



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

**AĞRI SENDROMLARININ TEDAVİSİNDE
FARKLI SÜRELERDE UYGULANAN PULSATİL
RADYOFREKANS (PRF) VE KONVANSİYONEL
RADYOFREKANS (KRF)'İN SİNİR YAPISINA ETKİSİNİN
MİKROSKOBİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Güray ÖZKUMUR

Antalya, 2016



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

**AĞRI SENDROMLARININ TEDAVİSİNDE
FARKLI SÜRELERDE UYGULANAN PULSATİL
RADYOFREKANS (PRF) VE KONVANSİYONEL
RADYOFREKANS (KRF)'İN SİNİR YAPISINA ETKİSİNİN
MİKROSKOBİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Güray ÖZKUMUR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Arif YEĞİN

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2016

**Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
TTU-2016-1672 numaralı proje no ile desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimi hazırlama sürecinde bana her türlü yardımı sağlayan, bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Arif YEĞİN'e, geçirmiş olduğum eğitim sürecinde eğitimime katkıda bulunan Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necmiye HADİMİOĞLU ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nın diğer bütün öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmam boyunca benden hiçbir yardımı esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Necdet DEMİR ve değerli yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Esmâ KONUK'a çok teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince beraber çalıştığımız asistan arkadaşlarıma, ameliyathane ve yoğun bakım ve poliklinikte çalışan bütün tekniker, teknisyen, hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma gösterdikleri yardımseverlik ve dostluktan dolayı teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan, sevgi ve ilgisini benden hiç esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim. Çalışma hayatım boyunca her zaman sabır ve desteği ile benim yanımda olan hayat arkadaşım ve sevgili eşim Gülşah FİDAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Tablolar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
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	7
2.2.3. Konvansiyonel ve pulse RF uygulamalarının karşılaştırılması	8
2.2.4. Periferik sinirlerin yapı ve fonksiyonları	9
2.2.5. Sinir liflerinin histofizyolojisi	12
2.2.6. Sinir lif tipleri ve işlevleri	13
2.2.7. Periferik sinir sisteminin dejenerasyonu ve rejenerasyonu	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
4. BULGULAR	20
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇLAR	42
7. ÖZET	44
8. ABSTRACT	46
9. KAYNAKLAR	48

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

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Memeli sinirinde sinir lifi tipleri	14
3.1. Deney grupları	18



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Kontrol grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen ışık mikroskopik görüntüler	21
4.2. a) Kontrol grubuna ait siyatik sinirde miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) liflerin elektron mikrografı: Her iki lif yapısında aksoplazma içerisinde nörotübül (dolu ok) ve nöroflaman (dolu ok başı) yapıları normal görünümde, Miyelin kılıf bütünlüğü ve Endonöryal bağ dokusunda kollajen lifler (boş yıldız) normal düzeninde izlenmekte. Miyelinsiz lifleri çevreleyen Schwann hücresi uzantıları ve sitoplazması (dolu yıldız) hücre membranı (boş oklar)ve aksolemma net olarak ayırt edilmekte. Her iki lifte de Schwann hücresinin sürekli bazal laminası izlenmekte, b) Endonöryal kollejen lifleriyle (boş yıldız) çevrili miyelinli akson (M), aksoplazmasında mitokondriyonlar (ok başları), aksonu kılıflayan organel bakımından zengin sitoplazmasıyla heterokromatik bir nukleusa sahip Schwann hücresi, Golgi kompleksi (çember), geniş GER sarnıçları (boş ok), sitoplazmik veziküller (dolu ok) ve lipid damlacığı (dolu yıldız)	21
4.3. Kontrol grubuna ait intranöronal kapiler	22
4.4. Sham grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen a) düşük büyütmede, b) yüksek büyütmede ışık mikroskopik görüntüleri (Toluidin mavisi)	23
4.5. Sham grubunda a) miyelinli (M) ve b) miyelinsiz (uM) sinir lifinde aksoplazma normal yapıda nörotübül (dolu ok başı) ve nöroflaman (boş ok başı) ve mitokondriyon (boş ok) içeriği sergilemekte	23
4.6. Sham grubunda intranöronal kapiler duvarı endotel uzantıları arasında bütünlüğü bozulmamış bağlantı kompleksleri (dolu oklar) ve sürekli endotel bazal laminasıyla (boş oklar) kontrollerle aynı özellikleri sergilemekte. Eritrosit (E)	24

- 4.7.** Sham grubunda intranöronal kapiler duvarı endotel uzantıları arasında bütünlüğü bozulmamış bağlantı kompleksleri (dolu oklar) ve sürekli endotel bazal laminasıyla (boş oklar) kontrollerle aynı özellikleri sergilemekte. Eritrosit (E) **25**
- 4.8.** a) PRF 120 sn uygulamasında siyatik sinir ince yapısı kontrol grubu örneklerine benzer miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) akson özellikleri göstermekteydi **25**
- 4.9.** PRF 120 sn grubunda intranöral kapiler endotel hücresi sıkı bağlantıları (boş oklar), sürekli bazal laminası ve sitoplazmik organelleriyle normal görünüm sergilemekte **26**
- 4.10.** PRF 240 sn grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen **a)** Düşük büyütme ışık mikrogramda perinöryum (dolu oklar) normal görünürken dışındaki epinöryum teknik hataya bağlı olarak ayrılmış gözükmemekte, **b)** Yüksek büyütme mikrogramda intranöronal damarlar ve miyelinli aksonlar normal yapı göstermekte **27**
- 4.11.** PRF 240 sn grubunda siyatik sinir ultrastrüktüründe **a)** genel olarak miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) aksonlar, mitokondriyon (boş oklar) normal görünüm sergilerken, **b), c)** bazı miyelinli aksonlarda yapısal deformasyonlar izlendi (yıldızlar) **27**
- 4.12.** PRF 240 sn grubunda kapiler endoteli (E), sıkı bağlantı kompleksleri (boş oklar), endotel bazal laminası (dolu oklar) ve perisit normal görünüm sergilemekte **28**
- 4.13.** KRF 120 sn grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen **a)** düşük büyütme ışık mikrogramlarda perinöryum (ok başları) ve intranöronal kapilerler (dolu oklar) izlenmemekte, **b)** Yüksek büyütme mikrogramda intranöronal damar kesitleri (dolu oklar) normal görünümlü miyelinli aksonlar (boş oklar) ve anormal görünümlü miyelinli aksonlar (ok başları) görülmekte **29**
- 4.14.** a) KRF 120 sn uygulamasında siyatik sinir elektron mikrogramında miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) aksonlar ve onları saran Schwann hücreleri heterokromatik nükleuslarıyla (N) kontrollerinkine benzer normal yapı gösteriyor **29**

- 4.15.** KRF 120 sn grubunda kapiler endotel (E), endotel bazal laminası (siyah oklar) ve sıkı bağlantı kompleksleri kontrollerdekine benzer yapı gösteriyor **30**
- 4.16.** a, b) KRF 240 sn grubu siyatik sinirleri örneklerinde miyelinli akson deformasyonu ışık mikroskobu düzeyinde izlenmekte **31**
- 4.17.** KRF 240 sn grubu siyatik sinir elektron mikrografları miyelinli ve miyelinsiz aksonların yapısında şiddetli deformatif değişiklikler oluştuğunu göstermekte **32**
- 4.18.** KRF 240 sn grubunda intranöronal kapiler yapısında endotel (E) ve perisit (P) mitokondriyonlarında (oklar) kristal erimeler dikkat çekmekte **33**

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı hemen her türlü hastalıkta ortaya çıkan, yeri zamanı ve şiddeti hastalığa göre değişen subjektif bir histir.

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı (IASP) ağrıyı şu şekilde tanımlamaktadır: Ağrı var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş gitmeyen duysal ve emosyonel deneyimdir. Ağrı duymak, hoş olmayan bir duyum olduğu için her zaman öznelidir. Bu yüzden ağrı değerlendirilirken hem fiziksel hem de fiziksel olmayan bileşenleri ile birlikte değerlendirilir (1).

Ağrı tedavisi kompleks bir tedavidir. Farmakolojik tedavi, girişimsel yöntemler, fizik tedavi ve psikolojik tedaviyi içinde barındırır. Girişimsel tedaviler ağrı tedavisinde gittikçe büyük yer tutmaya başlamıştır. Bu yöntemler; termokoagülasyon (RF), tekrarlayan sinir blokları, intratekal ve epidural enjeksiyonlar (lokal anestezikler, opioidler, steroidler, nörolitik ajanlar ile) ve yine nöroablasyon temeline dayalı kriyokoagülasyon, koterizasyon, iyonizan radyasyon, ultrason ve cerrahi destrüksiyon'dur (97).

Radyofrekans tekniği, kriolezyon lazeri, kimyasal destrüksiyon, yoğunlaştırılmış ultrason, mekanik cerrahi teknikler, iyonize radyasyon ve direkt akımla ısıtma tekniği gibi periferde veya santralde sinir doku hasarı oluşturmaya dayanan nöroablatif yöntemler içerisinde en güvenlisi, en etkin ve kolay uygulanabilir olanıdır. Radyofrekans yöntemi kronik ağrı tedavisinde nöroablasyon oluşturma yolu ile ağrı iletimini kesmek için uzun zamandır başarıyla uygulanmaktadır. Ancak uygulama sırasında verilen yüksek ısı deafferantasyon sekeline yol açabilmektedir. Uygulamalar esnasında komşu sinir dokusunda oluşabilecek hasar, uzun ve geri dönüşümsüz olabilecek duysal ve motor fonksiyon kaybı riskine sahiptir. Bu nedenle RF uygulaması C liflerine selektif olarak yapılmalı ve miyelinli liflerin korunması sağlanmalıdır. Fakat ne kadar özen gösterilse de tedavi sonrası zaman zaman nöropatik ağrı sorunu oluşabilmektedir (2-4).

Slappandel ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile pulse RF uygulamaları gelişmiş ve klinik kullanıma girmiştir. Slappandel dorsal root ganglionuna 40° ve 67°C RF uygulamış ve ağrı sağaltımı açısından fark olmadığını saptamıştır (6). Bunun üzerine ısının fizyolojik sınırlarda tutulması ile, ağrı iletimini durdurabilen radyofrekans yöntemleri üzerinde çalışılmaya başlanmış ve çalışmalar pulse RF (PRF) tekniğinin gelişmesine yol açmıştır.

KRF tekniğinde devamlı akım sinir dokusuna verilmektedir. Bu yöntem modifiye edilmiş ve saniyede 2 frekans olacak şekilde puls hale getirilerek yöntemin etkinliği artırılmış. Böylece ısının konvansiyonel yöntemdeki kadar yüksek olmasına gereksinim kalmamıştır (7). Aynı zamanda ısı nörodestrüksiyon yaratan seviyelere çıkmamış olur. PRF'in doku hasarı oluşturmada ağrıyı azaltmasından dolayı bu yöntem klinik kullanıma hızlı bir şekilde girmiş ve kabul görmüştür (6,7).

Ağrı tedavisinde sağaltım yapılırken nöral dokuda destrüksiyon oluşmaması temel hedeflerden biri olmalıdır. Bu anlayış non-nörodestrüktif bir yöntem olan Pulsed Radyo frekans (PRF) uygulamalarını ön plana çıkarmaktadır. Farklı sürelerde uygulanan PRF'nin konvansiyonel radyofrekans (KRF) uygulamasıyla dokuda yaratabileceği morfolojik ve patolojik değişikliklerle ilgili literatürde farklı sonuçlar bildirilmektedir (82,84,85,93). Biz çalışmamıza başlamadan önce 120 ve 240 saniye PRF ve KRF uygulamalarının dokuda ultrastrüktürel yapısal hasar yaratabileceği, bu nedenle yapısal bir bozukluğa neden olmadan etkili bir tedavi için PRF ve KRF uygulama sürelerinin optimizasyonunun gerektiği hipotezini oluşturduk.

Farklı sürelerde PRF ve KRF uygulamasının siyatik sinir yapısında oluşturabileceği yapısal değişiklikleri ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. RF Uygulamalarının Tarihçesi

Dokulara elektrik akımı vererek bu yolla lezyon oluşturma ve ağrıyı kesme fikri ilk kez Kirschner'in çalışmaları ile ortaya çıkmıştır (8). Kirschner 1931 yılında bu çalışmayı gerçekleştirmiş ve trigeminal nevralji hastalarında, gasser ganglionuna yerleştirdiği bir iğne ile direkt akım uygulamıştır. Diatermi makinesi ile 350 mA'lık akım kullanılan bu uygulamanın kolay uygulanması ve hızlı sonuç alınması bu tekniğe olan ilgiyi hızla artırmıştır. Fakat, direkt akımın oluşturduğu lezyonun boyutlarını kontrol etmek ve önceden tahmin etmekte zorluklar yaşanmış, sinir dokusunda büyük lezyonlar oluşmuştur.

Hunsperger ve Wyss (9) ise 1953'te bu tip uygulamalarda direkt akım yerine, yüksek frekanstaki (300-500 kHz) elektrik akımı kullanımını önermişlerdir. Bu frekanstaki akımların radyo transmitterlerinde de kullanılmasından dolayı "radyofrekans akımı" terimi bu akımları tanımlamada uygun görülmüştür.

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

1980 yılında Sluijter ve Mehta (15) yöntemin güvenliğini artıran küçük çaplı, 22 G kalınlığında bir kanül geliştirmişler ve bunun içinden geçen, ucunda dokuda oluşan sıcaklığı ölçen "thermocouple" probu taşıyan ince bir elektrot sayesinde RF teknikleri geliştirilmiştir. Radyolojik görüntüleme yöntemlerindeki gelişmelerde RF uygulamalarının uygulanabilirliğine kolaylık sağlamıştır.

1990'lı yıllarda RF uygulamalarında klinik etkiden sadece oluşan ısı lezyonu ile sinir hasarı sorumlu tutuluyordu. Ancak Van Kleef ve ark.'nın (16) 1993 yılında yayımladıkları çalışmalarında servikal arka kök gangliyonlarına

konvansiyonel RF uygulanan hastaların, uygulamadan sonra 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 (17) bağlanmaya çalışılmış, ancak yapılan yeni çalışmalar böyle bir etkiyi gösterememiştir (18-22).

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

2.2. RF Uygulamaları

2.2.1. Konvansiyonel RF

Konvansiyonel teknikle uygulanan radyofrekans akımında, işlem için özel biçimde üretilmiş aygıtın ürettiği akım bir elektrot sistemi aracılığıyla ilgili dokuya iletilir. İğne şeklindeki elektrot, “aktif uç” olarak adlandırılır ve en distal kısmı dışında yalıtkan bir madde ile tamamen kaplanmıştır. Aktif ucun boyu 2 mm ile 15 mm arasındadır. Dokuya iletilen akım, hastaya bağlanan plak şeklindeki nötr elektrot aracılığıyla tekrar RF cihazına geri döner. Hastanın vücuduna giren akımla vücudundan çıkan akım birbirine eşittir. Fakat nötr elektrodun yüzey alanı aktif uçtan çok daha geniş olduğu için, nötr elektrodun çevresinde oluşan elektriksel aktivite önemsizdir. Aktif uçtan çıkan akım ise, uygulanan bölgede iki önemli olaya sebep olur. Bu olaylar ısı oluşumu ile elektromanyetik alan oluşumudur (20,23).

Aktif uç çevresinde oluşan ısının sebebi, dokunun yüksek frekanstaki akıma karşı göstermiş olduğu dirençtir. Oluşan elektromanyetik alanın dokudaki elektrolitlerin yüklü iyonları üzerinde oluşturduğu elektriksel güç, bu iyonların hareket etmesine ve böylece sürtünme artışına neden olur (24-27). Isı artışı, akım yoğunluğunun en çok bulunduğu aktif ucun çevresinde en belirgindir. Dokudaki bu ısınma sonucu elektrot ucu da ısınır (6,20). Dokuda meydana gelen lezyon aktif ucun proksimalinde distale kıyasla çok daha geniştir (28,30). Bu sebeple

konvansiyonel RF uygulamalarında elektrodun uygulanacak olan sinir dokuya paralel olarak yerleştirilmesi edilir (29).

Teorik olarak düşünülduğünde, homojen bir dokuya, RF yöntemi uygulanırken dokuya iletilen ve ısı oluşumuna sebep 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 açıklar(31). Lezyonun boyutunu belirleyen bir başka faktör de ısının kaybıdır. Isı kaybını belirleyense dokunun ısı iletkenliği ve kan dolaşımı yoluyla ısının dokudan uzaklaştırılmasıdır. Ek olarak elektrodun kalınlığı, aktif ucun uzunluğu gibi teknik özelliklerde bu parametreleri değiştirebilmektedir (93,97).

Dokuda oluşan lezyonun boyutunu belirlemek, bunu etkileyen sebeplerin çeşitliliği nedeniyle çok zordur. Bu yüzden kontrollü bir lezyon oluşturabilmek için RF uygulamalarında, elektrot ucunun sıcaklığı “thermocouple tekniği” olarak bilinen özel bir yöntemle monitörizasyon yapılır (93). Sıcaklık monitörize edilerek şu noktalara dikkat edilir:

- Elektrot ucu sıcaklık değerinin, yapılan uygulama yöntemine uygun değere erişmesi,
- Sıcaklık değerlerinde ani oynamaların olmaması,
- Kaynama noktası olan 100°C ve üzerindeki değerlere çıkılmaması.

