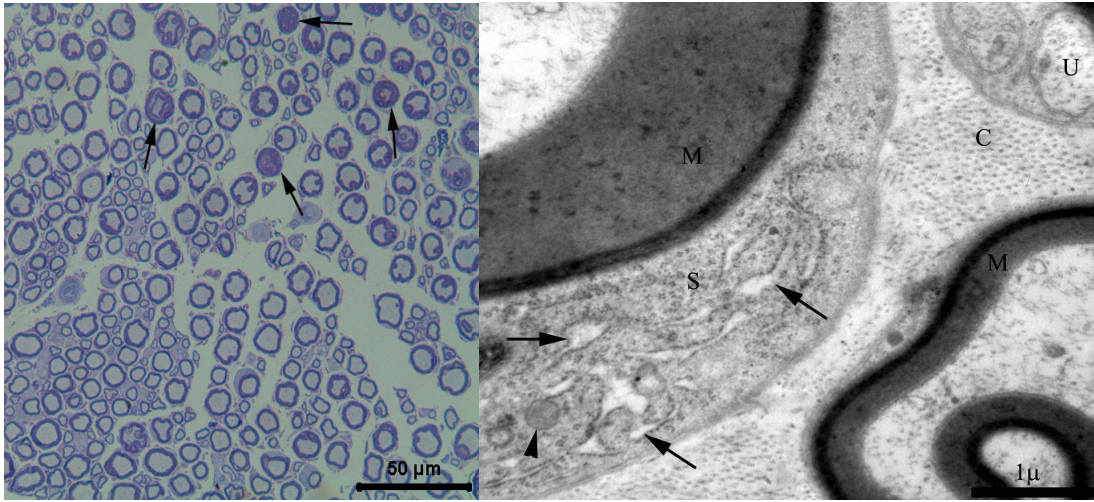
V. Grup A: 9 dakika RF uygulaması: 9 dakika PRF uygulanmasından sonra yapılan siyatik sinir diseksiyon örneklerinde epinöryum da yer alan damarlarda herhangi bir anormallik izlenmezken endonöryumda yerleşik kapillerler çevresinde lokal kanama örneklerine rastlandı. Miyelinli ve miyelinsiz lifler parafin kesitlerde normal gözüktürken plastik kesitlerden bazı miyelinli liflerin miyelin kılıflarında deformatif kalınlaşmalar izlendi. Bu değişim örnekleri sinirin her bölgesinde yaygın olarak değil, bazı fasiküllerde yer almaktaydı. Ultrastrüktürel incelemelerde değişim gösteren miyelinli lifleri saran Schwann hücreleri sitoplazmasında granülü endoplamik retikulum sisternalarında bariz genişlemeler ve mitokondriyon matriksinde elektron dansitede düşüşler izlendi (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14).



a)

b)

Şekil 4.13. 9 dakika PRF uygulamasından sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinde, bazı alanlarda lokal kanamalar (oklar) dikkat çekmekte. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme.

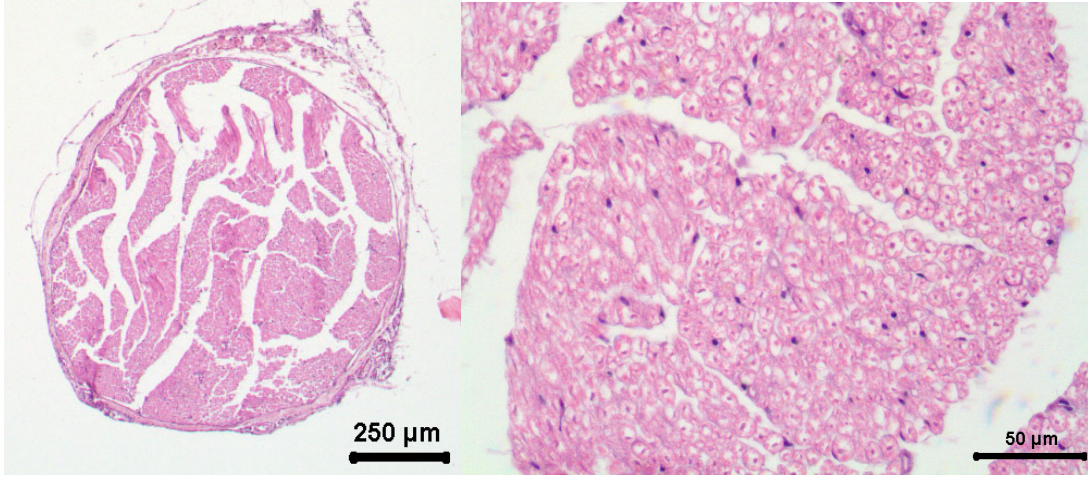


a)

b)

Şekil 4.14. 9 dakika PRF uygulamasını takiben diseke edilen siyatik sinir örneklerinden elde edilen plastik yarı ince kesitte (a) bazı fasiküllerde miyelin deformasyonları (oklar) dikkat çekmekte. Elektron mikrografta (b) Schwann hücresi (S) sitoplazmasında granüllü endoplazmik retikulum sarnıçlarını düzensiz bir şekilde genişlemiş olduğu (oklar) ve mitokondriyon (ok başı) matriks elektron dansitesinin zayıfladığı izlenmekte. (M) miyelin kılıf, (U) miyelinsiz kılıf, (C) endonöryal kollajen lifleri.

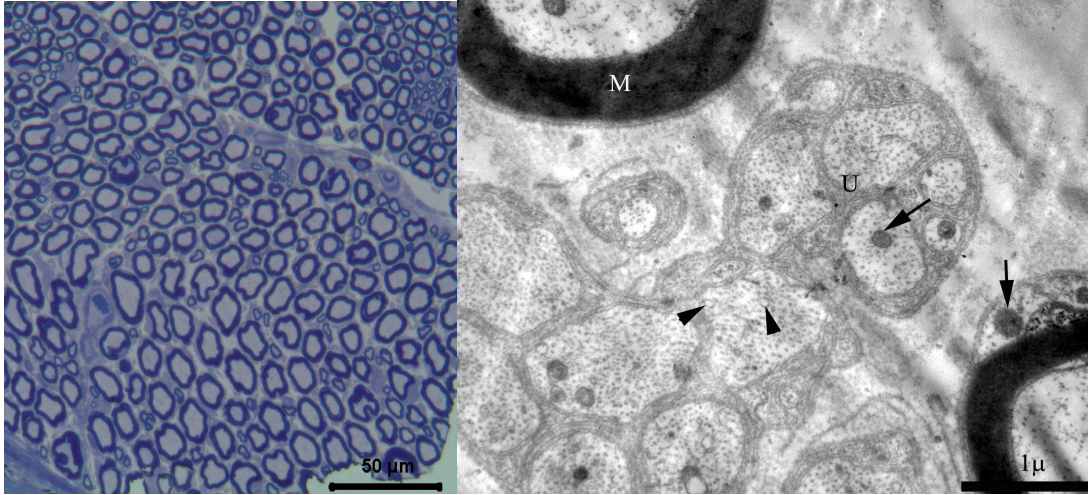
V. Grup B: 9 dakika PRF uygulaması, 48 saat sonra siyatik sinir diseksiyonu: 9 dakika PRF uygulanmasından 48 saat sonra yapılan siyatik sinir diseksiyon örneklerinde hem ışık hem de elektron mikroskop düzeyinde herhangi bir deformasyon izlenmedi. Ayrıca bir önceki grupta izlenen kanama odaklarına da rastlanmadı (Şekil 4.15 ve Şekil 4.16).



a)

b)

Şekil 4.15. 9 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikrografları. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme.

