

# Çift puls yönteminde iki uyarın arasındaki gecikme süresinin iletim hız dağılımı histogramına etkisi

Nizamettin DALKILIÇ

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, KONYA

## ÖZET

Aynı noktadan çift puls ile uyarılan sinirlerde oluşan birinci ve ikinci bileşik aksiyon potansiyelleri (BAP1,BAP2), "suction" tekniği ile kaydedildi. İki uyarın arasındaki gecikme süreleri küçültülerek BAP2'de meydana gelen değişimler gözlemlendi. BAP'dan lif çapı dağılım histogramlarını elde etmek için, önceki çalışmalarımızda oluşturduğumuz model BAP1 ve BAP2 kayıtlarına uygulandı. İki puls arasındaki gecikme süresinin küçültülmesiyle, 2BAP histogramlarında meydana gelen değişimler BAP1 histogramlarıyla karşılaştırıldı, BAP1 ile BAP2 histogramları arasındaki anlamlı farklılaşmanın, "suction" yönteminde 3.4'üncü ms'de başladığı tespit edildi. Çift puls ile uyarım yöntemi, yavaş ileten liflerin refraktör dönem büyüklüklerini saptamada kullanılabilir olduğu görüldü, ancak iki uyarın arasındaki gecikme süresinin küçülmesiyle BAP1'in gecikmiş fazı BAP2'nin erken fazına karışması nedeniyle tüm liflerin aktivitelerinin tespit edilmesine çok da uygun olmadığı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Bileşik aksiyon potansiyeli, iletim hız dağılımı, çift puls yöntemi, "Suction" tekniği

## SUMMARY

**The effect of the delay time between pulses on conduction velocity distribution histograms in double pulse method**

The first and the second compound action potentials (CAP1,CAP2) arisen from the double stimulation of the nerve on the same point were recorded using the suction technique. The changes in CAP2 signals were observed as the delay time between two stimuli was reduced. In order to obtain the CAP fiber diameter distribution histograms, a model developed in our previous work was applied to CAP1 and CAP2 recordings. The changes in CAP2 histograms were compared to CAP1 histograms' as the delay times got shorter. As inter-stimuli delay time gets shorter, significant difference between CAP1 and CAP2 histograms appears at 3.4th ms after CAP1. Although double pulse stimulation technique is essential for determining the refractor period duration, it is unsatisfactory for deducing whole nerve activity, since the late phase of CAP1 interferes into early phase of CAP2 as the delay time gets shorter.

**Key Words:** Compound action potential, conduction velocity distribution, double pulse method, Suction technique.

Bir sinirin çift puls kullanılarak uyarılması sırasında, birinci ve ikinci uyarana yanıt bileşik aksiyon potansiyellerini BAP1 ve BAP2 şeklinde adlandırsak, pulslar yeterince şiddetli ve iki puls arasındaki gecikme süresi yeterince uzun ise, refraktör dönem düşen lif bulunmayacak, pulslar aynı uzaysal noktadan kaynaklandığı için de her iki yanıt aksiyon potansiyelinin karşılık geldiği lif çapı dağılım histogramları da aynı olacaktır. İki puls arasındaki gecikme süresi kısaltıldıkça, bazı lifler refraktör dönemden henüz çıkmamış durumda olur ve bu yüzden de BAP2'den elde edilen lif çapı dağılım histogramının değişeceği öngörülür.

Bileşik aksiyon potansiyeli kayıtlarından siniri oluşturan lif dağılım histogramlarının sağlıklı bir

şekilde elde edilmesi, aynı zamanda kayıt yöntemine de bağlıdır. Ekstraselüler kayıt yönteminde uyarı ve kayıt elektrotları arasındaki mesafe değiştiğinde, hacim iletkenliğinden dolayı potansiyel düşmesi olacağından, kaynağın potansiyeli gerçek değerinden küçük bulunmaktadır (1). Günümüzde temel araştırmalarda "suction" yöntemi, izole sinirin elektriksel aktivitesini gözlemek veya bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) kaydı yapmak için kullanılmaktadır. "Suction" yönteminde sinir, uç çapı çalışılacak sinirin veya lif demetinin kalınlığına göre inceltirilmiş pipet içerisine negatif basınç uygulanarak çekilir. Fizyolojik solüsyonla dolu olan "suction" pipeti, diğer ucundan preamplifikatöre Ag/AgCl elektrot üzerinden irtibatlandırılır, sinir uyarılınca oluşan BAP gözlenir ve



kaydedilir. "Suction" yönteminde gözlenecek BAP genliği ( $V_0$ )

$$V_0 = \frac{R_p}{R_i} (V_m - V_e)$$

şeklinde. Burada,  $R_p$ : pipet ile sinir arasındaki direnç,  $R_i$ : aksoplazma direnci,  $V_m$ : sinirin pipet içinde kalan kısmının hücre içi potansiyeli,  $V_e$ : sinirin pipet dışında kalan kısmının hücre içi potansiyelidir (1,2,3). Pipet direnci ne kadar büyük tutulabilirse, bilgi kaybı o kadar az olur ve yanıt potansiyel gerçeğine o kadar yakın gözlenir. Bu yöntemle birkaç tane liften aynı anda kayıt dahi yapılabilmesine karşın, pratikte ancak sadece izole sinirden kayıt yapılabilmektedir.