100°C üzerindeki sıcaklıklarda kaynama sonucu gaz oluşur ve kömürleşme meydana gelir. Bu durumda dokunun içinde havayla dolu boşluklar meydana gelir, akım ölçerde okunan değer düşer ve voltaj yükselir (10,27,30,32).

Konvansiyonel RF uygulaması ile meydana gelen ısı lezyonunun tanımlanması amacı ile Moringlane ve ark.'nın (28) tavşan beyni üzerinde yaptıkları morfolojik bir 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 olan en dış bölge.

Lezyonun boyutu üzerine uygulama süresinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, belli bir kararlı duruma ulaşıldıktan sonra uygulama sürdürülse bile lezyon boyutunda anlamlı büyümenin olmadığı saptanmıştır. Cosman ve ark.'nın (26), kedilerde arka kök giriş bölgesi (Dorsal Root Entry Zone, DREZ) üzerinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada, elektrot ucu sıcaklığının 75°C'de sabit tutulduğu durumda, 30 sn sonra lezyonun boyutunun sadece %20 arttığı, 60. sn'den sonra ise lezyon boyutunda herhangi bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Sluijter ve Van Kleef'in (24) bilgisayar modellerini kullanarak yapmış oldukları bir çalışmada, yumuşak dokuda standart lezyon (medial dal lezyonu, arka kök gangliyonu lezyonu, sempatik zincir lezyonları) oluştururken, 60 saniyeden uzun süreli uygulamanın anlamlı olmadığı sonucuna varmışlardır.

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

bütünlüğünü ve kısa devre oluşumunu kontrol etmek, elektrodun doğru yerleşiminden emin olmak amacı ile empedans monitörizasyonu da yapılır. Örneğin; ekstradural yapıların empedansı 300 ohm ile 600 ohm arasında değişirken, medulla spinalisin empedansı 1000 ohm'un üzerinde, intervertebral diskin ise 200 ohm'un altındadır (97).

2.2.2. Pulse RF

Yakın zamana kadar RF uygulamalarında klinik etkiden ısının oluşturduğu sinir hasarı sorumlu tutulmaktaydı. Fakat son dönemde ısı dışı faktörlerin de etkili olabileceği fikri doğmuştur. Bu da araştırmacıları ısı oluşturmada RF akımı uygulamaya yönlendirmiştir (93).

Dokuda hasar oluşturacak boyutta ısı oluşturmada RF akımı uygulama yolları şunlardır:

- Nötr plağın hastaya bağlanmaması
Böylece elektromanyetik alan oluşmasına rağmen ısı artışı gözlenmez; çünkü akım oluşmaz (25,33,34).
- Elektrot ucunun serum fizyolojik ile soğutulması (33).
- Konvansiyonel RF tekniğinde düşük güç kullanarak, sıcaklığın 42°C'nin üzerine çıkartılmadan uygulamanın gerçekleştirilmesi.
- RF akımının saniyede iki kez, 20 milisaniye süreyle uygulandığı pulse RF tekniği Her aktif siklus arasındaki 480 milisaniye boyunca dokunun soğumasına olanak bırakıldığı için dokuda ısınma meydana gelmez.

Pulse RF'te klinik etkinin sebebi olduğu düşünülen elektromanyetik alan elektrodun aktif ucundan çevreye doğru azimutal olarak (elektrot aksı çevresindeki çemberlere tanjansiyel olarak) yayılır (93).

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

Pulse RF'in uygulanması esnasında konvansiyonel RF'te olduğu gibi elektrot işlem yapılacak olan bölgeye radyolojik görüntüler yardımıyla 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 ihtiyaç duyulmaz. Uygulama esnasında elektrot ucunun sıcaklığının 43°C'yi geçtiği gözlenirse çıkış gücü 40 volta düşürülür (20).

Doğru uygulanmış bir teknikle yapılmış pulse RF uygulamasının ardından şu klinik seyir gözlenir:

- ✓ **1. faz, afallama (stunning) fazı:** Uygulamadan hemen sonra çoğu hastada ağrı geçer.
- ✓ **2. faz, postoperatif rahatsızlık fazı:** Bu faz, postoperatif 3 ya da 4 haftaya kadar uzayabilir. Bu durum konvansiyonel RF uygulamalarındakine benzer fakat pulse RF uygulamalarında konvansiyonel yöntemde sıklıkla izlenen nörit benzeri reaksiyon izlenmez. Isı lezyonunu takiben gözlenen rahatsızlık hissinin iki bileşeni olduğu düşünülmektedir. Birincisi hedef sinir dokusunda destrüksiyonun neden olduğu nörit benzeri reaksiyon, ikincisi ise pulse RF uygulaması sonucunda da görüldüğü için elektromanyetik alan uygulamasına bağlanan rahatsızlık hissidir.
- ✓ **3. faz, klinik iyileşmenin gözlemlendiği faz:** Bu fazın süresi hakkında yeterli veri yoktur. Yapılan bazı çalışmalar konvansiyonel yöntem ile pulse RF yöntemi arasında 3. fazın süresi yönünden bir farklılık bulunmadığını belirtirken bazıları da pulse RF uygulamasının daha kısa sürede iyileşmeyle sonuçlandığını belirtmektedir (20).
- ✓ **4. faz, rekürrens fazı:** Hastanın eski ağrılarının yeniden ortaya çıktığı dönemdir.

2.2.3. Konvansiyonel ve pulse RF uygulamalarının karşılaştırılması

Konvansiyonel RF'de ısı ile doku hasarı oluşturulurken, pulse RF tekniği klinik olarak gözlemlendiği kadarıyla nondestrüktif bir uygulamadır (97).

Konvansiyonel RF'de yeterli lokal anestezi uygulamak gereklidir. Aksi takdirde girişim ağrılı olabilir, uygulamayı takip eden dönemde nörit benzeri reaksiyon gözlenebilir ve duysal kayıplar meydana gelebilir. Uygulama bölgesi bir kemiğin komşuluğunda bulunuyorsa yada doku homojen değilse lezyon

boyutu çok daha büyük olabilir. Ayrıca elektrodun yanlış bölgeye yerleştirilmesi durumunda istenmeyen hasarlar (örn: ön motor sinir hasarı) oluşabilir (35).

Pulse RF nondestrüktif bir yöntem olduğu için, konvansiyonel RF'in uygulanamadığı bazı klinik durumlarda (nöropatik ağrı, C8'in arka kök ganglionu, motor lifleri olan periferik sinirler) uygulanabilir. Girişim genel olarak ağrı oluşturmaz, girişimden sonra uygulama bölgesinde bir rahatsızlık hissi olsa da bu konvansiyonel RF'e kıyasla oldukça düşük düzeydedir (93).

Pulse RF uygulamalarından sonra nörit benzeri reaksiyon ve duysal kayıplar oluşmaz. Uygulama bölgesinin kemik veya skar dokusu komşuluğunda olması pulse RF'in komplikasyon olasılığını değiştirmez (93).

Pulse RF tekniği elektrot ucundan uzak bir bölgede etki oluşması amaçlanıyorsa uygun bir yöntem değildir. Çünkü ısı çevreye yayıldığı halde elektromanyetik alan çevreye yayılmaz (36).

2.2.4. Periferik sinirlerin yapı ve fonksiyonları

İnsanlardaki sinir sistemi milyarlarca nöron ve bunları oluşturan primitif nöroeffektör hücrelerden ibarettir. Sinir sisteminde bulunan nöroeffektör hücreler kontraksiyon yoluyla değişik uyarıları karşılar ve bu uyarıları iletir.

Sinir sistemi 2 alt başlıkta incelenir. Beyin ve medulla spinalis merkezi sinir sistemini oluşturur. Sinir lifleri ve sinir hücrelerinin küçük kümeleri olan sinir ganglionları ise periferik sinir sistemini oluşturur (37,38).

Ayrıca sinir dokusunda iki farklı hücre tipi bulunur. Bunlar sinir lifleri içeren nöronlar ve nöroglia hücreleridir. Nöroglialar; nöronları koruyan, destekleyen, nöral aktiviteye ve nöral beslenmeye katılan, merkezi sinir sisteminin savunmasını, miyelinizasyonu sağlayan hücrelerdir (37-39).

Sinir lifleri ektodermden köken alan miyelin ismi verilen özel kılıflarla sarılabilen aksonlardan oluşur. Aksonlar merkezi sinir sistemi traktuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Miyelin kılıfını; periferik sinir liflerinde Schwann hücreleri oluştururken, merkezi sinir liflerinde ise oligodendrositler oluşturur. Küçük çaplı aksonlarda çoğunlukla miyelin bulunmamaktadır. Giderek çapı kalınlaşan aksonlar ise genellikle artan sayıdaki konsantrik miyelin lamelleri ile

sarılmaktadır. Sinirsel uyarının aksonal iletim hızı ise büyük çaplı ve kalın miyelinli aksonlarda çok daha hızlıdır (37, 40-46).

Miyelin

Miyelin kılıf aksonun çevresini sarar ve impuls iletim hızını arttırır. Sinirler boyunca oluşan impuls iletim hızı aksonun direnci ve elektriksel kapasitesi tarafından sınırlandırılmaktadır. Çünkü geniş aksonların kapasitesi dar aksonlardan çok daha düşüktür. Aksonun çapındaki artış, sinir iletim hızında artış anlamına gelmektedir.

Elektriksel kapasitenin izolasyonu ve redüksiyonu miyelin kılıfı aracılığıyla yapılmaktadır. Merkezi sinir sisteminde oligodendrosit, periferik sinir sisteminde Schwann hücresi olarak adlandırılan bu hücreler aksonların etrafını sararak lipitten zengin membran bir tabaka oluştururlar. Bir Schwann hücresi yalnızca bir aksonun miyelinizasyonunu sağlayabilirken, aksine bir oligodendrosit hücresi çok sayıda komşu aksonun miyelinizasyonunu sağlayabilir. Fakat miyelin yapısında farklılıklar bulunmaktadır (41,44,46).

Miyelinli aksonlar

Miyelin kılıfın meydana gelmesinde ilk aşama aksonun Schwann hücresine penetrasyonu ile başlar. Bu penetrasyon ile karşılıklı gelen Schwann hücre membranları, mezaksonu oluşturmak için bir araya gelir ve böylelikle her iki kenarın plazma membranları birleşir. Mezakson aksonun çevresinde birkaç kez dolanır, bu dolanma sayısı miyelin kılıfın kalınlığını belirler. Aksonların her biri Schwann hücreleriyle çevrilidir (40, 41, 47-50). Miyelin kılıf bazı noktalarda kesintiye uğrar. Bu bölgelere Ranvier Boğumu denir (51). Ranvier boğumu aksonun uzunluğu boyunca komşu Schwann hücreleri arasında bulunan boşluklardır. İki boğum arası uzaklığa internod denir ve bir Schwann hücresi tarafından meydana getirilir. Aksonun çapına göre internod uzunluğu ve miyelin kılıf kalınlığı değişebilir. Fakat bir miyelin kılıfın kalınlığı bir akson boyunca sabittir. Işık mikroskopik incelemelerde görülebilen Schmidt-Lanterman yarıkları ise miyelin kılıftaki koni şekilli, dıştan içe doğru uzanan, heliks biçiminde sitoplazmik tünellerdir (44, 52-54).

MSS’de miyelin kılıf oligodendrositlerin uzantılarıyla oluşur. Oligodendrositler Schwann hücrelerinden farklıdır. Bir hücrenin farklı dalları birden çok aksonun segmentini çevrelerler. Merkezi sinir sisteminde Ranvier Boğumları görülmeyebilir ve Schmidt-Lanterman yarıkları yoktur (41,44, 47-50, 52,55).

Miyelinsiz aksonlar

MSS ve PSS’nin her ikisinde de aksonların tümü miyelin kılıf ile örtülmemiştir. PSS’de tüm miyelinsiz aksonlar Schwann hücrelerinin oluşturduğu basit bir örtüyle çevrenmiştir (44,45,51,56,57). Miyelinsiz sinir liflerinde Ranvier Boğumu bulunmaz (40,44,53,57). Bitişik Schwann hücreleri, daimi bir kılıf oluşturmak amacıyla longitudinal olarak birleşirler. Özellikle MSS, miyelinsiz aksonlardan zengin bir yapıya sahiptir (44,51,57).

Schwann hücreleri

Schwann hücreleri şekil olarak üçgen görünümlü, oval bir nükleus içeren hücrelerdir. 9. güne kadar Schwann hücreleri uzun bir görünüme sahip olup, kendilerine ait aksonlarla beraber tanımlanırlar. Miyelinizasyon safhasında sitoplazmasında, GER, poliribozomlar, iyi gelişmiş golgi kompleksi, hücre iskeletinin elemanter yapılarını barındırırlar. Miyelinizasyon safhasındaki sitoplazmik uzantılar, spiralleşme göstererek artan sayıda aksonun etrafını sararlar. Bu sitoplazmanın kalıntıları sadece Schmidt-Lantermann ve paranodal bölgede miyelinizasyonu meydana getirir (51, 58-62).

Sinirler

Periferik mikst (hem motor, hem de duysal lifler taşıyan sinir) bir sinirin enine kesitleri incelendiğinde en dışta, sinirin tamamını örten epinöryum tabakası bulunur. Epinöryumun hemen altında gruplar halinde motor ve duysal aksonları barındıran fasiküller bulunur. Bir periferik sinir içinde yaklaşık olarak 3-5 fasikül bulunur. Fasikülü perinöryum tabakası çevreler. Periferik sinir boyunca fasikülün lif içeriği değişir. Yani, bir fasiküldeki sinir lifi, periferik sinir boyunca bir başka fasiküle geçebilir. Fasikülün içinde aksonların arasındaki bağ dokuya ise

endonöryum denilir. Periferik sinirler içindeki kanı taşıyan kapiller damar sistemine ise vasa nervorum adı verilir. Bir periferik sinirde hücre gövdesi ve aksonu bulunur. Hücre gövdeleri arka kök ganglionunda veya omurilik ön boynuzda yerleşim gösterirken, aksonun boyu 1 metreyi aşabilir. Miyelinli liflerde aksonun etrafını miyelin kılıf örter.

2.2.5. Sinir liflerinin histofizyolojisi

Bir sinir dokusunun işleyişi sinir impulslarının üretimi, taşınması ve özel sinir hücrelerinde üretilen nörotransmitterlere bağlıdır. Hücre membranı üretilen bu impulsların iletimi için çok önemli bir yer tutar.

Dinlenme Potansiyeli: Hücre içi iyon konsantrasyonları, hücre dışı sıvının iyon konsantrasyonundan farklıdır. Bir nöronda bulunan K^+ konsantrasyonu, hücre dışı sıvıdaki konsantrasyonundan yaklaşık olarak yirmi kat fazladır. Na^+ iyonları ise hücre dışında hücre içine oranla on kat daha fazladır. Hücre membranı K^+ iyonuna daha geçirgendir. Sonuç olarak pozitif yüklü iyonlar membranın dış yüzeyinde toplanır ve hücredeki negatif yüklü makromoleküllerle dengelenir. Bu olay, difüzyon kuvvetinin dengelenip, pozitif yükün pozitif alana geçişinin zorlaştığı zamana kadar devam eder. Bu andaki hücre membranı yüküne dinlenme membran potansiyeli adı verilir (37).

Hücre içi ve hücre dışı arasında oluşan bu konsantrasyon farklılıkları Na^+ - K^+ pompalarıyla sürdürülür. Bu pompanın işlemesi için ATP kullanılır. Çünkü bu olay enerji gerektiren aktif bir transport işlemidir. ATP-az enzimi, hücre içindeki Na^+ iyonlarını hücre dışındaki K^+ iyonlarıyla değiştirir (37,63).

Aksiyon Potansiyeli: Nöronların kas hücrelerinin plazma membranları iyon seçici kanal olarak işlev gören integral membran proteinleri içermektedir. Herhangi bir zamanda bu kanallar açık, kapalı veya inaktive halde bulunabilir. Açık veya kapalı olmasını belirleyen ise membran potansiyelidir. Bu kanallar voltaj kapatan kanallar olarak adlandırılırlar (37).

Dinlenme fazında membran potansiyeli yaklaşık olarak 90 mV'tur ve çoğu Na^+ ve K^+ kanalları kapalı konumdadır. Post-sinaptik hücredeki eksitator sinaptik

girişin bir sonucu; hücrenin kısmi depolarizasyonudur. Membran potansiyeli 0 mV'a doğru değişir. Depolarizasyon kritik bir seviyeye geldiğinde(eşik), Na^+ kanalları açılır ve Na^+ iyonunun geçmesini sağlar. Bu, hücreyi daha fazla depolarize ederek daha çok sayıda Na^+ kanalının açılmasına yol açar. Bu safhada, membran potansiyelinde tersine bir değişiklik olur. Na^+ kanalları bundan sonra spontan olarak inaktive olur ve mevcut halde 1-2 milisaniye kadar kalır (37).

Membran potansiyelinde olan değişiklikler ile K^+ kanalları da açılır. Fakat bu uzun bir zaman periyodunda meydana gelir. Açılan potasyum kanalları membran potansiyelini orijinal düzeyine getirir, hatta daha da altına indirebilir (hiperpolarizasyon). Bu olaylar, aksiyon potansiyeli eşiğin üzerinde bir uyarım yapınca dek sabit bir şekilde devam eder. 1-2 milisaniye sonra (refrakter period) kanallar orijinal durumlarına döner ve membran yeniden bir uyarıya açık hale gelir. Aksonlar saniyede bin kez aksiyon potansiyeli üretebilme kapasitesine sahiptir (37,64).