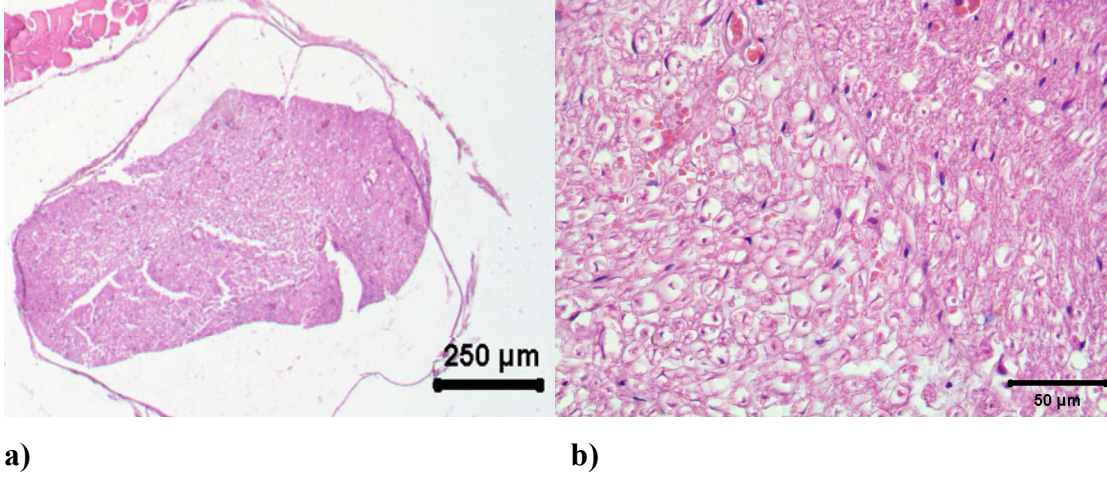


a)

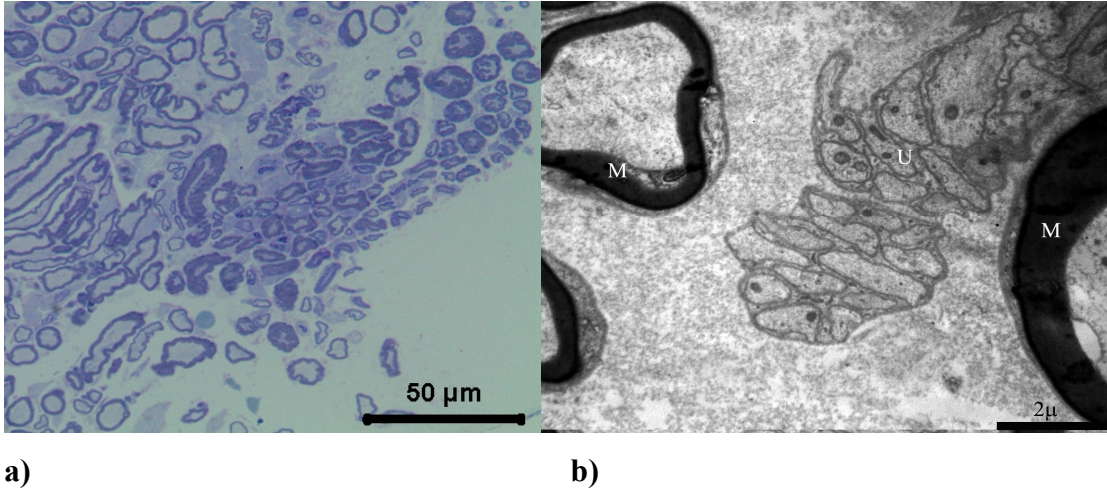
b)

Şekil 4.16. 9 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinirlerin plastik yarı ince kesiti (a) ve elektron mikrografı (b). Miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler, mitokondriyonlar (oklar) ve aksoplazma içerisinde düz endoplazmik retikulum vezikülleri (ok başları) izleniyor.

VI. Grup A: 12 dakika PRF uygulaması: 12 dakika PRF uygulanmasından sonra yapılan siyatik sinir diseksiyon örneklerinde hem ışık hem de elektron mikroskop düzeyinde herhangi bir deformasyon izlenmedi (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).

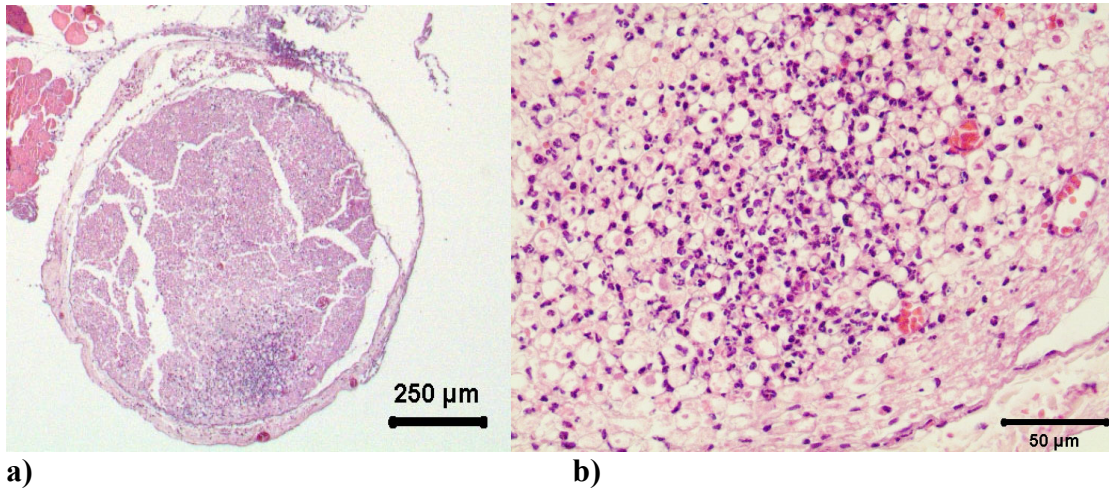


Şekil 4.17. 12 dakika PRF uygulamasından sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikroyrafları. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme.

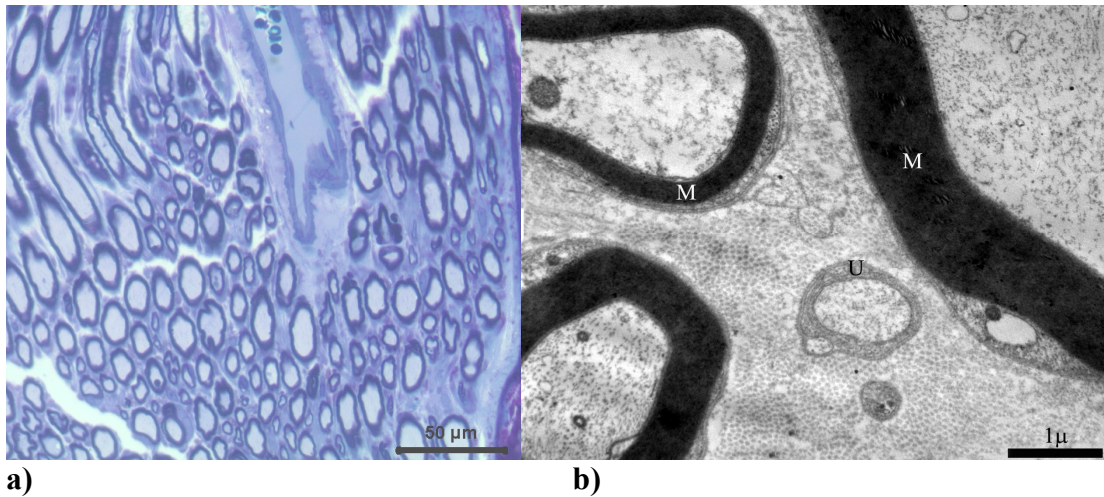


Şekil 4.18. 12 dakika PRF uygulamasından sonra diseke edilen siyatik sinirlerin plastik yarı ince kesiti (a) ve elektron mikroyrafı (b). Miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler izleniyor.

VI. Grup B: 12 dakika PRF uygulaması, 48 saat sonra siyatik sinir diseksiyonu: Bu grupta parafin bloklardan elde edilen kesitlerin bir bölümünde lokal lökosit infiltrasyonları izlenirken bir bölümünde buna rastlanılmadı. Elektron mikroskopik örneklerde bu infiltrasyonun izlerine rastlayamadık. Bu infiltrasyon örnekleri, 12 dakikalık RF uygulamasının uygulama esnasında sinirde bir travma yaratmadığını ancak uygulama sonrası ortaya çıkan sekonder deformasyonların gelişebileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.19. 12 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikrografları. (a) düşük büyütme, (b) yüksek büyütme. Sinir lifleri arasında yoğun lokosit infiltrasyonu dikkat çekmekte.



Şekil 4.20. 12 dakika PRF uygulamasından 48 saat sonra diseke edilen siyatik sinirlerin plastik yarı ince kesiti (a) ve elektron mikrografı (b). Miyelinli (M) ve miyelinsiz (U) lifler, izleniyor.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

RF yöntemi, çeşitli kronik ağrı sendromlarının tedavisinde ağrı iletimini durdurmak amacıyla uzun zamandır kullanılmakta ve değişik ağrı sendromlarının tedavisinde oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır (1,6,30,100-105).

KRF uygulamasında, RF elektrodunun çevresindeki dokuda ısı meydana gelmektedir. Sonuç olarak hedeflenen dokuda koagulasyon nekrozu meydana gelmekte ve ağrı tedavisinde kullanılan diğer nörolitik işlemlerle kavramsal olarak benzer şekilde ağrıyı taşıyan yollar hasara uğratarak ağrı iletimi engellenmektedir (25).