#### Model Çalışması

Bileşik aksiyon potansiyelinden, siniri oluşturan liflerin hız veya çap dağılımlarını belirlemek üzere bir çok model çalışması yapılmıştır (2,4-7). Bu model çalışmalarında, ileri problem ve geri problem olmak üzere iki problem tipi tanımlanır. İleri problemde BAP'ların tek tek liflerin aksiyon potansiyellerinin (TLAP) toplamına eşit olduğu kabul edilir. Buna göre BAP,

$$BAP(t) = \sum_{i=1}^N w_i f_i(t - d_i)$$

şeklinde yazılabilmektedir (8-10). Burada N: lif grup sayısı,  $w_i$ : i'inci grubun BAP içindeki genlik ve lif sayısı katkısını belirleyen ağırlık fonksiyonu,  $f_i(t)$ : i'inci grup için TLAP,  $d_i$ : i'inci grup için iletim gecikmesidir. Geri problem tipinde ise, kaydedilen BAP'lardan iletim hız dağılımını belirlemek için, problem geri matematiksel prosedür ile çözülür ve her bir hız grubu için W'lar belirlenir (2,7-9).

Bu çalışmada, çift uyaran etkisinde oluşan ve "suction" tekniği ile kaydedilen BAP sinyallerine, iletim hız dağılımını veren matematiksel model uygulanarak, iki puls arasındaki gecikme süresinin değişmesi sonucu iletim hız dağılımı histogramında meydana gelen değişimler incelendi. Bazı durumlarda hızlı ileten liflerle birlikte önemli bilgiler taşıyan yavaş ileten liflerin de aktivitelerinin çift puls tekniğiyle gözlenip gözlenemeyeceği araştırıldı.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Bilinen yöntemlerle dekapite edilmiş kurbağadan izole edilen siyatik siniri, "suction" kaydı yapılmak

üzere içinde Ringer solüsyonu bulunan deney sistemine aktarıldı. "Suction" pipetinin arka ucuna negatif basınç uygulanarak çalışılacak sinir, inceltmiş tarafın içine çekildi. Sinirin diğer ucu kayıt düzeneğindeki uyarıcı elektrotlar üzerine yatırıldı. Pipet içerisindeki Ringer solüsyonu, pipetin arka ucundan gümüş tel ile preamplifikatöre irtibatlandırıldı. "Suction" elektrot ucu uyarıcı elektrotlardan 2,5 cm uzakta iken, Harvard Stimülatör ve Harvard Stimulus İzolasyon Ünitesi aracılığı ile, 0,1 ms süreli, supramaksimal genlikli çift pulslarla uyarımlar gerçekleştirildi. Bu çalışmada 6 adet kurbağa siyatik siniri kullanılmıştır.

Uyarıcı iki puls arası gecikme süresi 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6; 3,4; 3,2; 3,0; 2,8; 2,6; 2,4; 2,2; 2,0; 1,8 ms iken oluşan BAP1 ve BAP2 potansiyelleri, A/D dönüştürücü (Advantech PCL-812PG) ve BIOSIG adlı yazılım aracılığı ile (11), 25 KHz'lik örnekleme hızında, 512 veriden oluşan diziler halinde bilgisayar sabit diskine kaydedildi. Bu veriler model çalışmasında iletim hız dağılımını elde etmek için daha sonra tekrar sabit diskten çağrıldı.

#### Lif Dağılım Histogramunun Belirlenmesi

Kaydedilen BAP'lardan lif dağılım histogramlarını oluşturmak için önceki çalışmalarımızda geliştirilen (2,7) model çalışması kullanıldı. Bu model çalışmamızda, TLAP için,

$$f(t) = A \cdot \sin(t/\tau_{01}) \cdot \exp(-t/\tau_{02})$$

şeklinde bir biçim fonksiyonu tanımlanmıştır. Burada A,  $\tau_{01}$ ,  $\tau_{02}$ , sırayla TLAP'nin genliğini, yükselme hızını ve süresini belirleyen parametrelerdir. Bu parametreler değiştirilerek 3 ve 22  $\mu\text{m}$  arasında 1'er  $\mu\text{m}$ 'lik adımlarla ilerleyerek, 20 lif grubu için ayrı ayrı TLAP'ler elde edildi. Bu TLAP'ler, bilgisayar ortamında, matris formundaki geri problemde yerine konularak lif dağılımını veren modelin sayısal alt yapısı oluşturuldu.

Altı siyatik sinir için kaydedilen tüm veriler (7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6; 3,4; 3,2; 3,0; 2,8; 2,6; 2,4; 2,2; 2,0; 1,8 ms'lik gecikme süreleri için) çağrılarak, model çalışması her bir kayıttaki BAP1 ve BAP2'lere ayrı ayrı uygulandı. Böylece her bir gecikme süresi için BAP1 ve BAP2'lere ait lif dağılım histogramları elde edildi.