2.2.6. Sinir lif tipleri ve işlevleri

Periferik sinir lifleri kalınlık ve ileti özellikleri temel baz alınarak başlıca üç ana gruba ayrılır: A, B ve C lifleri. A grubu da kendi içinde alfa (α), beta (β), gama (γ) ve delta (δ) liflerine ayrılır (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 ile ısı duyularını da iletirler. Kas içciklerinden gelen afferent lifler, derinin kalın miyelinli hızlı ileten duysal afferentleri ile omurilik ön boynunda bulunan motor hücrelerin kaslara giden efferent lifleri bu gruptadırlar. B lifleri daha ince miyelinli lifler olup preganglionik otonomik efferent lifleri içerir. C lifleri küçük çaplı miyelinsiz liflerden oluşur. Postganglionik otonomik efferent lifler ile ağrı, ısı duyusunda görevli somatik afferent liflerin çoğunluğu bu grupta bulunurlar. Diğer lifler olasılıkla omurilik ve beyin sapında entegre edilen refleks yanıtlarla ilişkilidir (37,55,65,66). En kalın miyelinli aksonların çapları 20 μm iken miyelinsiz aksonların çapları 0.2-3.0 μm arasındadır ve en çok 1.5 μm kadardır.

İletim hızı ve lif çapındaki farklılıklar dışında, periferik sinirlerdeki liflerin çeşitli sınıfları hipoksi ve anestezi maddelere duyarlılıkları açısından da farklılık

gösterirler. Lokal anestezipler A grubundaki dokunma liflerini etkilemeden önce C grubundaki liflerin iletimini baskırlar. Aksine, sinir üzerinde oluşturulan bası, liflerdeki motor, dokunma ve basınç iletiminin kaybına sebep olur ve ağrı duyusu nispeten sağlam kalır (40).

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 MSS'den farklı olarak PSS'de hem dejenerasyon, hem de rejenerasyon görülmektedir (67-69). Buna bağlı olarak periferik sinir sisteminde üç farklı dejenerasyon şekli izlenir:

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

Wallerian dejenerasyon: Periferik sinirin aksonunun herhangi bir yerinin herhangi bir nedenle (travma, infarktüs, uzamış veya şiddetli baskı gibi) hasar görmesi ve bütünlüğünün bozulması sonucu ile meydana gelen zararlanmadır. Aksonun kesintiye uğradığı yerin distalinde akson ve ardından çevresindeki

miyelin kılıfta dejenerasyon meydana gelir, makrofajlarla fagosite edilir. Aksonun hasarlı bölgesinin proksimalinde kalan kısmı ve periferik sinir hücre gövdesi sağlam kalır. Periferik sinir hücresinin aksonu kesintiye uğradığında meydana gelecek olan Wallerian dejenerasyonun belirli bir zaman alır. Bu süre 4 - 11 gün arasında değişebilir. Akson ne kadar distalde kesintiye uğramışsa Wallerian dejenerasyon da o kadar erken gelişir. Wallerian dejenerasyonunda ilk günlerde aksonun hasarının distalinde kalan kısmı elektrikle tamamen normal bir şekilde uyarılabilir. Sonrasında hasar yerinin, aksonun ucuna uzaklığına göre, değişen bir süre içinde, sinirin uyarılabilirliği azalır ve en çok 11 gün içinde sinir uyarılamaz duruma gelir. Motor sinirlerde ise sinir uyarımı sonrası kastan alınan yanıt, nöromüsküler kavşağın periferik sinirden iki gün daha önce dejenere olması sebebiyle, hasarın en geç 9. gününde kaybolur. Sinir kılıfının devamlılığının korunmuş olması durumunda, 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 kıyasla daha ince miyelinlidir ve internodal aralıklar daha kısadır.

Aksonal dejenerasyon: Periferik sinir hücre gövdesi yada aksonunun hasarı mevcuttur. Sebep çoğunlukla metabolik veya toksiktir. Prognozu en kötü olan dejenerasyon tipidir. Periferik sinir hücresi canlılığını yitirmişse artık geri dönüş yoktur. Eğer sebep, aksonun bütünlüğü bozulmadan ortadan kaldırılırsa akson haftalar ya da aylar içerisinde fonksiyonuna geri dönebilir. Dejenerasyon alt uçtan ya da periferde aksonun ucundan başlar ve hücrenin gövdesine doğru ilerler. Buna “dying back” denir. Çoğunlukla, hücre gövdesinde kromatoliz olur. Aksonal dejenerasyonun devam ettiği bölgede wallerian dejenerasyondan daha az Schwann hücre çoğalması izlenmiştir (51,67,70-73).

Nöron fonksiyon bozukluğu durdurulur ya da geriye döndürülürse rejenerasyon ve biraz iyileşme sağlanabilir. Eğer, büyümeleri için bir engel yoksa, yenilenen aksonlar dejenere aksonu sindirirken geride kalan Schwann hücreleri ile beraber sinir gövdesinden aşağıya doğru günde 1 mm’lik hızla büyürler (69-73).

Segmental dejenerasyon: Miyelinli sinir liflerinde, periferik sinir aksonunda bir hasar meydana gelmeksizin etrafındaki Schwann hücresinde veya miyelin kılıfında hasar söz konusudur. Demiyelinizasyon, hereditör nöropatilerdeki gibi tüm sinir boyunca olabilir ya da edinsel demiyelinizan durumlarda (Guillain-Barré Sendromu veya kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati gibi) belirli bir sinir segmentinde söz konusu olabilir. Demiyelinizasyondan sonra kalan Schwann hücrelerinin çoğalması ile remiyelinizasyon meydana gelebilir. Tekrarlayan miyelin kaybı ve yenilenmesi atakları oluşabilir ve tabakalar şeklinde birbirini izleyen Schwann hücresi ve kollojen, hipertrofik nöropatide gözlenen konsantrik dizilimler meydana getirirler (67, 71-76).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapmış olduğumuz bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı tarafından yürütüldü. 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 60 adet dişi *rattus norvegicus* cinsi rat çalışmaya alındı. Ratlara genel anestezisi için ketamin hydrochlorid 0,15 mg/kg + %2'lik Xylazin hydrochlorid 0,02 mg/kg intraperitoneal uygulandı. Genel anestezi uygulandı ve ardından, cerrahi girişim için ratlar prone pozisyonunda yerleştirildi. Abdominal ve sağ gluteal bölgeleri tıraş edilerek cilt açığa çıkarıldı. PVD iyodin ile cilt silinerek operasyon sahasının sterilizasyonu sağlandı. Ratların abdominal bölgesine çalışmada kullanılan radiofrekans aygıtının nötr plağı yapıştırıldı. Ardından gluteal bölge antiseptik solüsyonla silinerek steril olarak örtüldü. Cerrahi insizyon ile cilt, cilt-altı geçildi ve siyatik sinire ulaşıldı. 22 gauge, aktif ucu 5 mm RF elektrotu kullanıldı ve elektrot sinire hasar vermeyecek şekilde yerleştirildi. İğnenin diğer ucu RF cihazına yerleştirildi. Empedans değerinin ölçümü için beklendi ve 300-700 ohm olduğu görüldükten sonra elektrik stimülasyonu verilerek sıçanlarda motor hareket gözlemlendi. Sıçanlar verilen elektrik stimülasyonu süresi ve yöntemine göre çeşitli gruplara ayrıldı.

6 grup oluşturuldu;

- 1. grup kontrol grubu (n:10) olarak siyatik sinirleri disseke edildi; fakat herhangi bir ek işlem yapılmadı.
- 2. grup sham grubu (n:10) siyatik sinirlere RF elektrodu konuldu, başka bir işlem yapılmadı.
- 3. gruptaki (n:10) ratların siyatik sinirine RF elektrodu konuldu ve 120 saniye boyunca 42°C'de PRF akımı uygulandı.
- 4. gruptaki ratların (n:10) siyatik sinirine RF elektrodu yerleştirildi ve 240 saniye boyunca 42°C'de PRF akımı uygulandı.

- 5. gruptaki (n:10) ratların siyatik sinirine RF elektrodu yerleştirildi ve 120 saniye boyunca 42°C’de KRF akımı uygulandı.
- 6. gruptaki (n:10) ratların siyatik sinirine RF elektrodu yerleştirildi ve 240 saniye boyunca 42°C’de KRF akımı uygulandı.

Tablo 3.1. Deney grupları.

	Denek sayısı	Uygulanan işlem türü	Sıcaklık	Süre
1. Grup Kontrol	10	-	-	-
2. Grup Sham	10	Elektrot yerleştirildi, frekans verilmedi.	-	-
3. Grup	10	PRF	42°C	120
4. Grup	10	PRF	42°C	240
5. Grup	10	CRF	42°C	120
6. Grup	10	CRF	42°C	240 sn

Deneyden 48 saat sonra ratların siyatik sinirlerinden örnekler alındı.

2 gün yaşatılan ratlarda; her sinire yapılan uygulama sonrası, insize edilen katlar tek tek 4/0 kromik katgüt ile, deri ise USP 3/0 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. Alınan örnekler uygun fiksatiflerde tutularak hem ışık, hem de elektron mikroskobu (EM) takibine yönlendirildi.

Işık ve Elektron Mikroskopik İnceleme

Kardiyak perfüzyon sonrasında sinir örneklerinden alınan 1 mm³ büyüklüğündeki dokular önce %2.5 gluteraldehit solüsyonunda (fosfat tamponda hazırlanmış) +4°C’de 1 gece süre ile tespit edildi. Fosfat tampon ile yıkanan doku örnekleri aynı tampon ile hazırlanmış %1 osmiyum tetroksit solüsyonu ile +4°C’de 1 saat süreyle tespit edildi. Fosfat tampon solüsyonu ile yıkamadan sonra, dehidratasyon işlemi yapıldı ve infiltrasyon için propilen oksit uygulanan dokular karışıma alıştırma sürecinden geçirildi. *Araldite* karışımına (*Araldite CY*

212 20 ml, DDSA 22 ml, BDMA 1.1 ml, Dibutilphtalate 0.5 ml) gömüldü. Elde edilen bloklar 60°C'de 48 saat tutularak polimerizasyon işlemi tamamlandı ve bloklardan yarı-ince kesitler alınarak toluidin mavisi boyası ile ışık mikroskop altında değerlendirildi. Ultramikrotom da alınan 30-60nm kalınlıkta ince kesitler, uranil asetat-kurşun sitrat ile kontrastlanarak Transmission Electron Microscope (TEM-Zeiss) ile incelenip görüntüler digital ortama alındı. Hem yarı ince kesitlerde, hem de TEM görüntülerinde morfometrik analizler yapılarak miyelin hasarı ve sinirde oluşan dejeneratif değişiklikler değerlendirildi.



4. BULGULAR

Tüm deneklerin, deney öncesi yapılan fizik muayanelerinde motor ve duysal fonksiyonların normal olduğu saptandı.

Deneklerin hiç birinde postoperatif yara yeri enfeksiyonu meydana gelmedi.

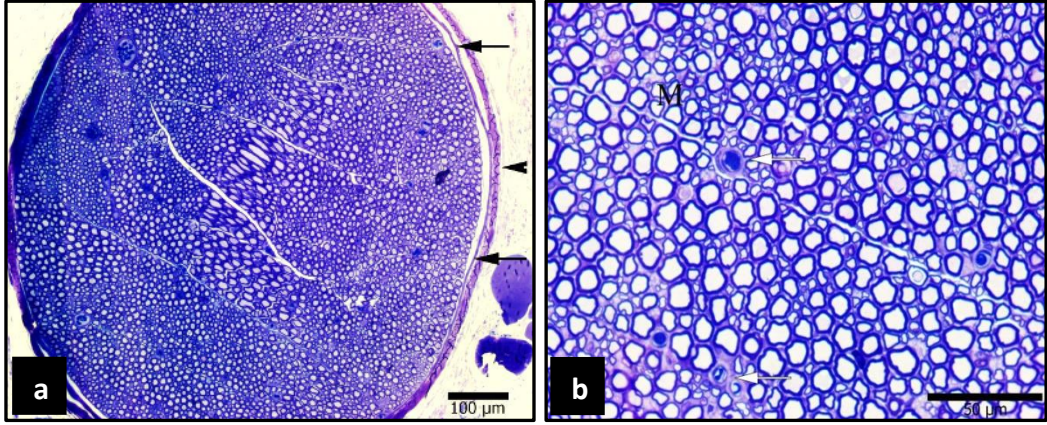
Tüm gruplardan alınan siyatik sinir örneklerinden elektron mikroskopik inceleme için hazırlanan plastik bloklardan yarı ince kesitlerde ışık mikroskopik, ultra ince kesitlerde ise geçirimli elektron mikroskopik (TEM) incelemeler yapıldı. Işık mikroskopik gözlemlerde sinirin bağ dokusu kılıfları, sinir içerisi ve kılıflarda lökosit infiltrasyonu parametreleri değerlendirildi. Elektron mikroskopik incelemelerde miyelinli ve miyelinsiz akson yapıları, Schwann hücresi ince yapıları ve intranöral damar duvarı özellikleri incelendi.

Histolojik Bulgular

1. Grup; Kontrol Grubu

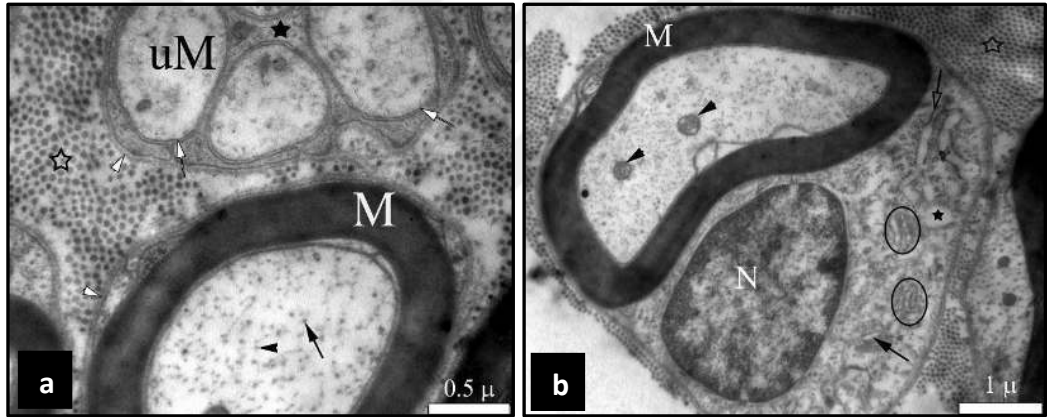
Hiçbir işlem uygulanmayan ratlardan diseke edilen siyatik sinirler ışık mikroskopunda incelendiğinde, sinir liflerinin normal görünümüne sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1.). Sinir lifleri ve miyelin kılıfları normal görünümde izlendi. Kontrol grubuna ait siyatik sinirde miyelinli ve miyelinsiz liflerin elektron mikroskopik incelemesinde her iki lif yapısında aksoplazma içerisinde nörotübül ve nöroflaman yapıları normal görünümde görüldü. Miyelin kılıf bütünlüğü ve endonöryal bağ dokusunda kollajen lifler normal düzeninde izlenmiştir. Miyelinsiz lifleri çevreleyen Schwann hücresi uzantıları ve stoplazması hücre membranı ve aksolemma net olarak ayırt edilmektedir. Her iki lifte de Schwann hücresinin sürekli bazal laminası izlenmektedir (Şekil 4.2.).

Yapılan intranöral damar yapısı incelemelerinde (Şekil 4.3.), endotel ve perisit yapısı, endotel ve perisit bazal laminası bütünlüğünün değişmediği, sıkı bağlantıların normal görünümde olduğu izlendi. Damar çevresinde ve endonöryumda herhangi bir lökosit örneğine rastlanmadı.

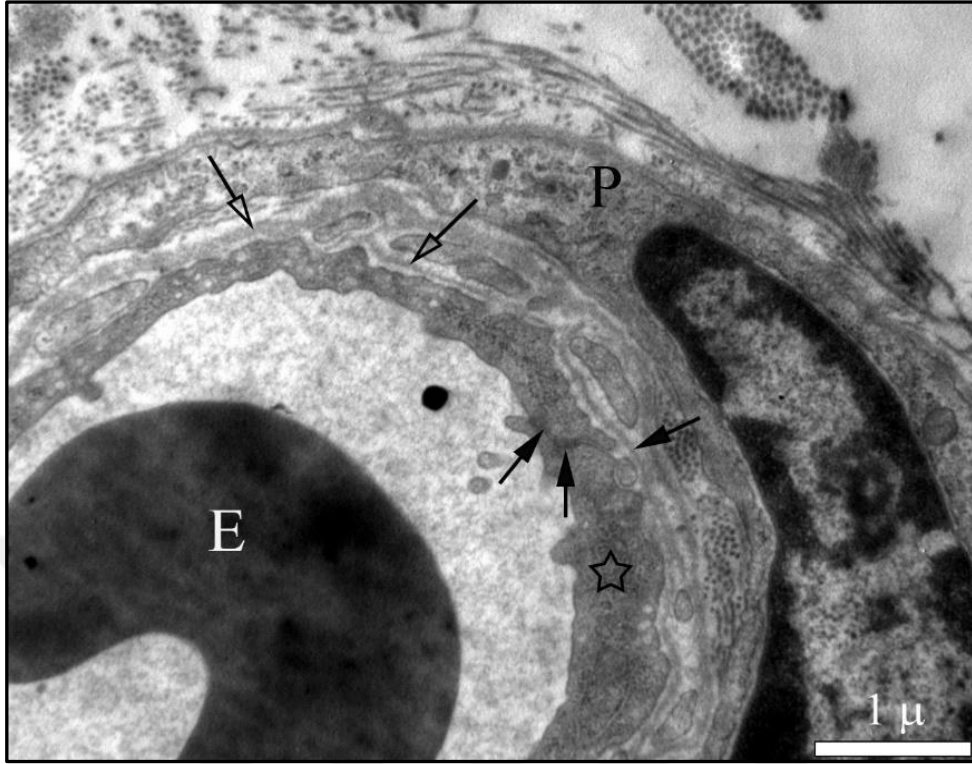


Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen ışık mikroskopik görüntüler. **a)** Siniri çepeçevre saran Epinöryum (ok başı) ve perinöryum (oklar) ve **b)** yüksek büyütmede miyelinli aksonlar (M)ve intranöral kapillerler (içi boş oklar) izlenmekte (Toluidin mavisi).