42-50°C'nin üzerindeki ısılar sinir hücrelerine sitotoksik etkiler göstermekte ve bu ısılara 20 saniyeden fazla maruz kalan dokularda hücre yapısı bozularak kalıcı hasar meydana gelmektedir (106). Çoğu RF lezyonu, elektrot ucu ısısı 60-80°C arasında olduğunda meydana gelir (26,30,37-40,81). Dokudaki ısı elektrot ucundan uzaklaştıkça hızla düşer ve böylelikle belirli bir alanda ısı lezyonu meydana gelir. Cosman ve arkadaşları, elektrot ucundan 1,5 elektrot çapı uzaklıktaki dokuda lezyon meydana geldiğini göstermişlerdir (34). RF tedavisi, iğne ucunun etrafında sınırları kontrol edilebilen lezyonlar meydana getirmesinden dolayı diğer nörolitik ağrı kesme yöntemlerine göre daha yaygın ve güvenli kullanılmaktadır.

Son zamanlara kadar RF tedavisinin klinik sonuçlarının dokuda meydana gelen bu ısı lezyonu ve doku hasarı sonucu meydana geldiği düşünülmekteydi (29,107).

Slappendel ve arkadaşlarının 40°C ve 67°C'lerde KRF uygulamalarının klinik sonuçları arasında fark bulunmadığını açıklamasından sonra RF tedavisinin klinik sonuçlarına etki eden başka nedenlerin varlığı sorgulanmaya başlanmıştır (6). Sluijter ve arkadaşları 42°C'de uygulanan KRF'in Slappendel'in sonuçlarının aksine ağrı tedavisinde etkisiz olduğunu açıklamışlardır. Sluijter ve arkadaşları yine aynı çalışmada RF akımının aralıklı olarak uygulandığı pulse RF tekniğini geliştirmişlerdir (1998).

RF jeneratöründen çıkan miktar sabit tutulmasına karşı akım kesintiye uğratarak pulse RF (PRF) tekniği geliştirilmiştir. PRF ile 20 ms'n'den oluşan 2 aktif siklus oluşturulur. Her siklusta 500 khz'lik frekans uygulanır. Böylece maximum elektrot ısısı nörodestrüktif seviye olan 42°C'nin üzerine çıkmamış olur. Sluijter ve arkadaşları PRF uygulamasının etkisinin, dokuda meydana gelen elektromanyetik alana bağlı olduğu fikrini ortaya koymuşlardır (7).

Yapılan çalışmalarda; PRF uygulamasının non-destrüktif bir yöntem olduğu ve KRF yöntemine iyi bir alternatif olabileceğini kabul edilmiştir (7,33,107-112). PRF tedavisinin yan etkilerinin ve komplikasyonların az olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Van Zundert ve arkadaşları kronik servikal ve trigeminal ağrıların tedavisinde yaptıkları PRF uygulamalarında herhangi bir yan etkiye rastlamadıklarını belirtmişlerdir (113,114). Kalıcı nörolojik defisit bulgularının olmadığı ve klinik olarak iyi sonuçlar alınan çalışmalara dayanarak PRF, KRF'e alternatif olarak ağrı tedavilerinde geniş bir kullanım alanı bulmuştur. PRF ve KRF ile yapılan birçok klinik çalışma vardır (7,33,110, 113-122).

Hatipoğlu ve arkadaşları, yapmış oldukları çalışmada kronik bel ağrılı hastalarda PRF ile KRF'un etkinliğini karşılaştırmış, iki yöntem arasında fark bulamamışlardır (123).

İdil ve arkadaşları, kronik faset eklem ağrılarında PRF ile KRF yöntemlerinin etkinliğini karşılaştırmışlar. PRF ile KRF yöntemlerinin her ikisinin de ağrıyı azaltmada etkili olduklarını; ancak KRF'in, PRF'den daha uzun süre etkili olduğunu, analjezik kullanmayan hasta sayısının ve hasta memnuniyetinin KRF grubunda daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır (122).

Kroll ve arkadaşlarının yapmış olduğu, 120 sn 42°C PRF ile 75 sn 80°C KRF'in lomber faset sendromunun tedavisindeki etkinliğini karşılaştıran çalışmada iki grup arasında önemli bir fark olmadığı, ancak KRF tedavi uygulanmış olan grupta uzun süreli takipte ağrı şikâyetlerinin daha az olduğu sonucuna varmışlardır (124).

İstanbul ve arkadaşlarının faset eklem sendromunda 240 saniye 42°C PRF ile 120 saniye 80°C KRF ile tedavi edilen grupların karşılaştırıldığı çalışmasında Kroll ve İdil'in sonuçlarına benzer şekilde her iki grup arasında 1. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaz iken 3. ayda KRF lehine anlamlı fark olduğunu saptanmamış. Fakat diğer çalışmalardan farklı şekilde olguların işlemiden sonraki analjezik ihtiyacı değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamamış (125). Bu çalışmalarda da gösterildiği üzere PRF tedavisi KRF tedavisinin iyi bir alternatiftir.

Yapılan birçok çalışmada; PRF uygulamasının klinik sonuçlarının KRF kadar iyi olduğunu göstermekle beraber literatürde bunun tam tersi sonuçların olduğunu gösteren çok az sayıda çalışmada mevcuttur (110,113,115,117).

PRF uygulamalarının nondestrüktif veya minimal destrüktif bir yöntem olarak kabul edilmesine rağmen PRF'in etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca literatürde PRF'in dokuda hasar bıraktığı sonucuna varan birkaç çalışma da mevcuttur (126,127).

RF uygulamasının miyelinli ve miyelinsiz liflerde veya her ikisinde de yapısal hasar meydana getirdiğini gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Letcher ve Goldring 1968'de ısının küçük miyelinli sinirlere selektif hasar oluşturduğunu söylerken, 1977'de Uematsu ve 1981'de Smith ve arkadaşları hasarın hem ince, hem de kalın sinir liflerinde rastgele şekilde meydana geldiğini göstermişlerdir (4,27,31). Kanpolat ve Onol (1980) köpeğe yapılan trigeminal RF uygulamasından 14 gün sonra ganglion hücrelerinde masif nekroz görüldüğünü yayınlamışlardır (128). De Louw ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2001) ise KRF uygulamasından sonra miyelinli ve miyelinsiz liflerde bir hasar görülmemiştir (32). De Louw ve arkadaşları; Letcher, Uematsu ve Smith'in çalışmalarında görülen hasarın klinik pratikte kullanılan elektrotlarda daha kalın elektrotların kullanılmasına ve iğnelerin sinirin içine yerleştirilmesine bağlı uygulama tekniklerinin sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Gerçektende De Louw diğer araştırmacılardan daha modern ve daha ince RF elektrodu kullanmış ve elektrotları daha önceki çalışmadakiler gibi DRG içine yerleştirmemiştir.

Erdine ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı çalışmada; De Louw'un bulgularına benzer bulgular elde edildi. Rat dorsal kök gangliyonuna 67°C'de 60 saniye yapılan KRF ile 42°C'de 120 saniye yapılan PRF uygulamalarının 14 gün sonra yapılan ışık mikroskopi incelemelerinde, gangliyon hücrelerinde, miyelinli ve myelinsiz sinir liflerinde herhangi bir hasar görülmediği ve gruplar arasında fark bulunmadığı gösterilmiştir. Elektron mikroskop incelemesinde ise; sham ve kontrol grubunda normal hücresel görünümde olduğu ve patolojik bir bulguya rastlanılmadığını belirtilmiş. PRF grubunda ise endoplazmik retikulum sisternalarının genişlediğini, gangliyon hücreleri içerisinde birbirleriyle birleşmeye eğilimli vakuollerin sayıca arttığını ve nöroplazma içinde nörolemmaya yakın şekilde lineer şekilde lokalize olduğunu tespit etmişlerdir. İncelemelerde nükleer membranda, mitokondrilerde, hücre membranında, miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinde herhangi bir patoloji bulunmadığını belirtmiştir. Aynı çalışmada 67°C'de 60 saniye yapılan

KRF yapılan grubun EM incelemesinde ise nükleer membran kaybı ve mitokondrial dejenerasyon olduğu görülmüştür (126).

Podhajsky ve arkadaşları, 2005 yılında yaptıkları çalışmada rat siyatik sinirine 42°C'de 120 saniye süre ile PRF ve KRF uygulamışlar ve işlemten sonra 2., 7., ve 21. gün sonra sinirleri ışık mikroskopuyla değerlendirmişlerdir. Sham grubunun 2., 7. ve 21. gün yapılan değerlendirilmesinde ışık mikroskopunda normal morfolojik bulgulara rastlanılmıştır. Sinir liflerinin ve hücre gövdelerinin sıkıca paketlenildiği, epinöryumun biraz inceldiği ve yapısında gevşeme olduğu gözlenmiştir. Ayrıca perinöryumun da boyanma özelliğinin değiştiği görülmüştür. 42°C'de yapılan KRF ve PRF gruplarının ışık mikroskopi incelemesinde; önemli patolojik bir değişikliğe rastlanılmamıştır. Özellikle subperinöral ve perivasküler alanda 2. günde başlayan endonöral ödem 7. günde azalmaya başlamış. 7. günde incelmış epinöryum ve endonöral kollajen birikimi görülmüştür. 2. ve 7 günlerde aksonal veya miyelin hasarı görülmemiştir. Bu çalışmada 80°C'de yapılan KRF'de 2. günde masif ödem, 7. günde Wallerian dejenerasyonla kendini gösteren koagülasyon nekrozu meydana geldiği gözlenmiştir. Sonuç olarak Podhajsky ve arkadaşları 42°C'de yapılan KRF ve PRF'in dokuda ışık mikroskopi incelemesinde önemli değişiklik meydana getirmediği sonucuna varmışlardır (9).

Kagan ve arkadaşları da 2008 yılında rat siyatik sinirine PRF ve KRF uygulamalarının histolojik etkilerini elektron mikroskopi bulgularıyla karşılaştırmışlar (15). İşlemten 21 gün sonra yapılan incelemelerde kontrol ve sham grubunda miyelinli aksonlar yapısal olarak normal bulunmuş, sham grubunda sadece birkaç miyelin konfigürasyonunda ayrılmalar görülmüş. Bu hasarın da daha önceki çalışmalarda olduğu gibi deney sırasında perfüzyon olmamasından dolayı olduğunu düşünmüşler. 120 saniye boyunca yapılan PRF'de ise miyelinli liflerde ciddi hasar bulgusuna rastlanılmamış. Hasar gören miyelinli aksonlarda sadece miyelin konfigürasyonunda ayrılma saptanmış ve yeni oluşan miyelinli aksonlar görülmüş. Yine aynı çalışmada 42°C'de 120 saniye ve 70°C'de 60 saniye yapılan KRF uygulamalarında miyelinli liflerin çoğunda ciddi hasar bulguları (wallerian dejenerasyon), hücre iskeleti kaybı, mitokondrilerin şişmesi veya yokluğu gibi mitokondrial değişikliklere rastlanılmış. Miyelinsiz lifler her iki grupta da normal olarak görülmüştür.

Bizim çalışmamızda da araştırma sırasında kullanılan malzemenin, cerrahi hasarın yaratacağı lezyonu PRF lezyonundan ayırt etmek için kontrol ve sham grupları kullanıldı. Çalışmamızda 2 dakikalık PRF uygulamasında literatürdeki az sayıda çalışmaya benzer bulgular elde ettik. 6, 9, 12 dakika PRF uygulamasının ise hücrenin yapısında, yapısal elemanlarında 2 dakikalık gruba göre değişiklik yapmadığını, 2 dakikalık PRF uygulaması ile aynı bulgular verdiğini gözlemledik.

Protasoni ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı çalışmada (14) dorsal kök gangliyonuna 120 saniye boyunca yapılan 42°C’de PRF uygulamasından 1,5 saat sonra alınan dokunun ışık mikroskopi incelemesinde interstisyel ödem hariç herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmamış. Miyelinsiz aksonların normal yapıda olduğu, şeklinde ve boyutlarında bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Bazı Miyelinli aksonlarda hafif düzensiz koyu boyanmasından dolayı morfolojik değişiklik olduğu; fakat bunun da küçük büyütme alanlarında kolay görülemediğini belirtmişlerdir. EM incelemesinde gangliyon hücrelerinin sitoplazmalarında vakuollerin gözlendiği, endoplazmik retikulum sisternalarının genişlediğini, mitokondrilerin hasar gördüğünü, mitokondri dış zarında bazı bölgelerde açılmalar olduğu, kristallarının küçüldüğü veya tamamen kaybolduğu gözlenmiştir. Birkaç gangliyon hücresinde nükleer membran bozuklukları ve plazmalemmmanın bütünlüğünün kaybolduğu gözlenmiştir. Bazı miyelinli aksonların miyelinlerinde değişiklikler gözlenmiştir; bazı bölgelerde düzensizleştiği, bazı hasarlanan bölgelerde ise ovoid formda küçüldüğü gözlenmiştir. Bu değişiklikler sadece miyelinli aksonlara etki eden ısı kaynaklı lezyonlar olabileceğini düşünmüşler. Myelinli lifleri saran Schwann hücrelerinde genişleme görülürken miyelinsiz aksonları saran Schwann hücrelerinde bir değişiklik görülmemiştir. Ekstresellüler alanda sinir liflerinin arasındaki interstisyel alanın genişlemesiyle kendini gösteren hafif bir interstisyel ödem görülmüştür. Bu çalışmada da daha çok miyelinli liflerin hasar gördüğünü saptanmıştır. Perisitlerin şişmesine bağlı gözlenen miyelin yapısının bozulması termal lezyonun etkisi olabileceğini ve bu değişikliklerin PRF uygulaması sırasında meydana gelen ısı patlamalarından meydana gelebileceği fikrini ortaya sürmüşlerdir.

Vatansever ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PRF ile KRF’nin sinir dokusunda yaptığı hasar araştırılmış; PRF’nin, KRF 40°C ve KRF 80°C’ye göre ısıya

bağlı daha az hasar oluşturduğu sonucuna varılmıştır. PRF ile bu hasarın engellenemediği, sadece azaltıldığı sonucuna varmışlar (16).

Kagan'ın (15) çalışmasında ve Erdine'nin çalışmalarında (13,84) elektrot, rat siyatik sinir içine Podhajsky'nin (9) çalışmasında ise iğne sinire hafif temas ettirilerek, Vatansever'in (16) çalışmasında ise elektrot sinire temas etmeden yakın bölgesine yerleştirilerek RF işlemi uygulanmış. PRF uygulanan bütün gruplarda ratların takibinde paralizi veya düşük ayak gelişmezken, Podhajsky'nin ve Vatansever'in çalışmalarında 80°C'de KRF yapılan gruptaki ratlarda ise düşük ayak, ilerleyen günlerde ise bacaklarda ülsere lezyonlar gelişmiş. Fakat yine aynı çalışmalarda 42°C uygulanan KRF uygulanan grupta da paralizi veya düşük ayak gelişmemiş. Erdine'nin tavşan dorsal kök gangliyonunda yaptığı PRF çalışmasında tavşanlarda motor defisit görülmemiş (118). Biz de çalışmamızda motor, otonom ve duysal liflerin tümünü içeren bir periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde çalıştık. Bizim çalışmamızda ise 2 dakikalık grupta paralizi veya motor defisit görülmezken; 6 dakikalık grupta 4 ratta; 9 ve 12 dakika PRF uygulanan grupta ise 5'er ratta motor defisit gelişti. Daha önce yapılan çalışmalarda 2 ve 4 dakikalık PRF uygulamalarından sonra paralizi gelişmemiştir. Bizim çalışmamızda da 2 dakikalık grupta motor defisit görülmezken 6, 9 ve 12 dakika PRF uygulanan gruplarda paralizi gelişti. Histolojik incelemelerde motor defisite neden olabilecek major bir yapısal bozukluğa rastlamamakla beraber uzamış sürelerde PRF uygulaması ile ortaya çıkan bu motor defisitinin uygulama tekniğine bağlı kusura, mekanik travmaya veya uzun süreli PRF uygulamasının direk etkisi mi olduğu konusunda ileri çalışmalar gerekmektedir.

Literatürdeki araştırmalarda EM incelemesinde PRF akımı uygulanan DRG'deki sinir hücrelerinin gövdelerinde değişiklikler olduğu gösterilmiştir (126). Yine başka bir çalışmada PRF akımı uygulanan nöronların transmembran potansiyellerinin arttığı gösterilmiş (127). Erdine ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada rat siyatik sinirine PRF uygulamış ve 10 gün sonra alınan örneklerde sinir aksonlarındaki değişiklikleri elektron mikroskobu ile incelemişlerdir (13). PRF uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha fazla hasar görülmüştür. Hasarların çoğu aksonların yapısal elemanlarında görülmüş ve hiçbir grupta aksonal membranlarda hasar görülmemiştir. Küçük çaplı liflerde daha fazla hasar görülmüştür. C lifleri en fazla, A delta orta, A beta lifleri daha az hasar görmüş. PRF elektrik akımının oluşturduğu transmembran

potansiyel C liflerinde en fazla; A delta liflerinde daha az, A beta liflerinde de en az olarak hesaplamışlardır. PRF tahmin edilen enerji ve kuvvetleri gözlenen yapısal değişiklikleri yapmaya yeterlidir. C ve A delta lifleri duyuşal nosiseptör, A beta lifleri ise dokunma ve ağrı hariç duyular ile ilgilidir. Bu nedenle PRF daha çok C ve A delta liflerini etkileyerek ağrıyı azalttığı ve taktik dokuları koruduğı sonucuna varılabilir.