Kontrol grubu elektron mikroskobu bulguları



Şekil 4.2. a) Kontrol grubuna ait siyatik sinirde miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) liflerin elektron mikrografı: Her iki lif yapısında aksoplazma içerisinde nörotübül (dolu ok) ve nöroflaman (dolu ok başı) yapıları normal görünümde, Miyelin kılıf bütünlüğü ve Endonöryal bağ dokusunda kollajen lifler (boş yıldız) normal düzeninde izlenmekte. Miyelinsiz lifleri çevreleyen Schwann hücresi uzantıları ve sitoplazması (dolu yıldız) hücre membranı (boş oklar)ve aksolemma net olarak ayırt edilmekte. Her iki lifte de Schwann hücresinin sürekli bazal laminası izlenmekte, **b)** Endonöryal kollejen lifleriyle (boş yıldız) çevrili miyelinli akson (M), aksoplazmasında mitokondriyonlar (ok başları), aksonu kılıflayan organel bakımından zengin sitoplazmasıyla heterokromatik bir nukleusa sahip Schwann hücresi, Golgi kompleksi (çember), geniş GER sarnıçları (boş ok), sitoplazmik veziküller (dolu ok) ve lipid damlacığı (dolu yıldız).



Şekil 4.3. Kontrol grubuna ait intranöronal kapiler. Endotel (yıldız) ve sürekli endotel bazal laminasının (oklar) dışında heterokromatik nükleuslu bir perisit (P) bulunduran klasik kapiler örneği sergilemekte. Damar lümeninde bir eritrosit (E).

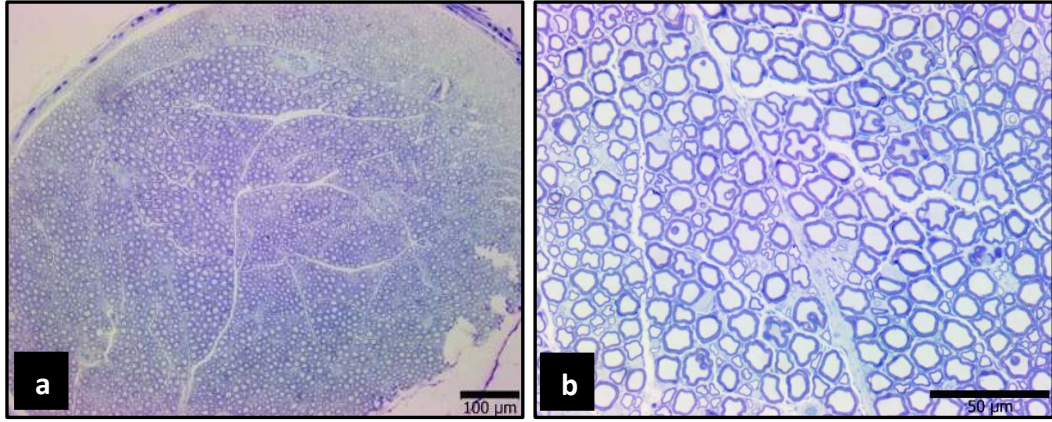
2. Grup; Sham Grubu

Sham grubu (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.) ve deney gruplarına ait örneklerden elde edilen mikroskopik gözlemler kontrollerle karşılaştırılarak (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.) uygulamaların siyatik sinir yapısına etkileri araştırıldı.

Sham grubuna ait örneklerin ışık ve TEM incelemelerinde siyatik siniri oluşturan yapıların kontrollerinkine benzer özellik gösterdikleri belirlendi. Miyelinli ve miyelinsiz sinirlerde aksoplazma da yer alan nöroflaman ve nörotubul yapıları, mitokondriyonlar, veziküller kontrollere benzer morfoloji sergilemekteydiler (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.).

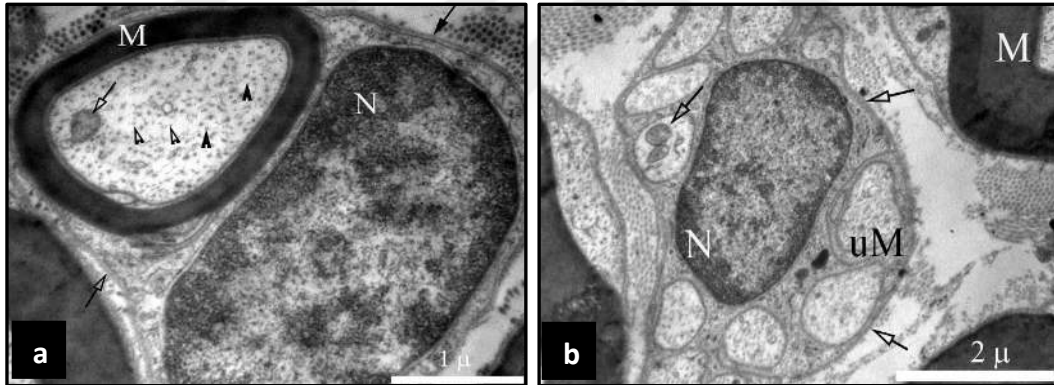
Yapılan intranöral damar yapısı incelemelerinde (Şekil 4.6.), endotel ve perisit yapısı, endotel ve perisit bazal laminası bütünlüğünün değişmediği, sıkı bağlantıların normal görünümde olduğu izlendi. Damar çevresinde ve endonöryumda herhangi bir lökosit örneğine rastlanmadı.

SHAM grubu

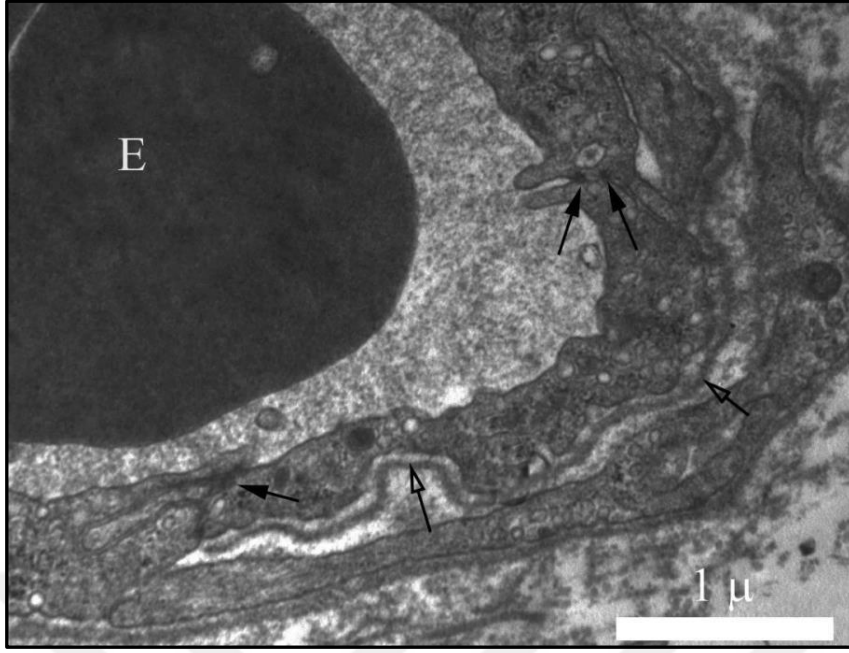


Şekil 4.4. Sham grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen **a)** düşük büyütmede, **b)** yüksek büyütmede ışık mikroskopik görüntüleri (Toluidin mavisi).

SHAM grubu elektron mikroskobu bulguları



Şekil 4.5. Sham grubunda **a)** miyelinli (M) ve **b)** miyelinsiz (uM) sinir lifinde aksoplazma normal yapıda nörotübül (dolu ok başı) ve nöroflaman (boş ok başı) ve mitokondriyon (boş ok) içeriği sergilemekte. Kesintisiz bazal laminası (dolu ok) ve heterokromatik nukleusuyla (N) Schwann hücresi kontrol grubundakine benzer yapı sergilemekte.



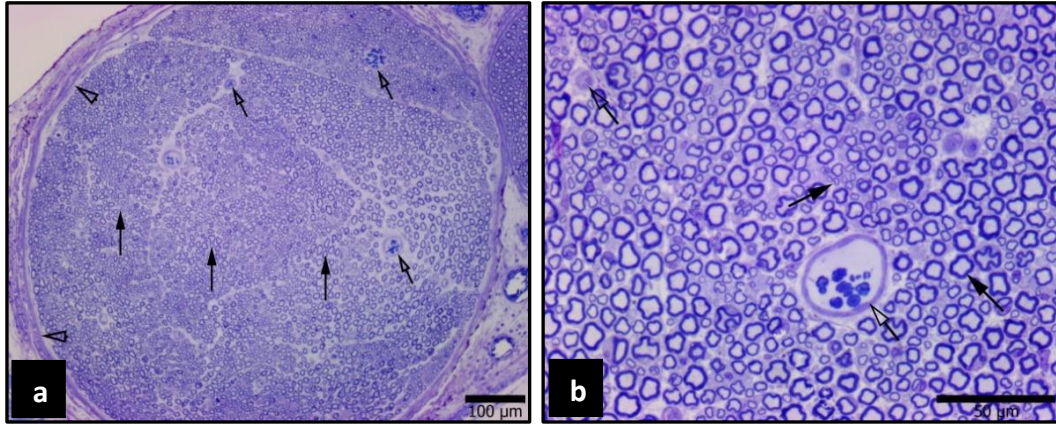
Şekil 4.6. Sham grubunda intranöronal kapiler duvarı endotel uzantıları arasında bütünlüğü bozulmamış bağlantı kompleksleri (dolu oklar) ve sürekli endotel bazal laminasıyla (boş oklar) kontrollerle aynı özellikleri sergilemekte. Eritrosit (E).

3. Grup; 120 sn PRF uygulaması

PRF 120 sn (Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.) uygulanan grupların hem ışık, hem de TEM incelemelerinde siyatik sinir morfolojisinde mikroskopik düzeyde herhangi bir yapısal farklılık izlenmedi. Görüntüler kontrol grubuna (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.) benzer şekildeydi. Miyelin kılıflar bütünlüğünü korumuş, aksoplazmada yer alan norotübül ve nöroflamanlar, mitokondriyon ve veziküller kontrollere benzer şekilde normal görünümdeydi. Miyelin kılıflarda dış ve iç mezaksonlarda herhangi bir şişme ya da açılma söz konusu değildi. Hem miyelinli hem de miyelinli aksonları saran Schwann hücreleri organelleri incelendiğinde nükleusları heterokromatik özelliklerini korumuş, GER sarnıçları ve SER kesecikleri, Golgi cisimciği normal yapılarını korumuştur.

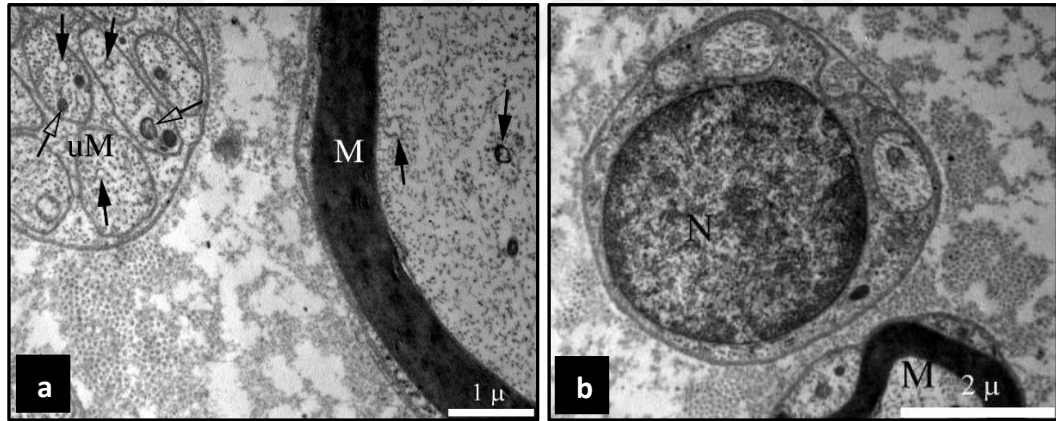
Yapılan intranöral damar yapısı incelemelerinde (Şekil 4.9.), endotel ve perisit yapısı, endotel ve perisit bazal laminası bütünlüğünün değişmediği, sıkı bağlantıların normal görünümde olduğu izlendi. Damar çevresinde ve endonöryumda herhangi bir lökosit örneğine rastlanmadı.

PRF 120 sn grubu

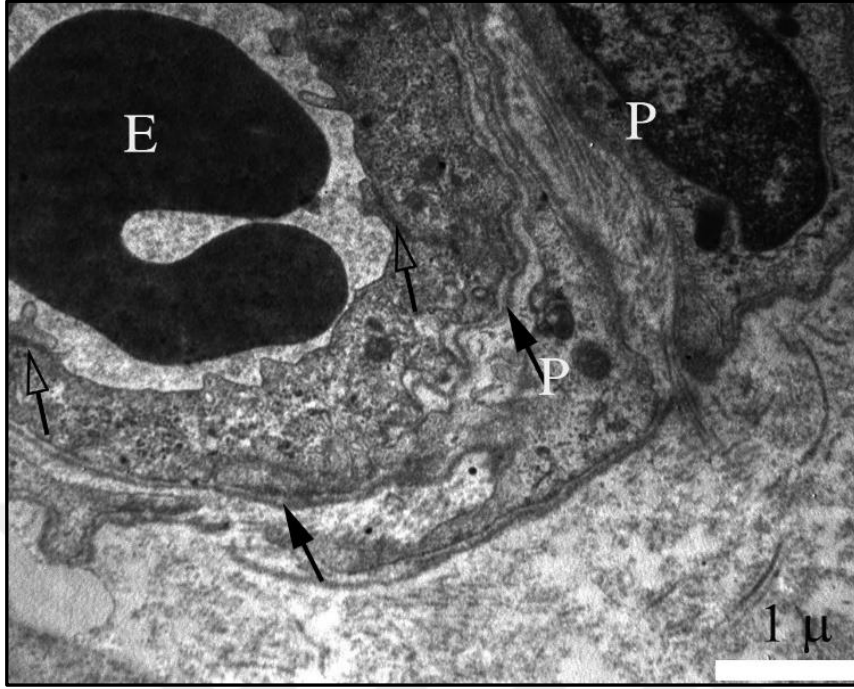


Şekil 4.7. PRF 120 sn grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen **a)** düşük büyütme, **b)** yüksek büyütme ışık mikograflarında perinöryum (boş ok başları), miyelinli aksonlar (dolu oklar) ve intranöronal kapillerler (boş oklar) izlenmekte. Endonöryal bağ dokusunda herhangi bir nötrofil infiltrasyonunun bulunmadığı izlenmekte (Toluidin mavisi).

PRF 120sn grubu elektron mikroskobu bulguları



Şekil 4.8. a) PRF 120 sn uygulamasında siyatik sinir ince yapısı kontrol grubu örneklerine benzer miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) akson özellikleri göstermekteydi. Aksoplazma mitokondriyon (boş oklar) ve veziküler yapılar (dolu oklar) normal görünümdeydiler, **b)** Miyelinsiz aksonlar ve heterokromatik nükleuslu (N) Schwann hücresi normal strüktür göstermekte.



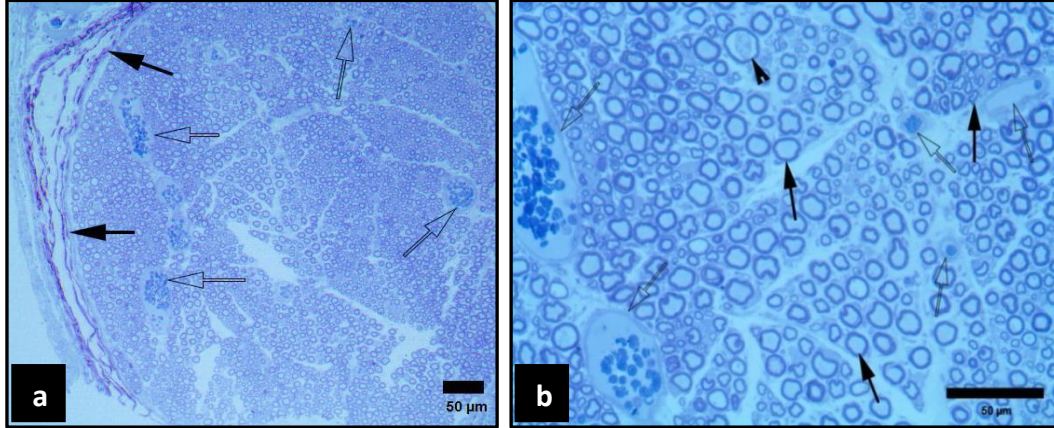
Şekil 4.9. PRF 120 sn grubunda intranöral kapiler endotel hücresi sıkı bağlantıları (boş oklar), sürekli bazal laminası ve sitoplazmik organelleriyle normal görünüm sergilemekte. Perisit (P), Eritrosit (E) ultrastrüktürü uygulamadan etkilenmediği ve kontrol grubuyla benzer yapıda olduğu izlendi.