PRF'in hangi endikasyonlarda ve bölgelerde ne kadar sürelerde uygulanacağına yönelik, randomize kontrollü çalışmalarla desteklenmiş bilgiler net değildir. Van Zundert ve arkadaşları DRG'na 120 sn ve 8 dk uygulanan PRF arasında nöronal aktivite yönünden fark olmadığını saptamışlardır (129). Erçelen ve ark., lumbardiskojenik ağrı tedavisinde, konvansiyonel RF yönteminde farklı uygulamaların sürelerini karşılaştırmışlardır. Randomize kontrollü çalışmalarında uygulama süresini 2 ve 6 dakika olarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır (130).

KRF uygulama süresinin lezyonun boyutu üzerine etkilerinin incelendiğı çalışmalarda, belli bir kararlı duruma ulaşıldıktan sonra uygulama devam etse bile lezyon boyutunda anlamlı büyümenin olmadığı gösterilmiştir. Cosman ve arkadaşlarının, kedi DRG'u 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 (42). Sluijter ve Van Kleef'in bilgisayar modelleri kullanarak yaptıkları çalışmada, 60 saniyeden uzun süreli uygulama yapmanın anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (52). Literatürde KRF'in süre ve lezyon büyüklüğü açısından araştırmalar yapılmışken PRF'in uzun sürelerde uygulanmasının histolojik etkileri ile ilgili bir çalışma mevcut değildi. Bizde çalışmamızda uzun sürelerde PRF uygulamasının olabilecek histolojik etkilerini incelemeyi amaçladık. Fakat 6, 9 ve 12 dakika PRF uygulamasının, 2 dakika PRF uygulamasının histolojik etkilerine benzer sonuçlara neden olduğunu, farklı bir bulgunun ortaya çıkmadığını gördük.

PRF'in etki mekanizmasının bilimsel temelleri henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir. Dokuda meydana gelen EMF'nin PRF'in etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (7,33). PRF'in morfolojik bulgularını inceleyen diğer çalışmalarda ve bizim çalışmamızda miyelin zarflarında minimal değişiklikler, hafif interstisyel ödem, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum sisternalarında genişlemeler,

intrasitoplazmik vakuollerin görülmesi hariç KRF'in histolojik bulgularına benzer şekilde ısı ile ilişkili bir lezyon görülmemiştir. PRF uygulamasından sonra görülen bu değişikliklerin reversible olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. PRF tedavisinden sonra ilk haftada ağrının azalmaya başladığı, 2-3 haftada giderek azaldığı ve daha sonrada bu seviyede devam ettiği bilinmektedir (131). Erken dönemde görülen bu morfolojik değişiklikler bu klinik sonucun nedeni olabilir. Miyelin konfigürasyonundaki ayrılma sinir yollarındaki sinyal iletimini bloke edebilir veya kesintiye uğratabilir, reversible nöronal depresyonuna neden olabilir.

Bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda da kollajen birikimi ile kendini gösteren fibroblast aktivasyonu mevcuttu. Kan-sinir bariyerindeki bozulma sonucu fibroblastlar aktive olmakta ve yine kan-sinir bariyerindeki bozulma sonucu ödem meydana gelmektedir. Kan-sinir bariyerindeki bozulma ve fibroblast aktivasyonun olması sitokin ekspresyonunda değişiklik olduğunu göstermektedir. Sitokin ekspresyonundaki değişiklikler başka çalışmalarda da gösterilmiştir (25). Bizim çalışmamızda da özellikle 9 dakikalık PRF uygulanan grupta şiddetli lökosit infiltrasyonu görülmüştür. Sitokin değişikliklerin de ağrı iletimindeki kesilmeye etkide bulunabileceği düşünülerek bu konuda ileri çalışmalar yapılabilir.

Erdine (84) ve Kagan'ın (15) çalışmalarının her ikisinde de mitokondrial değişiklikler sadece KRF gruplarında görülmüş, her iki çalışmada da PRF gruplarında mitokondrial değişiklik görülmemiştir. Fakat Tun ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada hem PRF, hem de KRF yapılan gruplarda mitokondrial ödem görüldüğünü göstermişlerdir (132) ve Protasoni'nin çalışmasında da PRF uygulanan sinirlerde mitokondriyal değişiklikler gözlenmiştir (14). Bizim çalışmamızda ise 9 dakika PRF uygulanan gruptan itibaren mitokondriyal değişiklikler gözlenmiştir. Mitokondriyumlar hücre metabolizmasında önemli bir role sahip olmakla hücrenin enerji gereksinimi için devamlılığı şarttır. PRF uygulaması ile mitokondriyumların hasar görmesi hücrenin enerji metabolizmasını olumsuz etkileyerek hücrenin temel fonksiyonlarını yerine getirmek için ihtiyacı olan enerjiyi karşılayamamasına neden olur. Enerji metabolizmasında bu bozulma sonucu sinirin uyarılarının iletimi kesintiye uğramakta ve bu yolla ağrı iletiminin engellendiği düşünülebilir. Bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

PRF'in etki mekanizması ile ilgili başka araştırmalarda yapılmıştır. Higuchi ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada DRG'nun PRF akımına maruz kalmasının dorsal boynuzdaki lamina I ve II'yi aktive ettiğini ve etkinin doku ısınması sonucu olmadığını göstermişlerdir (133). Cahana ve arkadaşları yaptığı çalışmada kısa RF enerji patlamalarının uyarılmış sinaptik aktiviteyi inhibe ettiğini ve bu yolla ağrı iletimini engellediğini ileri sürmüşlerdir (134). De Louw ışık hücresel hasarın markeri olabilecek MIB-1 aktivitesinin arttığından söz etmiştir (32). Hamann'ın çalışmasında ise PRF uygulamasını takiben rat dorsal kök gangliyonunda c-fos upregülasyonu gözlenmiş, rat siyatik sinirine yönelik girişimlerde aktive transmisyon faktör 3 (ATF3) ile CGRP down regulasyonu saptanmıştır (135). Bütün bu çalışmalara ve sonuçlara rağmen PRF etki mekanizması bilimsel temellere dayanan bir açıklığı kavuşamamıştır. PRF uygulamaları ile ilgili literatür incelemesine dayanan bir çalışmada PRF ile stimülasyonun nroablatif olmayan bir nromodulasyon tekniği olduğu sonucuna varılmıştır (136).

Sonuç

Bu alışmada PRF uygulamalarının siyatik sinir üzerine oluşturduğu hasar kontrol ve sham gruplarıyla karşılaştırmalı olarak ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde incelendi.

Kontrol grubunda görülen minimal hasar, sinir dokusunun preperasyon sırasında yapılan işlemlerden etkilendiğini, sham grubunda kontrole göre biraz fazla görülen hasarın cerrahi işleme sekonder meydana geldiği dşnld.

2 dakikalık PRF uygulamasının sinir dokusunda belirgin bir patolojik bulgu meydana getirmediği gözlemlendi. Miyelinsiz liflerin hasar görmediği, miyelinli liflerin ise çok azında miyelin konfigürasyonunda ayrılma, endoplazmik retikulum sisternalarında genişleme, mitokondrinin matriksinde dansite düşüşü ve hafif interstisyel ödem izlendi. PRF uygulamasından hemen sonra incelenen sinir dokusunda görülen kanama odakları, PRF işleminden 48 sonra incelenen sinir dokularında görülmedi.

6, 9 ve 12 dakika PRF uygulamalarında 2 dakika PRF uygulamasının histolojik sonuçlarıyla benzer bulgular elde edildi.

2 dakika PRF uygulaması yapılan deneklerde motor defisit gelişmezken; 6, 9 ve 12 dakika PRF uygulanan ratlarda paralizi gelişti.

Bu sonuçlar çalışmamızda gözlenen hücre ve organel değişikliklerinin moleküler düzeyde de çalışılarak PRF etki mekanizmasının bilimsel temellerin aydınlatılması ve PRF uygulamasının klinik sonuçlarının daha ayrıntılı incelenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

6. ÖZET

RAT SİYATİK SİNİRİNE UZUN SÜRELERDE PULSE RADYOFREKANS UYGULAMASININ HİSTOLOJİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Amaç: Radyofrekans tedavisi uzun yıllardır çeşitli ağrı sendromlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Konvansiyonel RF uygulamasının ağrı kesme etkisi dokuda koagulasyon nekrozu oluşturan yüksek ısıya bağlıdır. Yakın zamanda RF akımının aralıklı uygulanarak pulse hale getirildiği ve ısının daha düşük sıcaklıklarda uygulandığı PRF geliştirilmiştir. PRF tekniği klinik etkinliğinin iyi olması ve geniş doku hasarı bırakmaması nedeniyle hızla kabul görmüştür. Çalışmamızda uzun sürelerde uygulanan PRF'in rat siyatik sinirinde meydana getireceği histopatolojik etkileri araştırmayı planladık.