4. Grup; 240 sn PRF uygulaması

PRF 240 sn (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11.) uygulamalarında siyatik sinir örneklerinde genel olarak yapısal anormallik izlenmezken, çok nadir de olsa miyelin kılıf deformasyonları ve özellikle aksoplazmik erime ve elektron dens materyal birikimi gibi anormal görüntülere rastlandı. Tüm örnekler değerlendirildiğinde bu olayın göz ardı edilebilecek kadar nadir görülen anormallikler olduğu kanaatine varıldı.

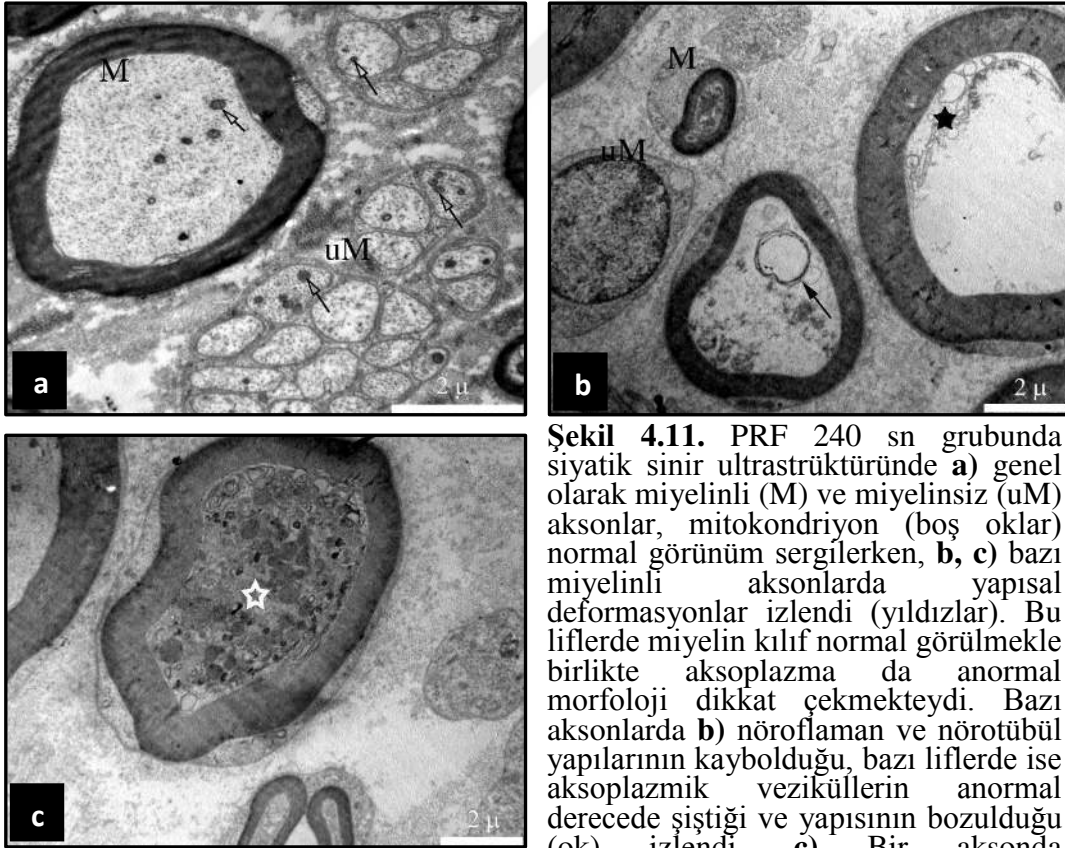
Yapılan intranöral damar yapısı incelemelerinde (Şekil 4.12.), endotel ve perisit yapısı, endotel ve perisit bazal laminası bütünlüğünün değişmediği, sıkı bağlantıların normal görünümde olduğu izlendi. Damar çevresinde ve endonöryumda herhangi bir lökosit örneğine rastlanmadı.

PRF 240 saniye grubu

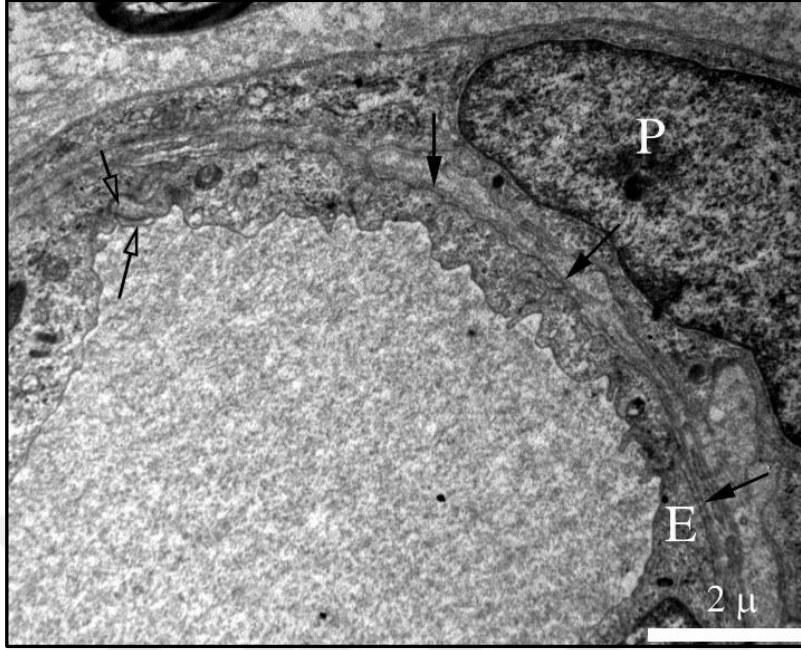


Şekil 4.10. PRF 240 sn grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen **a)** Düşük büyütme ışık mikrogramında perinörium (dolu oklar) normal görünürken dışındaki epinörium teknik hataya bağlı olarak ayrılmış gözükmekte, **b)** Yüksek büyütme mikrogramta intranöronal damarlar ve miyelinli aksonlar normal yapı göstermekte. Çok nadir olarak aksonal büzüşme örnekleri (ok başı) izlenmekte. Endonöryal bağ dokusunda herhangi bir nötrofil infiltrasyonu bulunmamakta (Toluidin mavisi).

PRF 240 sn grubu elektron mikroskobu bulguları



Şekil 4.11. PRF 240 sn grubunda siyatik sinir ultrastruktüründe **a)** genel olarak miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) aksonlar, mitokondriyon (boş oklar) normal görünüm sergilerken, **b, c)** bazı miyelinli aksonlarda yapısal deformasyonlar izlendi (yıldızlar). Bu liflerde miyelin kılıf normal görülmeyle birlikte aksoplazma da anormal morfoloji dikkat çekmekteydi. Bazı aksonlarda **b)** nöroflaman ve nörotübül yapılarının kaybolduğu, bazı liflerde ise aksoplazmik veziküllerin anormal derecede şiştiği ve yapısının bozulduğu (ok) izlendi, **c)** Bir aksonda aksoplazmanın kompakt bir içerikle dolu ve tanımsız elektron dens materyal içeriği dikkat çekiciydi.



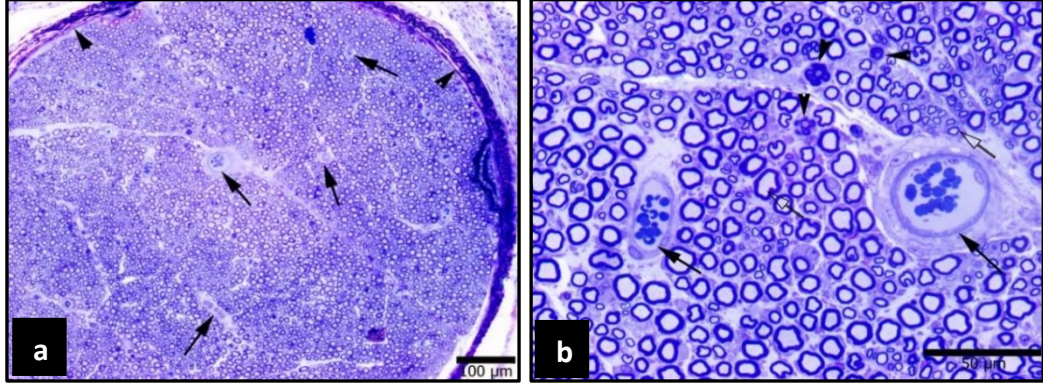
Şekil 4.12. PRF 240 sn grubunda kapiler endoteli (E), sıkı bağlantı kompleksleri (boş oklar), endotel bazal laminası (dolu oklar) ve perisit normal görünüm sergilemekte.

5. Grup; 120 sn KRF uygulaması:

KRF 120 sn (Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.) uygulanan grupta hem ışık hem de TEM incelemelerinde siyatik sinir morfolojisinde mikroskopik düzeyde herhangi bir yapısal farklılık izlenmedi. Görüntüler kontrol grubuna (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2.) benzer şekildedeydi. Miyelin kılıflar bütünlüğünü korumuş, aksoplazmada yer alan norotübül ve nöroflamanlar, mitokondriyon ve veziküller kontrollere benzer şekilde normal görünümdeydi. Miyelin kılıflarda dış ve iç mezaksonlarda herhangi bir şişme ya da açılma söz konusu değildi. Hem miyelinli hem de miyelinsiz aksonları saran Schwann hücreleri organelleri incelendiğinde Nukleusları heterokromatik özelliklerini korumuş, GER sarnıçları ve SER kesecikleri, Golgi cisimciği normal yapılarını korumuştur.

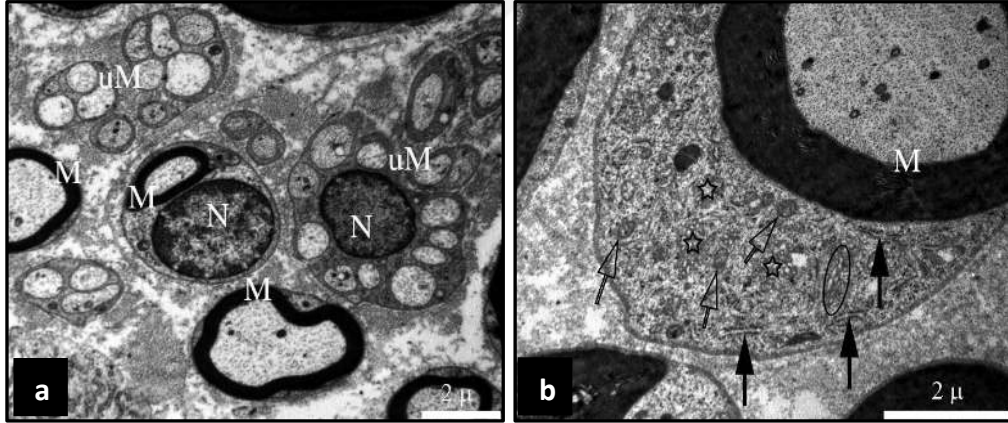
Yapılan intranöral damar yapısı incelemelerinde (Şekil 4.15.), endotel ve perisit yapısı, endotel ve perisit bazal laminası bütünlüğünün değişmediği, sıkı bağlantıların normal görünümde olduğu izlendi. Damar çevresinde ve endonöryumda herhangi bir lökosit örneğine rastlanmadı.

KRF 120 sn grubu

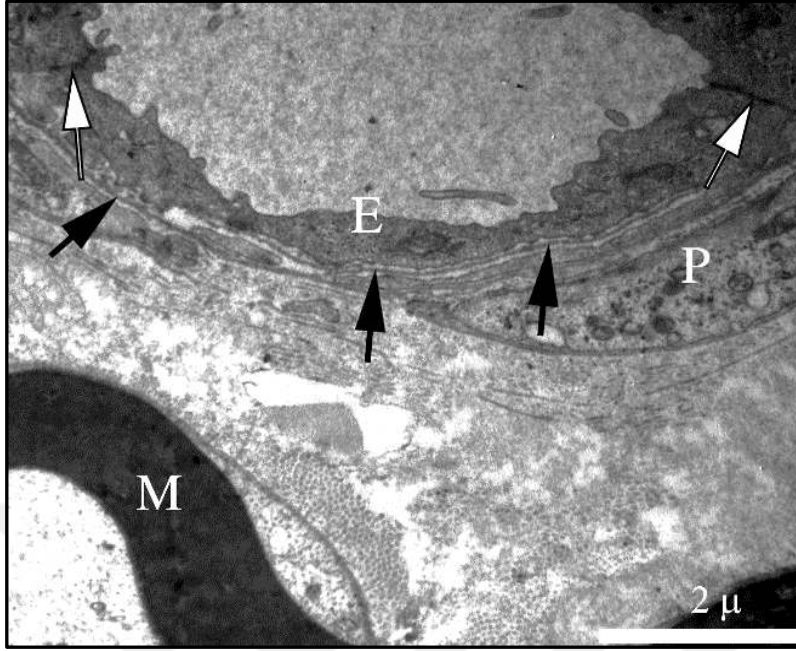


Şekil 4.13. KRF 120 sn grubuna ait siyatik sinir örneğinin yarı ince plastik kesitlerinden elde edilen **a)** düşük büyütme ışık mikrograflarda perinörium (ok başları) ve intranöronal kapillerler (dolu oklar) izlenmekte, **b)** Yüksek büyütme mikrografta intranöronal damar kesitleri (dolu oklar) normal görümlü miyelinli aksonlar (boş oklar) ve anormal görümlü miyelinli aksonlar (ok başları) görülmekte. Endonöryal bağ dokusunda herhangi bir nötrofil infiltrasyonunun bulunmadığı izlenmekte (Toluidin mavisi).

KRF 120 sn grubu elektron mikroskopi bulguları



Şekil 4.14. a) KRF 120 sn uygulamasında siyatik sinir elektron mikrografında miyelinli (M) ve miyelinsiz (uM) aksonlar ve onları saran Schwann hücreleri hetrokromatik nukleuslarıyla (N) kontrollerinkine benzer normal yapı gösteriyor. **b)** Yüksek büyütmede miyelinli akson aksoplazması ve organelden zengin Schwann hücresinde mitokondriyon (boş oklar) ve veziküler SER (yıldızlar) ve GER sarnıçları (dolu oklar) ve Golgi cisimi (çerçeve) normal görünümde izleniyor.



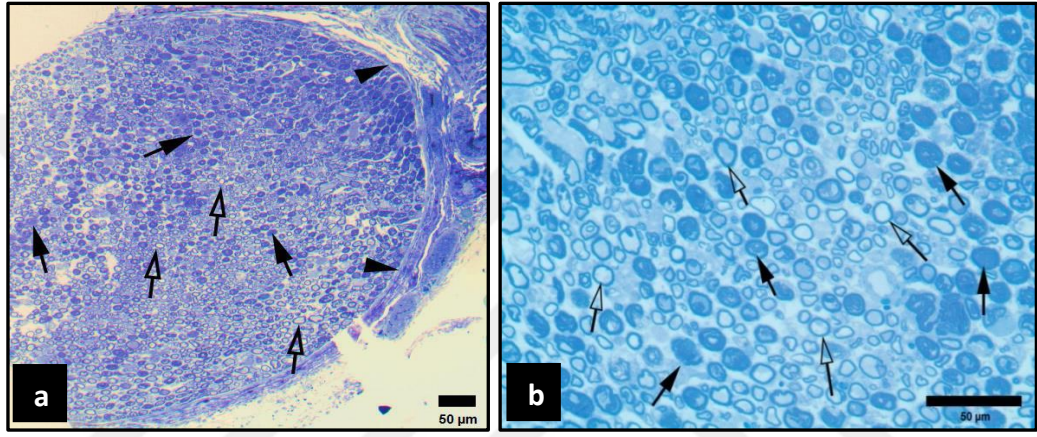
Şekil 4.15. KRF 120 sn grubunda kapiler endotel (E), endotel bazal laminası (siyah oklar) ve sıkı bağlantı kompleksleri kontrollerdekine benzer yapı gösteriyor. Miyelinli akson (M), perisit (P).

6. Grup; 240 sn KRF uygulaması

KRF 240 sn (Şekil 4.16. ve Şekil 4.17.) uygulamasından elde edilen siyatik sinir örneklerinden bazılarında hem ışık hem de elektron mikroskopik incelemelerde miyelinli ve miyelinsiz liflerde yoğun deformasyon örneklerine rastlanıldı. Deformasyonlar; Miyelin kılıf erimesi, tabakalarda açılmalar, aksoplazmik erime, aksoplazma kaybı, mezakson kaybı, endonöryal miyelin kalıntıları şeklinde gözlemlendi. Birçok aksonda nörotübül ve nöroflaman düzeninin kaybolduğu, mitokondri krista erimesi veya büzüşmeler görüldü. Schwann hücrelerinde dramatik bir şekilde yapısal bozulmalar görüldü. Bazal lamina kaybı membran bütünlüğünün bozulması sitoplazmanın endonöryuma dağılması, nükleoplazmada elektron densite artışına bağlı heterokromatik görünümün kaybolması izlenen deformatif değişikliklerdi.