Gereç ve Yöntem: Fakültemiz Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra 64 adet Wistar Albino dişi rat 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (n:3) hiçbir işlem yapılmadı. Genel anestezi uygulamasından sonra RF elektrotu siyatik sinir içine yerleştirildi. Sham grubuna (n:5) elektrot yerleştirildi fakat akım uygulanmadı. 3. gruba (n:14) 2 dakika, 4.gruba (n:14) 6 dakika, 5.gruba (n:14) 9 dakika, 6.gruba (n:14) 12 dakika PRF uygulandı. PRF uygulanan gruplardaki (grup 3,4,5,6) ratların yarısından (n:7) işlemiden hemen sonra, diğer yarısından (n:7) işlemiden 2 gün sonra siyatik sinirler histolojik inceleme için çıkarıldı. Çıkarılan dokular hem ışık mikroskopunda, hem de elektron mikroskopunda incelendi.

Bulgular: 2 dakika PRF uygulanan gruptaki ratlarda motor defisit görülmedi. 6 dakika PRF uygulanan grupta 4 ratta, 9 ve 12 dakika PRF uygulanan gruplarda ise 5'er ratta düşük ayak gelişti. Kontrol grubu ve sham grubunda belirgin patoloji görülmedi. 2 dakika PRF uygulanan grupta yapısal ciddi hasar görülmedi. Hafif endonöral ödem, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum sisternalarında genişlemeler, intrasitoplazmik vakuollerin arttığı gözlemlendi. Miyelinsiz lifleri normal yapıda, miyelinli liflerin ise çok az kısmında hafif değişiklik olduğu gözlemlendi. Hasar görülen miyelinli liflerde miyelin zarflarında minimal ayrılma gözlemlendi. 6, 9 ve 12

dakikalık gruplarda da bu bulgulara benzer bulgular elde edildi, başka patolojik bir bulguya rastlanılmadı.

Sonuç: PRF uygulama süresinin artması dokuda önemli bir patolojik değişikliğe yol açmadı.

Anahtar kelimeler: Pulse radyofrekans, uygulama süresi, siyatik sinir, histolojik etkiler.

7. ABSTRACT

ANALYSIS OF THE HISTOLOGIC EFFECTS OF LONG-TERM PULSED RADIOFREQUENCY APPLICATION TO RAT SCIATIC NERVE

Purpose: Radiofrequency treatments have been used in clinical practise for the treatment of variety pain syndromes for many years. The pain relief effect of conventional RF application is due to the high temperature which resulting coagulative necrosis within tissues. Recently RRF procedure has been developed which RF current is applied intermittently, in a pulsed fashion with a lower temperature. PRF procedure has been rapidly accepted for its clinically effectiveness and that does not cause extensive tissue injury. In our study, we aim to investigate the histopathologic effects of long duration PRF on rat sciatic nerve.

Materials and Methods: After having our faculty's Animal Studies Ethics Committee approval, 64 female Wistar Albino rats were divided into 6 groups. No procedure was applied to the rats in the control group (n:3). After all rats deeply anesthetised, RF electrode was placed within the sciatic nerve. In sham group electrode was placed but no current was passed. PRF was applied in group 3 (n:14) for 2 minutes, in group 4 (n:14) for 6 min., in group 5 (n:14) for 9 min., in group 6 (n:14) for 12 min. Sciatic nerves were removed from the half of the rats in each PRF treated groups (group 3,4,5,6) after the procedure, and those in the other half (n:7) were removed 2 day after the procedure in each PRF treated groups (group 3,4,5,6) for histological evaluation. The tissues were analyzed both with light microscopy and electron microscopy.

Results: Rats treated with 2 min. showed no motor deficit. 4 rats in 6 min group, and 5 rats each 9 min. and 12 min. group showed footdrop. No pathology was evident in the control and sham groups. In 2 min. PRF group, there were no severe degeneration findings. There were mild endoneurial edema, enlarged endoplasmic reticulum cisterns in this group. Unmyelinated axons found to be normal ultrastructurally. Only a few myelinated axons showed only seperation in myelin

configuration. There were similar findings in 6, 9 and 12 min PRF groups, no evident pathology was observed.

Conclusion: Increasing duration time of PRF application did not cause significant difference in pathology in tissue.

Key words: Pulsed radiofrequency, duration time, sciatic nerve, histologic effects.

8. KAYNAKLAR

1. Ağrı, Üçüncü Baskı. Ed.: Erdine S. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2007; 715-27.
2. Rosomoff HL, Carrol F, Brown J. Percutaneous radiofrequency cervical cordotomy technique. J Neurosurg 1965; 23: 639-44.
3. Sluijter ME. Radiofrequency, Part 1: The lumbosacral region. Flivo Press. Switzerland 2001; 50-1.
4. Sweet WH, Wepsic JG. Controlled thermocoagulation of trigeminal ganglion and rootlets for differential destruction of pain fibres. J Neurosurg 1974; 40: 143-56.
5. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nevre trunj, ganglion and rootlets. In: Schmidel HH, Sweet WS, Grune and Stratton, eds. Current Techique in Operative Neurosurgery, New York 1977.
6. Slappendel R, Crul BJ, Braak GJ. The efficacy of radiofrequency lesioning of the cervical spinal dorsal root ganglion in a double blind randomized study: no difference between 40 degrees and 67 degrees C treatments. Pain 1997; 73: 159-63.
7. Sluijter ME, Comsan E, Rittman W. The effect of pulsed radiofrequency fields applied to the dorsal root ganglion- a preliminary report. Pain Clin 1998; 11: 109-17.
8. Shah RV, Racz GB. Long-term relief of posttraumatic headache by sphenopalatine ganglion pulsed radiofrequency lesioning: a case report. Arch Phys Med Rehabil 2004; 85(6): 1013-6.
9. 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.
10. Rohof O. FIPP, Intradiscal Pulsed Radiofrequency Application Following Provocative Discography for the Management of Degenerative Disc Disease and Concordant Pain: A Pilot Study, Pain Practice 2012; 12(5): 342-9.
11. Rosen S, Falco F. Radiofrequency Stimulation of Intervertebral Discs, Pain Physician 2003; 6: 435-8.
12. Teixeira A, Sluijter ME. Intradiscal High-Voltage, Long-Duration Pulsed Radiofrequency for Discogenic Pain: A Preliminary Report, Pain Medicine 2006; 7(5): 424-8.
13. Erdine S, Bilir A, Cosman ER, Cosman ER Jr. Ultrastructural changes in axons following exposure to pulsed radiofrequency fields. Pain Pract 2009; 9(6): 407-17.
14. Protasoni M, Reguzzoni M, Sangiorgi S. Pulsed radiofrequency effects on the lumbar ganglion of the rat dorsal root: a morphological light and transmission electron microscopy study at acute stage. Eur Spine J 2009; 18(4): 473-8.

15. Tun K, Cemil B, Gurcay AG. Ultrastructural evaluation of Pulsed Radiofrequency and Conventional Radiofrequency lesions in rat sciatic nerve. *Surgical Neurology* 2009; 72(5): 496-500
16. Vatansever D. Konvansiyonel ve Pulse Radyofrekans Termokoagulasyon Tekniklerinin Nöroablatif Etkilerinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Manisa 2007.
17. Kirschner M. Zur Elektrochirurgie. *Arch Klin Chir* 1931; 167: 761-5.
18. Hunsperger RW, Wyss OAM. Quantitative Ausschaltung von Nervengewebe durch Hochfrequenz koagulation. *Helv Physiol Acta* 1953; 11: 283-304.
19. Mullan S, Hekmatpanah J, Dobbin G. Percutaneous intramedullary cordotomy utilizing the unipolar anodal electrolytic lesion. *J Neurosurg* 1965; 22: 548-53.
20. Rosomoff HL, Carrol F, Brown J. Percutaneous radiofrequency cervical cordotomy technique. *J Neurosurg* 1965; 23: 639-44.
21. Sweet WH, Wepsic JG. Controlled thermocoagulation of trigeminal ganglion and rootlets for differential destruction of pain fibres. *J Neurosurg* 1974; 40: 143-56.
22. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nerve trunk, ganglion and rootlets. In: Schmidel HH, Sweet WS, Grune and Stratton, eds. *Current Technique in Operative Neurosurgery*, New York 1977.
23. Shealy CN. Percutaneous radiofrequency denervation of the lumbar facets. *J Neurosurg* 1975; 43: 448-51.
24. Sluiter ME, 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*, Academic Press. London, Toronto, Sydney 1981; 3: 141-79.
25. Myers RR. Neuropathology of neurolytic agents with analysis of the causes of failed neurolysis. In: Cousins MS, Bridenbaugh PO, editors. *Neural blockade and pain management in clinical anesthesia and management of pain*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott 1998; 985-1006.
26. Van Kleff M, Spaans F, Dingemans WAAM. 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.
27. Letcher FS, Goldring S. The effect of radiofrequency current and heat on peripheral nerve action potential in the cat. *J Neurosurg* 1968; 29: 427.
28. 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.
29. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nerve trunk, ganglion and rootlets. In: Schmidel HH, Sweet WS, Grune and Stratton, eds. *Current Technique in Operative Neurosurgery*, New York 1977.