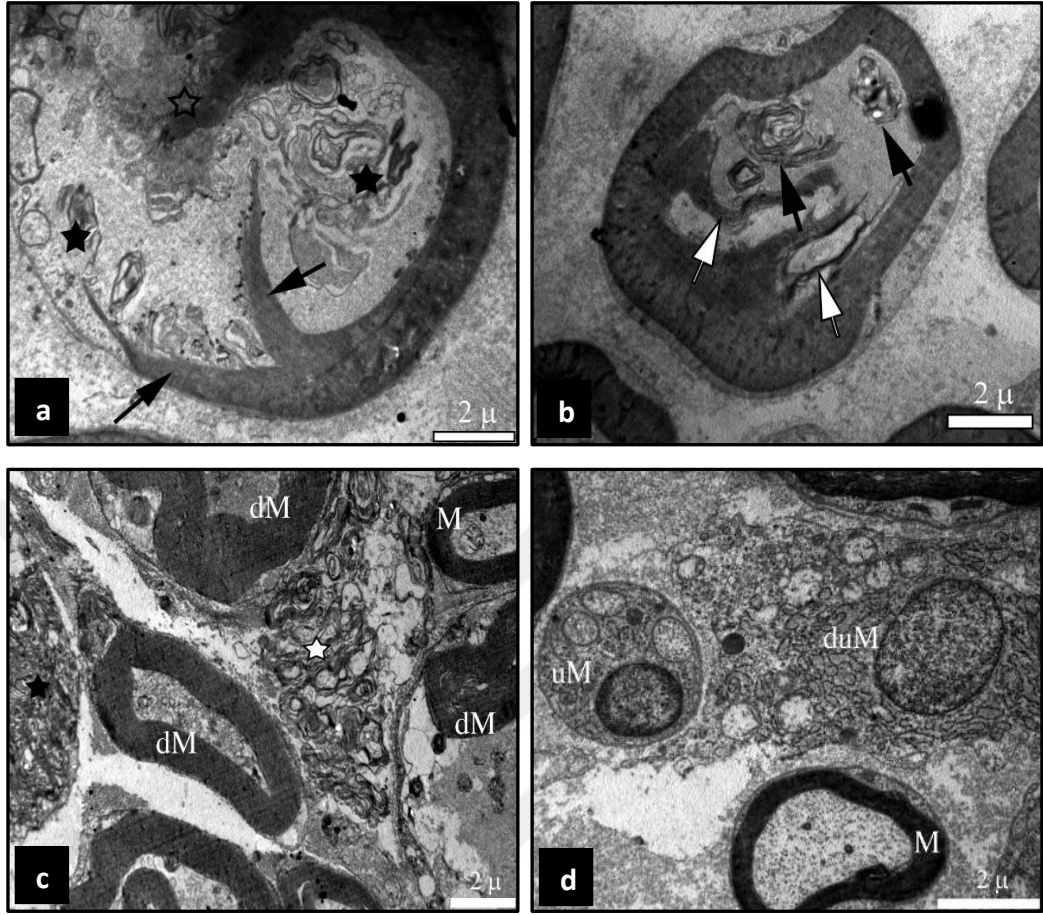
İntranöral damar yapısı incelemelerinde (Şekil 4.18.), endotel ve perisit yapısı, endotel ve perisit bazal laminası bütünlüğünün değişmediği, sıkı bağlantıların normal görünümde olduğu izlendi. Sadece her iki hücrede de mitokondriyal krista erimesi izlendi. Damar çevresinde ve endonöryumda herhangi bir lökosit örneğine rastlanmadı (Şekil 4.18.).

KRF 240 sn grubu

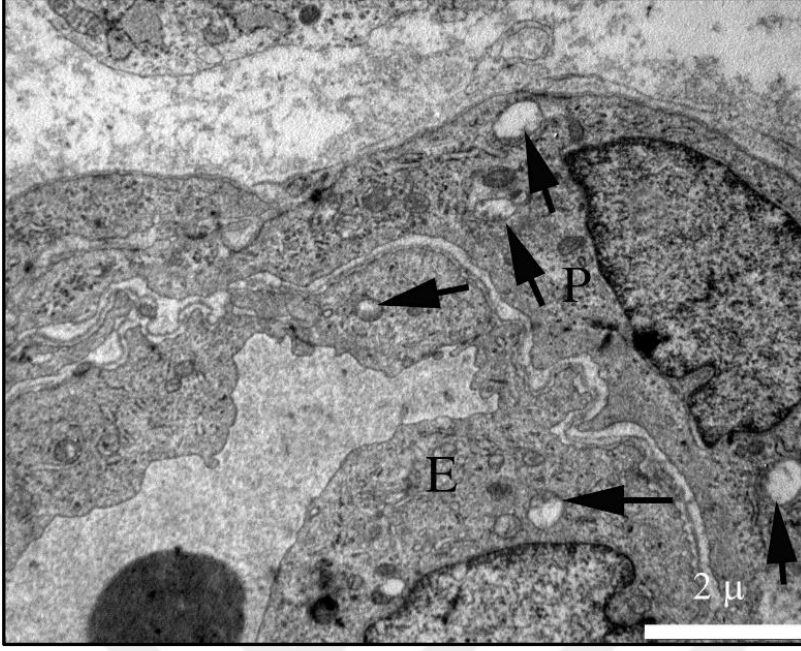


Şekil 4.16. a, b) KRF 240 sn grubu siyatik sinirleri örneklerinde miyelinli akson deformasyonu ışık mikroskobu düzeyinde izlenmekte. Normal görünümlü miyelinli aksonların (boş oklar) yanı sıra yaygın olarak deformatif miyelinli akson örnekleri (dolu oklar) izlenmekte. Perinöryum (ok başları) normal yapıda izlenirken ve endonöryal lokosit infiltrasyonu görülmemekte (Toluidin mavisi).

KRF 240 sn grubu elektron mikroskopi bulguları



Şekil 4.17. KRF 240 sn grubu siyatik sinir elektron mikrografları miyelinli ve miyelinsiz aksonların yapısında şiddetli deformatif değişiklikler oluştuğunu göstermekte. **a)** Miyelin kılıfların parçalandığı (oklar), erimeye uğradığı (boş yıldız) ve aksoplazmanın deforme olduğu, içeriğinde birçok deforme miyelin kalıntısı membranöz yapıların olduğu (d dolu yıldızlar) izlenmekte. **b)** Miyelinli aksonda miyelinin bütünlüğünün bozulup parçalandığı (boş oklar), aksoplazmanın kaybolduğu yerini elektron yoğun materyalin ve miyelin parçalarının dolduğu (dolu yıldız) görülmekte, **c)** Endonöryal bağ dokusu içerisinde miyelin kalıntıları (boş yıldız), deforme olmuş bir Schwann hücresi sitoplazması (dolu yıldız) ve deforme olmuş miyelinli aksonlar (dM) izlenmekte, **d)** Normal (uM) ve deforme olmuş miyelinsiz aksonlar ve onları saran Schwann hücresi (duM) ve normal bir miyelinli akson (M) izlenmekte.



Şekil 4.18. KRF 240 sn grubunda intranöronal kapiler yapısında endotel (E) ve perisit (P) mitokondriyonlarında (oklar) kristal erimeler dikkat çekmekte.

5. TARTIŞMA

Radyofrekans termokoagülasyon (RF) yöntemi kronik ağrı tedavisinde nöroablasyon yaratarak ağrı iletimini durdurmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak yüksek ısı (80°C) ile yaratılan bu ablasyon deafferantasyon sekeline yol açabilmektedir. Uygulamalar sırasında komşu sinir dokusunda oluşacak hasar uzun sürebilecek hatta geri dönüşümsüz duysal ve motor fonksiyon kaybı riskine sahiptir (93). Bu sorun mümkün olduğunca C liflerine selektif olarak RF tedavisi yapılması ve miyelinli liflerin korunmasıyla sınırlandırılmaya çalışılmıştır. Ancak buna rağmen RF tedavisi sonrası zaman zaman nöropatik ağrı problemi ile karşılaşilmektedir (3-6).

1990'lı yılların ilk yarısına kadar RF uygulamalarında klinik etkiden sadece oluşan ısı lezyonu ve sinir hasarı sorumlu tutulmaktaydı (93). Ancak Van Kleef ve ark.'nın (17) 1993 yılında yayımladıkları çalışmada servikal arka kök gangliyonlarına konvansiyonel RF uygulanan hastaların uygulama sonrası ilgili dermatomda ağrının tekrar ortaya çıkmasının, sensoryal kaybın normale dönmesinden çok daha uzun sürdüğünü göstermeleri ile bazı soru işaretleri doğmuştur. Bu farklılık önceleri RF'in miyelinsiz ve miyelinli sinir lifleri üzerindeki selektif etkisine bağlanmaya çalışılmış, ancak yapılan yeni çalışmalar böyle bir etkiyi gösterememiştir (17, 18-22).

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

Pulse RF nondestrüktif bir yöntem olduğundan, konvansiyonel RF'in uygulanamadığı bazı durumlarda (nöropatik ağrı, C8'in arka kök ganglionu ve motor lifleri olan periferik sinirler) uygulanabilir (93).

Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada motor, duysal ve otonom liflerin tümünü içeren bir periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde çalıştık ve periferik sinirlere uygulanan PRF nöroablatif etkilerinin KRF etkileri ile karşılaştırmayı amaçladık.

Önceki çalışmalarda, konvansiyonel RF uygulamalarının miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinde ya da her ikisinde yapısal bazı hasarlara sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Letcher ve Goldring (1968) (17) küçük miyelinli lif hasarlarından bahsetmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmada ise KRF grupları 120 sn ve 240 sn uygulanmak üzere 2 gruptan oluşmaktaydı. Miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinde meydana gelen değişiklikler iki grup arasında farklıydı. 240 sn süre ile KRF uygulanan grupta miyelinli ve miyelinsiz liflerde yoğun deformasyona rastlanırken, 120sn KRF uygulanan grupta miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri normal görünümdeydi.

Smith ve arkadaşları (21) köpeklerde yaptıkları çalışmalarında lomber intervertebral foraminaya yerleştirdikleri elektrotları ile 2 dakika boyunca 85°C RF uygulamışlar; 6 hafta sonunda uyguladıkları rizotomi sonrasında ışık ve elektron mikroskopi ile bulguları değerlendirmişlerdir. Tüm alanlarda miyelinsiz lifler ve yakın bölgelerde miyelinli liflerin kaybını gözlemişlerdir. Aynı çalışmacılar başka köpeklerde yine 2 dakika süre ile 45, 55, 65 ve 75°C ile RF uygulamışlar; bu sıcaklıklarda da 85°C’de olduğu gibi büyük ve küçük miyelinli liflerde hasar gözlemişlerdir. Miyelinsiz liflerde ise yine 85°C ile benzer histopatolojik bulgulara rastlamışlardır.

Biz yaptığımız çalışmada ise aksine bütün gruplara 42°C ısı ile RF yöntemleri uyguladık fakat gruplarda uygulama süresini ve RF yöntemini değiştirdik.

Smith ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla çelişkili olarak De Louw ve arkadaşları (22) keçi arka kök ganglion hücreleri üzerine 67°C ile KRF uygulamasından 2 hafta sonra ışık mikroskopisinde yapılan incelemelerde hiçbir miyelinli ya da miyelinsiz sinir tahribi gözlememişlerdir. Çalışmalarını; Letcher ve Smith tarafından gözlemlenen hasarın, şu anki klinik pratiğinde kullanılan elektrotlardan çok daha genişlerinin kullanılmasına ve elektrotların sinirsel doku içine yerleştirilmesine bağlayarak sonlandırmışlardır.

Bu yüzden araştırma esnasında kullanılan malzemelerin sinir lifinde yaratabileceği hasarı, ısının yaratmış olduğu lezyonlardan ayırt etmek sonuçlar açısından daha güvenilir olacaktır. Bu sebeple biz çalışmamızda kontrol ve sham gruplarını oluşturmanın yanında modern ince elektrotlar kullandık. Oluşabilecek

mekanik hasarı minimuma indirmek için ise elektrotları sinir dokusu içine değil, yanına yerleştirerek uygulamayı gerçekleştirdik. Sonuçlara baktığımızda ise kontrol ve sham gruplarındaki bütün deneklerde sinir lifi konfigürasyonlarında hiçbir bozulma olmadığını gördük ve bu bize deneyde oluşabilecek mekanik hasarın minimum olduğunu düşündürmektedir.

Klinik işlemlerde çoğu RF lezyonu 60-80°C arasında ısı problemleri ile oluşturulmuştur (16,30,80,81). Bu yükseklikteki ısılar hedef dokuda koagülasyon nekrozu oluşturur (6). RF termal lezyonları doku ısısı 60°C'yi aştığında geri dönüşümsüz protein denatürasyonu oluşturur.

Podhajsky ve arkadaşları (82) 80°C 120 saniye KRF ve 42°C 120 PRF ve KRF uyguladıkları grupların siyatik sinirde oluşturduğu hasarları 2, 7 ve 21. günlerde incelemişlerdir. 80°C lezyon oluşturulmasından 2 gün sonra masif ödem oluştuğunu, 7. günde Wallerian dejenerasyona ilerlediğini ve sonuçta koagülasyon nekrozu oluşturduğunu doğrulamışlardır. 42°C ile uygulama sonucunda da yine 2. günde ödem oluştuğu, 7. günde gerilediği ve 21. günde tamamen iyileştiği saptanmıştır. Bu çalışmalarda sinir doku üzerindeki hasarın total olarak değerlendirilmesinin ödem ve miyelin hasarının yanında endonöral aktivasyonun, inflamasyonun ve infiltre olan hücresel etkinliğinin de göz önüne alınmasını sağlayacağı ileri sürülmüştür. Aynı zamanda zamana bağımlı hasarın incelenmesinin ödem sonrası hasarda oluşan gerilemenin izlenebilmesini olanaklı kılacağı bildirilmiştir. Endonöral ödemin erken patolojik bulgu olduğu ve Schwann ve diğer hücrelerin şişmesi, aksoplasmik hidrasyonunun artması, makrofaj istilası ve fagositoz mekanizmalarının öncesinde gerçekleştiği ileri sürülmekte, 7. günde maksimuma ulaşan bu işleyişin nekroza kadar ilerlediği söylenmektedir.

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

PRF tekniği mevcut sorunların aşılabilmesi için geliştirilmiştir. KRF tekniğindeki devamlı akım, saniyede 2 frekans olacak şekilde pulse hale getirilerek yöntemin etkinliği artırılmış ve ısının konvansiyonel yöntemdeki kadar yüksek olmasına gereksinim kalmamıştır.

PRF'in etki mekanizması henüz bilinmemekle birlikte Cahan ve ark. (83), RF enerjisinin pulse hale getirilmesinin sinaptik aktivitenin geçici inhibisyonuna yol açtığını, böylece ağrı iletimini durdurduğunu öne sürmektedir.

Bizim yaptığımız çalışmada ise 120 sn ve 240 sn PRF uygulanan gruplarda yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubu ile benzer bulgular saptandı. Sinir liflerinde herhangi bir dejenerasyon ve histolojik değişiklik saptanmadı. Bu da bizde PRF etki mekanizmasının açığa çıkarılması için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğu düşüncesini oluşturdu.

Sluijter ve arkadaşları (7) PRF tekniğinin KRF tedavisine alternatif oluşturulabileceğini ileri sürmüştür. Bizim çalışmamızda ise; 240 sn KRF uygulanan grupta meydana gelen ciddi sinir hücresi hasarlarının PRF uygulanan gruplarda görülmemesi PRF tekniğinin KRF tedavisine alternatif oluşturabileceği fikrini destekler niteliktedir.

Erdine ve arkadaşları (84) tavşan dorsal root ganglionu üzerinde KRF ve PRF etkilerini araştırdıkları çalışmalarında KRF, PRF, kontrol, SHAM olmak üzere 4 grup oluşturmuşlar; KRF 67°C 60 saniye ve PRF 120 saniye süre ile oluşan ısı 42°C'yi geçmemek koşuluyla uygulamışlardır. Uygulamadan 2 hafta sonra yapılan incelemelerde; ışık mikroskobide hiçbir lenf bezi hücresi, miyelinli veya miyelinsiz sinir hücresinde hasara rastlamamışlardır. Ancak elektron mikroskobide KRF grubunda dev sitoplazmik boşluklar, aşırı genişlemiş endoplazmik retikulum keseleri ve dejenere mitokondri ile çekirdek zarı kaybı gözlemişlerdir. 120 sn PRF grubunda ise daha az sayıda genişlemiş sitoplazmik boşluklar ve endoplazmik retikulum keseleri gözlenmiş ancak çekirdek zarında bir hasara rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızdaki 120 sn PRF uygulanan grupta ise herhangi bir sinir hücresi hasarı görülmemiş hem miyelinli, hem de miyelinsiz aksonları saran Schwann hücreleri organelleri incelendiğinde Nukleusları heterokromatik özelliklerini korumuş, GER sarnıçları ve SER kesecikleri, Golgi

cisimciği normal yapılarını korumuştur. Kontrol ve SHAM grubunda ise bizim çalışmamızla benzer olarak hiçbir hasara rastlanmamıştır.

Higuchi ve ark'nın (85) yaptığı doku kültürü çalışmasında rat dorsal root gangliyonları (DRG) 3 gruba ayrılmıştır. 1. gruba 38°C PRF, 2. gruba yine 38°C KRF 120 sn süresince uygulanmıştır. 3. grup sham grubu olarak değerlendirilmiştir. Sonraki günlerde yapılan incelemelerde PRF uygulanan dokuda iyileşme saptanırken KRF grubunda böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın ana bulgusu DRG'nin PRF'e maruz bırakılması ile spinal kordun gri maddesinin yüzeyel laminasında c-fos ekspresyonunun aktivasyonudur. PRF dorsal boynuz lamina 1 ve 2'sinde c-fos ekspresyonunu indüklemiş, KRF bunu yapmamıştır. PRF'e maruz bırakılmış DRG'nin hem aynı tarafında, hem karşı tarafında artmış sayıda c-fos eksprese olmuş hücre bulunmuştur. PRF ve KRF arasında doku sıcaklıkları arasında belirgin bir fark gözlemlenmediği için bu modelde c-fos ekspresyonunda cerrahi prosedür ve ısı etkileri dikkate alınmamıştır. Dorsal boynuzdaki gözlenen değişiklikler bu çalışmada kullanılan KRF'ten 40 kat daha büyük amplitüdü olan PRF sinyalleri ile oluşan akım yükselip alçalması ile ilişkili olabilir denmiştir.

PRF uygulamalarında oluşan tedavi edici etkinliğin KRF ile oluşan sinir doku üzerindeki hasardan çok nöromodülasyona bağlanması bu gözlemlerin mekanizmasına işaret etmekte ve daha ileri incelemeyi gerektirmektedir. Bizim çalışmamızda da farklı sürelerdeki PRF grupları incelendiğinde hiçbir yapısal hasara rastlanmaması bu fikri destekler niteliktedir.

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

Hatipoğlu ve arkadaşları kronik bel ağrısı olan hastalarda yaptıkları çalışma ile KRF ile PRF'in etkinliğini karşılaştırmıştır ve sonuçta iki yöntem arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır (89).

İdil ve arkadaşları, kronik faset eklem ağrısı olan hastalarda KRF ile PRF uygulamalarının etkinliğini karşılaştırmışlar. Sonuç olarak ise her iki yöntemin de

ağrıyı azaltmakta etkili olduğunu fakat KRF in daha uzun süre etki ettiğini bulmuşlardır. Yine KRF grubunda analjezik kullanmayan hasta sayısının ve hasta memnuniyetinin daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır (90).

2008 yılında Kroll ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada lomber faset ağrılı hastalarda 120 sn 42°C PRF ile 75 sn 80°C KRF'in etkinliğini karşılaştıran 2 grup oluşturmuşlar. Bu 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamış, fakat KRF uygulanan grupta uzun süreli takipte ağrı şikâyetinin daha az olduğunu saptamışlardır (91).

Protasoni ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada (92) dorsal kök gangliyonuna 120 saniye boyunca yapılan 42°C'de PRF uygulamasından 1,5 saat sonra alınan dokunun ışık mikroskopik incelemesinde interstisyel ödem hariç herhangi patolojik bir bulguya rastlamamışlardır. Miyelinsiz aksonların normal yapıda olduğu, hiçbir değişiklik olmadığını görmüşlerdir. Bazı miyelinli aksonlarda hafif düzensiz koyu boyanmadan kaynaklı morfolojik değişiklikler görmüşlerdir. EM incelemede gangliyon hücrelerinin sitoplazmalarında vakuollerin olduğu, endoplazmik retikulum sisternalarının genişlediğini, mitokondriyal hasarların oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Bazı gangliyon hücrelerinde nükleer membran bozuklukları ve plazmalemmmanın bütünlüğünün kaybolduğu gözlenmiştir. Bazı miyelinli aksonların miyelinlerinde düzensizlik ve ovoid formda küçülmeler tespit etmişlerdir. Bu değişikliklerin sadece miyelinli aksonlara etki eden ısı kaynaklı lezyonlar olabileceğini düşünmüşlerdir. Miyelinli lifleri saran Schwann hücrelerinde genişleme görülürken, miyelinsiz aksonları saran Schwann hücrelerinde bir değişiklik saptanmamıştır. Sonuç olarak bu çalışmada daha çok miyelinli lifler hasar görmüştür. Perisistlerin şişmesine bağlı gözlenen miyelin yapısının bozulması termal lezyonu etkisi olabileceğini ve bu değişikliklerin PRF uygulaması sırasında meydana gelen ısı patlamalarından meydana gelebileceği fikrini ortaya atmışlardır.

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da Protasoni'nin çalışmasında olduğu gibi 120 sn PRF uygulanan bir grup denek histolojik açıdan incelendi. Fakat bizim çalışmamızın sonuçları benzer bulgular içermemektedir. 120 sn PRF uygulanan grupta miyelin kılıflar bütünlüğünü korumuş, aksoplazmada yer alan norotübül ve nöroflamanlar, mitokondriyon ve veziküller kontrollara benzer şekilde normal

görünümdeydi. Miyelin kılıflarda dış ve iç mezaksonlarda herhangi bir şişme ya da açılma söz konusu değildi. Hem miyelinli hem de miyelinsiz aksonları saran Schwann hücreleri organelleri incelendiğinde Nukleusları heterokromatik özelliklerini korumuş, GER sarnıçları ve SER kesecikleri, Golgi cisimciği normal yapılarını korumuştur.

Vatansever ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, PRF ile KRF'in sinir dokusunda yaptığı hasar araştırılmış; PRF'in, 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 varmışlardır (93).

Bizim çalışmamızda ise 240 sn PRF grubunda yapılan incelemede genel olarak yapısal anormallik izlenmezken, çok nadir de olsa miyelin kılıf deformasyonları ve özellikle aksoplazmik erime ve elektron dens materyal birikimi gibi anormal görüntülere rastlandı. Tüm örnekler değerlendirildiğinde bu olayın göz ardı edilebilecek kadar nadir görülen anormallikler olduğu kanaatine varıldı.

2009 yılında Kağan TUN ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada ratların siyatik sinirine PRF ve KRF uygulamışlar ve işlemiden 21 gün sonra siyatik sinirleri ışık ve elektron mikroskopisinde incelemişlerdir (94). Kontrol ve sham grubundaki ratların miyelinli aksonları yapısal olarak normal görülmüş fakat sham grubunda sadece birkaç miyelin konfigürasyonunda ayrılmalar izlenmiş. Bu hasarı da deney sırasında perfüzyonun bozulmasına bağlamışlar. 120 saniye yapılan PRF grubunda ise miyelinli liflerde ciddi bir hasara rastlanmamış. Sadece bazı sinirlerde miyelin konfigürasyonda ayrılma saptanmış ve yeni oluşan miyelinli aksonlar görülmüş. 42°C'de 120 saniye ve 70°C'de 60 saniye yapılan KRF gruplarında ise miyelinli liflerin çoğunda ciddi hasar bulguları, hücre iskelet kaybı, wallerian dejenerasyon, mitokondriyal şişmeler, ve değişikliklere rastlanmıştır. Miyelinsiz lifler ise her iki grupta da normal bulunmuş.

Bizim çalışmamızdaki PRF 120 sn grubundaki bulgular bu çalışmadaki 120 sn PRF grubundaki bulguları destekler niteliktedir. Fakat biz KRF ile oluşan yapısal hasarları 120 sn ile saptayamadık. Süreyi 240 saniyeye yükselttiğimizde ise hücresel hasarları belirgin bir şekilde saptadık.

2009 yılında Erdine ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada ratların siyatik sinirlerine PRF uygulamışlar ve 10 gün sonra örnek olarak sinir aksonlarında meydana gelen değişiklikleri elektron mikroskobu ile incelemişler (95). PRF uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha fazla hasar bulunmuş. Aksonların yapısal elemanlarında daha çok görülen bu hasar aksonal membranda görülmemiştir. Hasar en çok küçük çaplı liflerde olmuştur. C lifleri en fazla, A delta lifleri orta, A beta lifleri en az hasarı görmüştür. C ve A delta lifleri duyu alıcı, A beta lifleri ise dokunma ve ağrı dışındaki duyumlar ile ilgilidir. Bu yüzden PRF in daha çok C ve A delta liflerini etkileyerek ağrıyı azalttığı ve diğer dokuları koruduğu sonucuna varılmış.

PRF uygulamasının hangi bölgelere ne kadar süre ile güvenle uygulanacağı konusunda çalışmalar olmakla birlikte henüz bilgiler kesin ve net değildir. 2005 yılında Van Zundert ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada dorsal kök gangliyonuna PRF uygulaması 120 sn ve 8 dk olarak yapılmış ve nöronal aktivite yönünden yapılan kıyaslamada bir fark olmadığı gözlenmiştir (96).

Bütün yapılan bu çalışmalar sonucunda PRF etki mekanizması net olarak ortaya çıkarılabilmemiş değildir. Yapılan çalışmalarda PRF'in nöroablasyon yaratmadığı fikri ağırlıktadır. Sinirde daha az yapısal hasar oluşturması yan etkileri bakımından KRF'e iyi bir alternatif olabileceği fikri yaygındır. KRF ile yapılan deneylerde ise sinir liflerinde yapısal hasar çoğunlukla gösterilmiştir. KRF ile daha fazla yapısal hasar olduğu gösterilse de araştırmacılar bazı çalışmalar da ağrıyı gidermede KRF in daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada PRF ve KRF uygulamalarının farklı sürelerde ratların siyatik sinirine uygulanması ile sinir üzerinde oluşturduğu hasar ışık ve elektron mikroskobu ile incelendi. Sonuçlar hem kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldı, hem de kendi içlerinde sinir hasarı yönünden kıyaslandı.

Tüm gruplardan alınan siyatik sinir örneklerinden ışık mikroskopik gözlemlerde sinirin bağ dokusu kılıfları, sinir içerisi ve kılıflarda lökosit infiltrasyonu parametreleri değerlendirildi. Elektron mikroskopik incelemelerde miyelinli ve miyelinsiz akson yapıları, Schwann hücresi ince yapıları ve intranöral damar duvarı özellikleri incelendi.

Kontrol ve sham grubunun ışık ve elektron mikroskobu incelemelerinde miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinde herhangi bir sinir hasarı bulgularına rastlanmadı. PRF 120 saniye ve KRF 120 saniye uygulanan gruplarda da kontrol ve sham grubuna benzer şekilde siyatik sinir morfolojisinde mikroskopik düzeyde herhangi bir yapısal farklılık izlenmedi. Görüntüler kontrol grubuna benzerdi.

PRF 240 saniye uygulanan gruptan elde edilen örneklerde ise genel olarak yapısal bir anormallik izlenmezken, çok nadir de olsa miyelin kılıf deformasyonları, özellikle aksoplazmik erime ve elektron dens materyal birikimi gibi anormal görüntülere rastlandı. Fakat tüm örnekler incelendiğinde bu bulguların göz ardı edilebilecek kadar nadir görülen anormallikler olduğu kanaatine varıldı.

KRF 240 saniye uygulanan gruptan elde edilen siyatik sinir örneklerinden bazılarında hem ışık hem de elektron mikroskopik incelemelerde miyelinli ve miyelinsiz liflerde yoğun deformasyon örneklerine rastlanıldı. Deformasyonlar; Miyelin kılıf erimesi, tabakalarda açılmalar, aksoplazmik erime, aksoplazma kaybı, mezakson kaybı, endonöryal miyelin kalıntıları şeklinde gözlemlendi. Birçok aksonda nörotübül ve nöroflaman düzeninin kaybolduğu, mitokondri krista erimesi veya büzüşmeler görüldü. Schwann hücrelerinde dramatik bir şekilde yapısal bozulmalar görüldü. Bazal lamina kaybı membran bütünlüğünün bozulması sitoplazmanın endonöryuma dağılması, nükleoplazmada elektron

densite artışına bağlı heterokromatik görünümün kaybolması izlenen deformatif değişikliklerdi.

Sonuc olarak, ışık ve elektron mikroskopik incelemelerde elde edilen gözlemlere göre 120 sn ve 240 sn PRF uygulamalarının siyatik sinir ince yapısında herhangi bir deformasyona neden olmazken, KRF'nin 240 sn uygulanmasının sinir yapısında patolojik değişikliklere neden olabileceğini söyleyebiliriz. KRF 120 sn uygulanan grupta sinir hasarının saptanmaması ise bize KRF uygulamalarının süresinin artırılması ile sinir hasarı riskini artırdığı fikrini doğurmuştur.

Elde ettiğimiz mevcut bulgular çalışmamızda gözlenen hücre ve organel değişikliklerinin moleküler düzeyde de çalışılarak KRF ve PRF etki mekanizmalarının aydınlatılması ve her iki yöntemin klinik sonuçlarının güvenliğinin kar zarar mantığı ile değerlendirilip, mümkün olduğunca ideal olmasının sağlanması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

7. ÖZET

Ağrı Sendromlarının Tedavisinde Farklı Sürelerde Uygulanan Pulsatil Radyofrekans (PRF) Ve Konvansiyonel Radyofrekans (KRF)'ın Sinir Yapısına Etkisinin Mikroskopik Olarak Araştırılması

Amaç: Radyofrekans tedavisi kronik ağrı tedavisinde nöroablasyon oluşturarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. KRF yüksek ısı ile dokuda koagülasyon nekrozu meydana getirerek etki eder. Ancak bu yüksek ısının oluşturduğu ablasyon deafferentasyon sekeline yol açabilmektedir. Bu yüzden yakın zamanda RF akımı aralıklı uygulanarak pulse hale getirilip daha düşük sıcaklıklarda uygulanarak PRF geliştirilmiştir. Biz bu çalışmamızda motor, duysal ve otonom liflerin tümünü içeren bir periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde çalışarak, periferik sinirlerde PRF uygulamalarının nöroablatif etkilerinin KRF ile karşılaştırılmasını amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu araştırmada fakültemiz Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra 60 adet dişi rattus norvegicus cinsi sıçan kullanıldı ve sıçanlar 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki (n:10) deneklere hiçbir işlem yapılmadı. Genel anestezi uygulamasından sonra RF elektrodu siyatik sinirin hemen yanına yerleştirildi. Sham grubuna (n:10) elektrot yerleştirildi fakat akım verilmedi. 3. gruba (n:10) 120 saniye 42°C PRF uygulandı. 4. gruba (n:10) 240 saniye 42°C PRF uygulandı. 5. gruba (n:10) 120 saniye 42°C KRF uygulandı. 6. gruba (n:10) 240 saniye 42°C KRF uygulandı. İşlemden 2 gün sonra siyatik sinirler genel anestezi altında çıkarıldı ve hem ışık hem de elektron mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Tüm deneklerin, deney öncesi yapılan fizik muayanelerinde motor ve duysal fonksiyonların normal olduğu saptandı. Deneklerin hiç birinde postoperatif yara yeri enfeksiyonu meydana gelmedi. Sham grubu ve deney gruplarına ait örneklerden elde edilen mikroskopik gözlemler kontrollerle karşılaştırılarak uygulamaların siyatik sinir yapısına etkileri araştırıldı. Sham grubuna ait örneklerin ışık ve EM incelemelerinde siyatik siniri oluşturan yapıların kontrol grubuna benzer şekilde normal olduğu ve morfolojik açıdan

herhangi bir anormallik olmadığı saptandı. PRF 120 sn ve KRF 120 sn uygulanan grupların hem ışık, hem de EM incelemelerinde siyatik sinir morfolojisinde mikroskopik düzeyde herhangi bir yapısal farklılık izlenmedi. Görüntüler kontrol grubuna benzer şekildeydi. PRF 240 sn uygulamalarında siyatik sinir örneklerinde genel olarak yapısal anormallik izlenmezken, çok nadir de olsa miyelin kılıf deformasyonları ve özellikle aksoplazmik erime ve elektron dens materyal birikimi gibi anormal görüntülere rastlandı. Tüm örnekler değerlendirildiğinde bu olayın göz ardı edilebilecek kadar nadir görülen anormallikler olduğu kanaatine varıldı. KRF 240 sn uygulamasından elde edilen siyatik sinir örneklerinden bazılarında hem ışık hem de elektron mikroskopik incelemelerde miyelinli ve miyelinsiz liflerde yoğun deformasyon örneklerine rastlanıldı. Deformasyonlar; miyelin kılıf erimesi, tabakalarda açılmalar, aksoplazmik erime, aksoplazma kaybı, mezakson kaybı, endonöryal miyelin kalıntıları şeklinde gözlemlendi. Birçok aksonda nörotübül ve nöroflaman düzeninin kaybolduğu, mitokondri krista erimesi veya büzüşmeler görüldü. Schwann hücrelerinde dramatik bir şekilde yapısal bozulmalar görüldü. Bazal lamina kaybı membran bütünlüğünün bozulması, sitoplamanın endonöryuma dağılması, nükleoplazmada elektron densite artışına bağlı heterokromatik görünümün kaybolması izlenen deformatif değişikliklerdi.