30. Van Kleff M. Radiofrequency lesions adjacent to the dorsal root ganglion. Thesis. Datawyse, Maastricht 1996.
31. Smith HP, Mc Worther JM, Challa VR. Radiofrequency neurolysis in a clinical model. *J Neurosurg* 1981; 55: 346-53.
32. De Louw AJA, Vles HSH, Freling G. 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.
33. Sluijter ME, Van Kleff M. Characteristics and mode of action of radiofrequency lesions. *Current Review of Pain* 1998; 2: 143-50.
34. Cosman ER, Nashold BS, Ovelman- Levitt J. Theoretical aspects of radiofrequency lesions in the dorsal root entry zone. *Neurosurgery* 1984; 15: 945-50.
35. Van Wijk RM, Geurts JW, Wynne HJ. Long-lasting analgesic effect of radiofrequency treatment of the lumbosacral dorsal root ganglion. *J Neurosurg* 2001; 94: 227-31.
36. Van Kleef M, Barendse GA, Dingenmans WA. 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.
37. Nash TP. Percutaneous radiofrequency lesioning of dorsal root ganglia for intractable pain. *Pain* 1986; 24: 67-73.
38. Stolker RJ, Vervest AC, Groen GJ. Percutaneous facet denervation in chronic thoracic spinal pain. *Acta Neurochir (Wien)* 1993; 122: 82-90.
39. Van Kleef M, Barendse GA, Dingemans WA. 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.
40. Van Wijk RM, Geurts JW, Wynne HJ. Long-lasting analgesic effect of radiofrequency treatment of the lumbosacral dorsal root ganglion. *J Neurosurg* 2001; 94: 227-31.
41. Ruiz-Lopez R. Radiofrequency for the treatment of chronic pain. In: Raj PP, eds. *Textbook of Regional Anesthesia*. Churchill Livingstone USA 2002; 619-45.
42. Cosman ER, Comsan BJ. Methods of making nervous system lesions. In: Wilkins RH, Renschly SS, McGraw-Hill, eds. *Neurosurgery*, New York 1985; 2490-9.
43. Cosman ER, Rittman WJ. Physical aspects of radiofrequency energy applications. In: Huang SKS, eds. *Radiofrequency Catheter Ablation of Cardiac Arrhythmias*. Basic Concepts and Clinical Applications. Futura Publishing Company Inc. New York 1994; 13-23.
44. Troussier B, Lebas JF, Chirossel JP. Percutaneous intradiscal radiofrequency thermocoagulation: a cadaveric study. *Spine* 1995; 20: 1713-8.
45. Meyerson BA. Neurosurgical approaches to pain treatment. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 1108-13.

46. Moringlane JR, Koch R, Schafer H. Experimental radiofrequency (RF) coagulation with computer-based online monitoring of temperature and power. *Acta Neurochir* 1989; 96: 126-31.
47. Bogduk N, Macintosh J, Marsland A. Technical limitations to the efficacy of radiofrequency neurotomy for spinal pain. *Neurosurg* 1987; 20: 529-35.
48. Sanders M. Application of radiofrequency lesions in patients suffering from chronic pain. ISBN: 90-72816- 05- 6, 22-3.
49. Fox JL. Experimental relationship of radiofrequency electrical current and lesion size for application to percutaneous cordotomy. *J Neurosurg* 1970; 33: 415-21.
50. Sluijter ME. 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.
51. Sluijter ME, Comsan E, Ritman W. The effect of pulsed radiofrequency fields applied to the dorsal root ganglion- a preliminary report. *Pain Clin* 1998; 11: 109-17.
52. Sluijter ME, Van Kleef M. Characteristics and mode of radiofrequency lesions. *Current Review of Pain* 1998; 2: 143-50.
53. Ganong WF. Çeviren: Doğan A. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul: Barış Kitapevi 1995.
54. Jung-Testas I, Baulieu EE. Steroid hormone receptors and steroid action in rat glial cells of the central and peripheral nervous system. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998; 65(1-6): 243-51.
55. Shier D, Butler J, Lewis R. *Hole's Essentials of human anatomy and physiology*. 9th ed. New York: McGraw Hill 2006; 202-42.
56. Sadler TW. Embryonic period: Third to eight week. In Langman J, ed: *Langman's medical embryology*, 6th ed. Baltimore, Williams and Wilkins 1990; 61-6; 356-62.
57. Shenaq SM, Kim JYS. Repair and grafting of peripheral nerve. In: Mathes SJ, editor. *Plastic surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier 2006; 1: 719-43.
58. 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.
59. Benzon HT, Kim C, Benzon HP, Silverstein ME. Correlation between evoked motor response of the sciatic nerve and sensory blockade. *Anesthesiology* 1997; 87(3): 547-52.
60. Covino BG. Systemic toxicity of local anesthetic agents. *Anesth Analg* 1978; 5: 387.
61. 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.
62. Griffin JW, Li CY, Ho TW. Jun Guillain-Barre syndrome in northern China. The spectrum of neuropathological changes in clinically defined cases. *Brain* 1995; 118(Pt 3): 577-95.

63. Heath JW, Kidd GJ, Trapp BD. Myelin maintenance by Schwann cells in the absence of aksons. *Neurosci Lett* 1991; 128(2): 277-80.
64. 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* 1970; 6: 3-113.
65. Romine JS, Bray GM, Aguayo AJ. Jan Schwann cell multiplication after crush injury of unmyelinated fibers. *Arch Neurol* 1976; 33(1): 49-54.
66. Lundborg G. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand* 1987; 58(2): 145-69.
67. Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nevre. McCarthy JG, May JW, Litter WJ, editors. *Plastic surgery*. Philadelphia: WB Saunders 1990; 1: 630-97.
68. Waxman SG. Sinir Dokusu: Korrelatif Nöroanatomi. 24. baskıdan çeviri. Yıldırım M (Ed) Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Şti, İstanbul 2002, 8-19.
69. Berry M, Bannister LH, Standring SM. Nervous system. Gray's anatomy. 38th ed. Williams PL, Churchill Livingstone, Edingburgh 1995; 904.
70. Anonim. Reperfusion injury. Erisim: [http:// www. isat. jmu.edu](http://www.isat.jmu.edu)
71. Dahlin LB. The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Surg Hand* 2004; 4(3): 143-55.
72. 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* 1969; 165(1): 89-101.
73. 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.
74. 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.
75. 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.
76. Berthold CH, Fabricius C, Rydmark M. 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.
77. Kalichman MW, Powell HC, Myers RR. Pathology of lokal anesthetic-induced nerve injury. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988; 75(6): 583-9.
78. Robertson JD. Preliminary observations on the ultrastructure of Nodes of Ranvier. *Zellforschung* 1959; 50: 553-60.