Sonuç: 120 sn ve 240 sn PRF uygulamaları siyatik sinir ince yapısında herhangi bir deformasyona neden olmadı. KRF 120 sn uygulanan grupta herhangi bir patoloji meydana gelmedi. Fakat KRF'nin 240 sn uygulanması sinir yapısında patolojik değişikliklere neden oldu.

Anahtar kelimeler: Siyatik sinir, pulse radyofrekans, konvansiyonel radyofrekans, uygulama süresi, histolojik etkiler.

8. ABSTRACT

The Research on the Effect of Different Application Durations of Pulsatile Radiofrequency (PRF) and Conventional Radiofrequency (CRF) for Treatment of Pain Syndromes on Nerve Structure Under Microscope

Objective: Radiofrequency treatment is being used for many years by forming neuroablation in chronic pain treatment. CRF shows its effect by creating a coagulation necrosis in the tissue by heat. But the ablation process that takes place by applying heat may cause deafferentation sequelae. For this reason, recently, the pulsed radiofrequency is developed by applying RF current in a pulsatile manner with lower temperatures. In this study, we studied the neuroablative effects of PRF in contrast to CRF in periferic nerves by working on the sciatic nerve, a nerve that includes both motor, sensory and autonomous fibers.

Material and Method: In this study, a total of 60 rattus norvegicus rats were used in 6 groups after getting the permission of Animal Studies Ethics Committee. No procedure was performed on the control group (n:10). After the induction of general anesthesia, the electrodes were placed near the sciatic nerve. In the Sham group (n:10) the electrodes were placed but no current was applied. In the 3. group, 120 seconds of 42°C PRF was applied. In the 4. group, 240 seconds of 42°C PRF was applied. In the 5. group, 120 seconds of 42°C CRF was applied. In the 6. group, 240 seconds of 42°C CRF was applied. After 2 days, the sciatic nerves of the rats were dissected under general anesthesia and examined with an optic and electron microscope.

Results: The motor and sensory functions of all subjects were normal before the experiment. No wound infection was recorded in any of the subjects. The effects of the procedure on sciatic nerve were examined by comparing the findings of the Sham and other procedural groups with the control group. The examination of the specimens from Sham group under optic and electron microscope showed normal findings similar to control group and no morphological abnormality was recorded. The examination of the specimens from

PRF 120 seconds and CRF 120 seconds under optic and electron microscope showed no structural difference in morphology. The images were similar to control group. In the PRF 240 seconds group, while no general structural abnormality was observed, very rarely, abnormal findings were recorded such as myelin sheath deformations and particularly axoplasmic lysis and electron dense material deposits. When all of the specimens were examined, it was concluded that these findings were extremely rare and could be ignored. In some of the specimens from CRF 240 seconds group, heavy deformation of both myelinated and non-myelinated nerve fibers was observed under both electron and optic microscope. The deformations were: myelin sheath destruction, openings in layers, axoplasmic destruction, mesaxon destruction and endonorial myelin residues. In many of the axons, loss of neurotubule and neurofilament structure, mitochondrial crista destruction and contraction was observed. Dramatic structural deformities in Schwann cells were observed. The loss of basal lamina, loss of integrity of membranes, the breakup of cytoplasm into the endonorium, the loss of heterochromatic appearance due to the electron density increase in nucleoplasma were the deformative changes that were observed.

Conclusion: 120 second and 240 second PRF treatments did not produce any deformities in the sciatic nerve. No pathology was observed in 120 second CRF group. The application of CRF for 240 seconds produced pathological alterations in the nerve structure.

Key words: Sciatic nerve, pulsed radiofrequency, conventional radiofrequency, application duration, histological effects

9. KAYNAKLAR

1. Ağrı, İkinci Baskı. Ed.: Erdine S. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2002; 651-64.
2. Rosomoff HL, Carrol F, Brown J. Percutaneous radiofrequency cervical cordotomy technique. J Neurosurg 1965; 23: 639-44.
3. Sweet WH, Wepsic JG. Controlled thermocoagulation of trigeminal ganglion and rootlets for differential destruction of pain fibres. J Neurosurg 1974; 40: 143-56.
4. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nevre trunj, ganglion and rootlets. In: Schmidel HH, Sweet WS, Grune and Stratton, eds. Current Techique in Operative Neurosurgery, New York 1977.
5. Sluijter ME. Radiofrequency, Part 1: The lumbosacral region. Flivo Press. Switzerland 2001; 50-1.
6. Slappendel R, Crul BJ, Braak GJ. The efficacy of radiofrequency lesioning of the cervical spinal dorsal root ganglionin a double blind randomized study: no difference between 40 degrees and 67 degrees C treatments. Pain 1997; 73: 159-63.
7. Sluijter 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. Kirschner M. Zur Elektrochirurgie. Arch Klin Chir 1931; 167: 761-5.
9. Hunsperger RW, Wyss OAM. Quantitative Ausschaltung von Nervengewebe durch Hochfrequenz koagulation. Helv Physiol Acta 1953; 11: 283-304.
10. Mullan S, Hekmatpanah J, Dobbin G. Percutaneous intramedullary cordotomi utilizing the unipolar anodal electrolytic lesion. J Neurosurg 1965; 22: 548-53.
11. Rosomoff HL, Carrol F, Brown J. Percutaneous radiofrequency cervical cordotomy tecnique. J Neurosurg 1965; 23: 639-44.

12. Sweet WH, Wepsic JG. Controlled thermocoagulation of trigeminal ganglion and rootlets for differential destruction of pain fibres. *J Neurosurg* 1974; 40: 143-56.
13. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nerve trunk, ganglion and rootlets. In: Schmidek HH, Sweet WS, Grune and Stratton, eds. *Current Technique in Operative Neurosurgery*, New York 1977.
14. Shealy CN. Percutaneous radiofrequency denervation of the lumbar facets. *J Neurosurg* 1975; 43: 448-51.
15. 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.
16. 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.
17. Letcher FS, Goldring S. The effect of radiofrequency current and heat on peripheral nerve action potential in the cat. *J Neurosurg* 1968; 29: 42-7.
18. Hamann W, Hall S. Acute effect and recovery of primary afferent nerve fibres after graded RF- lesions in anesthetized rats. *Br J Anaesth* 1992; 68: 443-5.
19. Uematsu S. Percutaneous electrothermocoagulation of spinal nerve trunk, ganglion and rootlets. In: Schmidek HH, Sweet WS, Grune and Stratton, eds. *Current Technique in Operative Neurosurgery*, New York 1977.
20. Van Kleff M. Radiofrequency lesions adjacent to the dorsal root ganglion. Thesis. Datawyse, Maastricht 1996.
21. Smith HP, Mc Worther JM, Challa VR. Radiofrequency neurolysis in a clinical model. *J Neurosurg* 1981; 55: 346-53.

22. 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.
23. Sluijter ME. Radiofrequency, Part 1. The lumbosacral region. FlivoPress, Switzerland 2001; 50-1.
24. Sluijter ME, Van Kleff M. Characteristics and mode of action of radiofrequency lesions. *Current Review of Pain* 1998; 2: 143-50.
25. Ruiz- Lopez R. Radiofrequency for the treatment of chronic pain. In: Raj PP, eds. *Textbook of Regional Anesthesia*. Churchill Livingstone USA 2002; 619- 45.
26. Cosman ER, Comsan BJ. Methods of making nervous system lesions. In: Wilkins RH, Renschay SS, McGraw- Hill, eds. *Neurosurgery*, New York 1985; 2490-9.
27. 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.
28. 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.
29. Bogduk N, Macintosh J, Marsland A. Technical limitations to the efficacy of radiofrequency neurotomy for spinal pain. *Neurosurg* 1987; 20: 529-35.
30. Cosman ER, Nashold BS, Ovelman- Levitt J. Theoretical aspects of radiofrequency lesions in the dorsal root entry zone. *Neurosurgery* 1984; 15: 945-50.
31. Sanders M. Application of radiofrequency lesions in patients suffering from chronic pain. ISBN: 90- 72816- 05- 6, 22-3.

32. Fox JL. Experimental relationship of radiofrequency electrical current and lesion size for application to percutaneous cordotomy. *J Neurosurg* 1970; 33: 415-21.
33. Sluijter ME. Radiofrequency, Part 1. The lumbosacral region. Flivo Press Switzerland 2001; 56.
34. 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.
35. 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.
36. Sluijter ME, Van Kleef M. Characteristics and mode of radiofrequency lesions. *Current Review of Pain* 1998; 2: 143-50.
37. Ganong WF. Çeviren: Doğan A. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul: Barış Kitapevi 1995.
38. 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.
39. Kidd GJ, Heath JW. Double myelination of axons in the sympathetic nervous system of the mouse II. Mechanisms of formation. *J Neurocytol* 1988; 17(2): 263-76.
40. Benzon HT, Kim C, Benzon HP, Silverstein ME. Correlation between evoked motor response of the sciatic nerve and sensory blockade. *Anesthesiology* 1997; 87(3): 547-52.
41. Covino BG. Systemic toxicity of local anesthetic agents. *Anesth Analg* 1978; 5: 387.
42. Eylar EH, Ishaque A, Szymanska I. Guillain-Barre syndrome and allergic neuritis: is the P2 protein a common denominator. *Prog Clin Biol Res* 1980; 39: 337-56.

43. Griffin JW, Li CY, Ho TW. Jun Guillain-Barre syndrome in northern China. The spectrum of nöropathological changes in clinically defined cases. *Brain* 1995; 118(Pt 3): 577-95.
44. Heath JW, Kidd GJ, Trapp BD. Miyelin maintenance by Schwann cells in the absence of aksons. *Neurosci Lett* 1991; 128(2): 277-80.
45. Lundborg G. Ischemic nerve injury. Experimental studies on intraneural microvascular pathophysiology and nerve function in a limb subjected to temporary circulatory arrest. *Scan J Plast Reconstr Surg* 1970; 6: 3-113.
46. Romine JS, Bray GM, Aguayo AJ. Jan Schwann cell multiplication after crush injury of unmyelinated fibers. *Arch Neurol* 1976; 33(1): 49-54.
47. Friede RL, Samorajski T. The clefts of Schmidt-Lantermann: a quantitative electron microscopic study of their structure in developing and adult siyatik nerves of the rat. *Anat Rec* 1969; 165(1): 89-101.
48. Friede RL, Samorajski T. Axon caliber related to nörofilaments and microtubules in siyatik nerve fibers of rats and mice. *Anat Rec* 1970; 167(4): 379-87.
49. Friede RL, Samorajski T. Relation between the number of miyelin lamellae and akson circumference in fibers of vagus and siyatik nerves of mice. *J Comp Neurol* 1967; 130 (3): 223-31.
50. Friede RL, Samorajski T. Axon caliber related to neurofilaments and microtubules in siyatik nerve fibers of rats and mice. *Anat Rec* 1970; 167(4): 379-87.
51. Berthold CH, Fabricius C, Rydmark M. Nov Axoplasmic organelles at Nodes of Ranvier I. Occurrence and distribution in large miyelinated spinal root aksons of the adult cat. *J Neurocytol* 1993; 22(11): 925-40.
52. Kalichman MW, Powell HC, Myers RR. Pathology of lokal anesthetic-induced nerve injury. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988; 75(6): 583-9.
53. Robertson JD. Preliminary observations on the ultrastructure of Nodes of Ranvier. *Zellforschung* 1959; 50: 553-60.

54. Samorafski T. A relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *Exp Neurol* 1967; 130: 223.
55. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol* 1998; 55(12): 1513-20.
56. Barsa J, Batra M, Fink BR. A comparative in vivo study of local neurotoxicity of lidocaine, bupivacaine, 2-chloroprocaine and a mixture of 2-chloroprocaine and bupivacaine. *Anesth Analg* 1982; 61: 961-7.
57. Hess A. The fine structure and morphological organization of nonmyelinated nerve fibers. *Proc Roy Soc B* 1956; 144: 496.
58. Baulieu EE, Schumacher M. Neurosteroids, with special reference to the effect of progesterone on myelination in peripheral nerves. *Mult Scler* 1997; 3(2): 105-12.
59. Bridenbaugh LD. Regional anesthesia for surgery of the extremities. *Clin Anesth* 1969; 2: 193-215.
60. Cravioto H. The role of Schwann cells in the development of human peripheral nerves. An electron microscopic study. *J Ultrastruct Res* 1965; 12(5): 634-51.
61. 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.
62. Jessen KR, Mirsky R. Origin and early development of Schwann cells. *Microsc Res Tech* 1998; 41(5): 393-402.
63. Sokoloff L. Sites and mechanisms of function-related changes in energy metabolism in the nervous system. *Dev Neurosci* 1993; 15(3-5): 194-206.
64. Butterworth JF 4th, Moran JR, Whitesides GM. Limited nerve impulse blockade by "leashed" local anesthetics. *J Med Chem* 1987; 30(8): 1295-302.

65. Fitzgerald M, Woolf CJ, Gibson SJ. Alterations in the structure, function, and chemistry of C fibers following local application of vinblastine to the siyatik nerve of the rat. *J Neurosci* 1984; 4(2): 430-41.
66. Nagy I, Woolf CJ. Jan Lignocaine selectively reduces C fibre-evoked neuronal activity in rat spinal cord in vitro by decreasing N-methyl-D-aspartate and neurokinin receptor-mediated post-synaptic depolarizations; implications for the development of novel centrally acting analgesics. *Pain* 1996; 64(1): 59-70.
67. Temel Patoloji. Ed: Uğur Çevikbaş. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 1995; 732.
68. Neuroanatomy. MJT Fitz Gerald MD, PhD, DSc. 1992; 16-22.
69. Santo Neto H, Teodori RM, Somazz MC. Axonal regeneration through muscle autografts submitted to local Anaesthetic pretreatment. *Br J Plast Surg* 1998; 51(7): 555-60.
70. Kidd GJ, Heath JW. Myelin sheath survival following aksonal degeneration in double myelinated nerve fibers. *J Neurosci* 1991; 11(12): 4003-14.
71. Mason P, Attema B, DeVries GH. Fall in vitro use of Schwann cells to elucidate neurotoxic injury. *Neurotoxicology* 1991; 12(3): 459-71.
72. Odenwald WF, Askanas V. Ultrastructural and cytochemical characteristics of cultured rat Schwann cells. *Acta Neuropathol (Berl)* 1981; 54(2): 135-42.
73. Pizzolato P, Renegar OJ. Histopathologic effects of long exposure to local anesthetics on peripheral nerves. *Anesth Analg* 1959; 38: 138-41.
74. Morell P, Toews AD, Wagner M. Spring Gene expression during tellurium-induced primary demyelination. *Neurotoxicology* 1994; 15(1): 171-80.
75. Wynsberghe DV, Noback CR, Carola R. Human Anatomy and Physiology. Third Ed. Mc Graw-Hill, Inc. New York 1995; 355-72.
76. Zetlaoui PJ. Blocs des nerfs sciatiques. [Article in French] *Cah Anesthesiol* 1996; 44(2): 119-26.

77. Guyton AC. Basic Neuroscience. Anatomy & Physiology WB Saunders Company. Philadelphia, London 1991; 52-4.
78. Jean Bossy, Bastide G, Godlewski G. Anatomie Clinique Neuro-anatomie. Springer- Verlag, Paris, Berlin, Heildenberg, New York, Londres, Tokyo, Hong Kong 1990; 10-1.
79. Williams PL, Warwick R, Dyson M. Gray's Anatomy. 37ed Churchill Livingstone. Edinburg: 1989; 1145-9 and 896-903.
80. 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.
81. 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.
82. Podhajsky Ronald J. The histologic effects of pulsed and continuous radiofrequency lesions at 42°C tor at dorsal root ganglion and sciatic nerve. Spine 2005; 1: 30(9): 1008-13.
83. Cahana A, Vutskits L, Muller D. Acute differential modulation of synaptic transmission and cell survival during exposure to pulsed and continuous radiofrequency energy. J Pain 2003; 4: 197- 202.
84. Erdine S, Yücel A. Effects of pulsed versus conventional radiofrequency current on rabbit dorsal root ganglion morphology. Eur J Pain 2005; 9(3): 251-6.
85. Higuchi Y, Nashold BS Jr, Sluijter M. Exposure of the dorsal root ganglion in rats to pulsed radiofrequency energy activates dorsal horn lamina 1 and 2 neurons. Neurosurgery 2002; 50: 850-5.
86. Van Zundert J, Brabant S, Van de Kelft. Pulsed radiofrequency treatment of the gasserian ganglion in patients with idiopathic trigeminal neuralgia. Pain 2003; 104: 449-52.

87. Van Zundert J, Lame IE, de Louw A. Percutaneous pulsed radiofrequency treatment of the cervical dorsal root ganglion in the treatment of chronic cervical pain syndromes: a clinical audit. *Neuromodulation* 2003; 6: 6-14.
88. Abejon D, Reig E. Is pulsed radiofrequency a neuromodulation technique *Neuromodulation* 2003; 6: 1-3.
89. Hatipoğlu Z. Bel Ağrılarında Pulse ve Konvansiyonel Radyofrekans Termokoagülasyon Uygulamaları, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Adana 2009
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. Vatansever D. Konvansiyel ve Pulse Radyofrekans Termokoagülasyon Tekniklerinin Nöroablatif Etkilerinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Manisa 2007.
94. 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
95. 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.
96. 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.

97. Azgan M.C. Rat Siyatik Sinirine Uzun Sürelerde Pulse Radyofrekans Uygulamasının Histolojik Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Antalya 2013.