79. Samorafski T. A relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *F Comp Neural* 1967; 130: 223.
80. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol* 1998; 55(12): 1513-20.
81. Garbay B, Heape AM, Sargueil F, Cassagne C. Myelin synthesis in the peripheral nervous system. *Prog Neurobiol* 2000; 61(3): 267–304.
82. Barsa J, Batra M, Fink BR. A comparative in vivo study of lokal neurotoxicity of lidocaine, bupivacaine, 2-chloroprocaine and a mixture of 2-chloroprocaine and bupivacaine. *Anesth Analg* 1982; 61: 961-7.
83. Hess A. The fine structure and morphological organization of nonmyelinated nerve fibers. *Proc Roy Soc B* 1956; 144: 496.
84. Sadler TW. Santral Sinir Sistemi: Langman's Medikal Embriyoloji. Altıncı baskı. Basaklar AC (Ed). Palme Yayın Dağıtım Ltd Şti, Ankara 1993, 335-70.
85. 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.
86. Bridenbaugh LD. Regional anesthesia for surgery of the extremities. *Clin Anesth* 1969; 2: 193-215.
87. Cravioto H. The role of Schwann cells in the development of human peripheral nerves. An electron microscopic study. *J Ultrastruct Res* 1965; 12(5): 634-51.
88. Duchon LW, Scaravilli F. The structure and composition of peripheral nerves and nerve roots in the Sprawling mouse. *J Anat* 1977; 123(3): 763-75.
89. Jessen KR, Mirsky R. Origin and early development of Schwann cells. *Microsc Res Tech* 1998; 41(5): 393-402.
90. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2001; 183–217.
91. Sunderland S, Bradley KC: The cross-sectional area of peripheral nerve trunks devoted to nerve fibers. *Brain* 1949; 72: 428-49.
92. Maggi SP, Lowe JB 3rd, Mackinnon SE. Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg* 2003; 30(2): 109–26.
93. Myers RR, Powel HC, Costello ML. Endoneurial fluid pressure: direct measurement with micropipettes. *Brain Res* 1978; 148: 510-5.
94. Shanthaveerappa TR, Bourne GH. Perineural epithelium: A new concept of its role in the integrity of the peripheral nervous system. *Science* 1966; 154: 1464-7.
95. Özmen S. Uç-yan sinir anastomozunda alıcı sinir distal ucunda epinörium rezeksiyonunun rejenerasyona etkisi. *Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara* 2002; 34.

96. Sokoloff L. Sites and mechanisms of function-related changes in energy metabolism in the nervous system. *Dev Neurosci* 1993; 15(3-5): 194-206.
97. Butterworth JF 4th, Moran JR, Whitesides GM. Limited nerve impulse blockade by "leashed" lokal anesthetics. *J Med Chem* 1987; 30(8): 1295-302.
98. Fitzgerald M, Woolf CJ, Gibson SJ. 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.
99. Nagy I, Woolf CJ. Jan Lignocaine selectively reduces C fibre-evoked neuronal activity in rat spinal cord in vitro by decreasing N-methyl-Daspartate and neurokinin receptor-mediated post-synaptic depolarizations; implications for the development of novel centrally acting analgesics. *Pain* 1996; 64(1): 59-70.
100. Dubuisson D. Treatment of occipital neuralgia by partial posterior rhizotomy at C1-3. *J Neurosurg* 1995; 82: 581-6.
101. Van Kleef M, Spaans F, Dingemans W. Effects and side effects of a percutaneous thermal lesion of the dorsal root ganglion in patients with cervical pain syndrome. *Pain* 1993; 52: 49-53.
102. Dreyfuss P, Halbrook B, Pauza K. Efficacy and validity of radiofrequency neurotomy for chronic lumbar zygapophysial joint pain. *Spine* 2000; 25: 1270-7.
103. Ercelen O, Bulutcu E, Oktenoglu T. Radiofrequency lesioning using two different time modalities for the treatment of lumbar discogenic pain: a randomized trial. *Spine* 2003; 28: 1922-7.
104. Kanpolat Y, Cosman ER. Special radiofrequency electrode system for computed tomography guided pain-relieving procedures. *Neurosurgery* 1996; 38: 600-2.
105. Vervest ACM, Stolker RJ. The treatment of cervical pain syndromes with radiofrequency procedures. *Pain Clin* 1991; 4: 103-12.
106. Strohbehn JW. Temperature distributions from interstitial RF electrode hyperthermia systems: theoretical predictions. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1983; 9: 1655-67.
107. Sluijter ME. The role of radiofrequency in failed back surgery patients. *Curr Rev Pain* 2000; 4: 49-53.
108. Cohen SP, Foster A. Pulsed radiofrequency as a treatment for groin pain and orchialgia. *Urology* 2003; 61: 45.
109. Day M. Sphenopalatine ganglion analgesia. *Curr Rev Pain* 1999; 3: 342-7.
110. Munglani R. The longer term effect of pulsed radiofrequency for neuropathic pain. *Pain* 1999; 80: 437-9.
111. Chao SC, Lee HT, Kao TH. Percutaneous pulsed radiofrequency in the treatment of cervical and lumbar radicular pain. *Surg Neurol* 2008; 70: 59-65.

112. Cohen SP, Foster A. Pulsed radiofrequency as a treatment for groin pain and orchialgia. *Urology* 2003; 61: 45.
113. Van Zundert J, Brabant S, Van de Kelft. Pulsed radiofrequency treatment of the gasserian ganglion in patients with idiopathic trigeminal neuralgia. *Pain* 2003; 104: 449-52.
114. Van Zundert J, Lame IE, de Louw A. 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.
115. Geurts JW, van Wijk RM, Wynne HJ, Hammink E, Buskens E, Lousberg R, et al. Radiofrequency lesioning of dorsal root ganglia for chronic lumbosacral radicular pain: a randomised, doubleblind, controlled trial. *Lancet* 2003; 361(9351): 21-6.
116. Mikeladze G, Espinal R, Finnegan R, Routon J, Martin D. Pulsed radiofrequency application in treatment of chronic zyapophyseal joint pain. *Spine J* 2003; 419: 170-7.
117. Shah RV, Racz GB. Long-term relief of posttraumatic headache by sphenopalatine ganglion pulsed radiofrequency lesioning: a case report. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85(6): 1013-6.
118. Barrero LH, Hsu YH, Terwedow H, Perry MJ, Dennerlein JT, Brain JD, Xu X. Prevalence and physical determinants of low back pain in a rural Chinese population. *Spine* 2006; 31(23): 2728-34.
119. Garzillo MJ, Garzillo TA. Does obesity cause low back pain? *J Manipulative Physiol Ther* 1994; 17(9): 601-4.
120. Mortimer M, Wiktorin C, Pernol G, Svensson H, Vingård E. Sports activities, body weight and smoking in relation to low-back pain: a population-based case-referent study. *Scand J Med Sci Sports* 2001; 11(3): 178-84.
121. Leboeuf-Yde C. Body weight and low back pain. A systematic literature review of 56 journal articles reporting on 65 epidemiologic studies. *Spine J* 2000; 25(2): 226-37.
122. Idil T, Hasan M, Gulay O, Koray E, Dilek V. A Comparison of Conventional and Pulsed Radiofrequency Denervation in the Treatment of Chronic Facet Joint Pain 2007.
123. Hatipoğlu Z. Bel Ağrılarında Pulse ve Konvansiyonel Radyofrekans Termokoagulasyon Uygulamaları, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Adana 2009.
124. Kroll HR, Kim D, Danic MJ, Sankey SS, Gariwala M, Brown M. A randomized, double-blind, prospective study comparing the efficacy of continuous versus pulsed radiofrequency in the treatment of lumbar facet syndrome. *J Clin Anesth* 2008; 20(7): 534-7.

125. İstanbullu A. Faset Eklem Sendromu Olup Radyofrekans İle Tedavi Edilen Hastaların Retrospektif İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Adana 2010.
126. 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.
127. Cosman ER, Cosman ER. Electric and thermal field effects in tissue around radiofrequency electrodes. *Pain Med* 2005; 6: 405–24.
128. Kanpolat Y, Onol B. Experimental percutaneous approach to the trigeminal ganglion in dogs with histopathological evaluation of radiofrequency lesions. *Acta Neurochir* 1980; 30: 363–6.
129. Van Zundert J, de Louw AJA, Joosten EAJ, Kessels AGH, Honig W, Dederen PJWC, et al. Pulsed and Continuous Radiofrequency Current Adjacent to the Cervical Dorsal Root Ganglion of the Rat Induces Late Cellular Activity in the Dorsal Horn. *Anesthesiology* 2005; 102: 125–31.
130. Erçelen O, Bulutçu E, Oktenoglu T, Sasani M, Bozkus H, Cetin Saryoglu A, Ozer F. Radiofrequency lesioning using two different time modalities for the treatment of lumbar discogenic pain: a randomized trial. *Spine* 2003; 28(17): 1922-7.
131. Ochiai N, Tasto JP, Ohtori S, Takahashi N, Moriya H, Amiel D. Nerve regeneration after radiofrequency application. *Am J Sports Med* 2007; 35(11): 1940–4. doi:10.1177/0363546507304175
132. Tun K, Savas A, Sargon MF. The histopathological and electron microscopic examination of the stereotactic pulsed radiofrequency and conventional radiofrequency thermocoagulation lesions in rat brain. *Neurol Res* 2006; 28: 841-4.
133. Higuchi Y, Nashold BS Jr, Sluijter M. 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.
134. 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.
135. Hamann W, Abou-Sherif S, Thompson S, Hall S., Pulsed radiofrequency applied to dorsal root ganglia causes a selective increase in ATF3 in small neurons, *Eur J Pain* 2006; 10(2): 171-6.
136. Abejon D, Reig E. Is pulsed radiofrequency a neuromodulation technique *Neuromodulation* 2003; 6: 1-3.