Gecikme süresinin değişmesiyle BAP1'de herhangi bir anlamlı değişme olup olmadığını görmek amacıyla, bazı gecikme süreleri (6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6 ms) için bulunan lif dağılım histogramları,



referans olarak seçilen 7 ms'lik gecikme süresinin BAP1 histogramı ile ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Gecikme süresinin küçülmesi durumunda, BAP1 ve BAP2 histogramları arasında hangi gecikme süresinden itibaren anlamlı fark oluşmaya başladığını görmek üzere, her bir gecikme süresi için BAP2 histogramları yine ki-kare testi kullanılarak BAP1 histogramları ile karşılaştırıldı.

### BULGULAR

Kayıt uzaklığı 2,5 cm ve iki puls arası gecikme süresi 7,0 ms, 2,2 ms iken, aynı sinir örneğinden elde edilen BAP1 ve BAP2 potansiyelleri Şekil 1a ve 1b'de verilmiştir.

Kayıt uzaklığı 2,3 cm ve iki puls arası gecikme süresi 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6; 3,4; 3,2; 3,0; 2,8; 2,6; 2,4; 2,2; 2,0 ve 1,8 ms iken "suction" yöntemi ile tek bir sinirden kaydedilen BAP1 ve BAP2 potansiyelleri toplu olarak Şekil 2'de görülmektedir. Gecikme süreleri 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8 ms iken elde edilen BAP1 kayıtlarına model uygulanması sonucunda elde edilen histogramlar Şekil 3'te verilmiştir.

Model kullanılarak BAP1 ve BAP2'lerden elde edilen lif dağılım histogramları, sırayla 7,0; 3,4; 2,2 ms'lik gecikme süreleri için, aynı eksenle karşılaştırmalı olarak Şekil 4a, 4b ve 4c'de verilmiştir. Referans olarak seçilen 7 ms'lik gecikme süresi için bulunan lif dağılım histogramı ile çeşitli gecikme süreleri için bulunan BAP1 lif dağılım histogramlarının karşılaştırılması sonucunda elde edilen ki-kare değerleri Tablo 1'de görülmektedir.

İki uyarar arasındaki gecikme süresi 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6; 3,4; 3,2; 3,0; 2,8; 2,6; 2,4; 2,2; 2,0; 1,8 ms iken elde edilen BAP2 lif dağılım histogramları Şekil 5'te verilmiştir.

Sırayla 7,0; 3,4 ; ve 2,2 ms'lik gecikme süreleri için BAP1 ve BAP2 kayıtlarından elde edilen lif dağılım histogramları karşılaştırmalı olarak Şekil 6'da verilmiştir.

BAP1 ve BAP2 histogramlarının karşılaştırılması sonucunda elde edilen ki-kare değerleri Tablo 2'de toplu olarak görülmektedir.

### TARTIŞMA

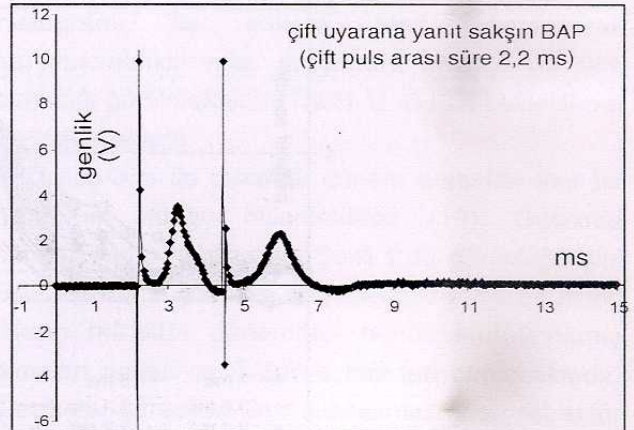
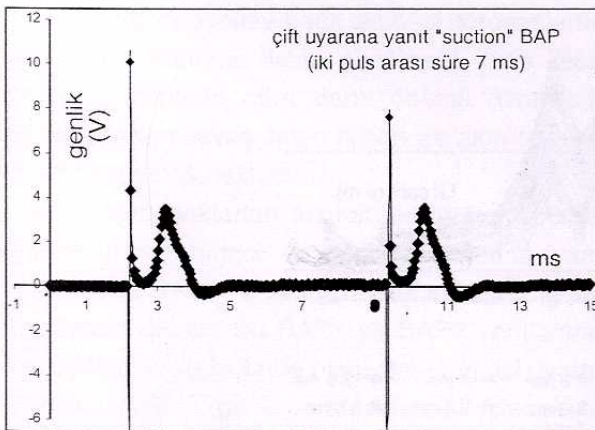
Periferik sinirlerin fonksiyonel durumlarını görmek ve gelişimlerini izlemek amacıyla sinir bileşik aksiyon

**Tablo 1.** Referans seçilen 7 ms gecikme süresi ile çeşitli gecikme süreleri için bulunan BAP1 lif dağılım histogramlarının  $\chi^2$  değerleri ( $\chi^2 < 35$  ise  $p > 0,05$ ).

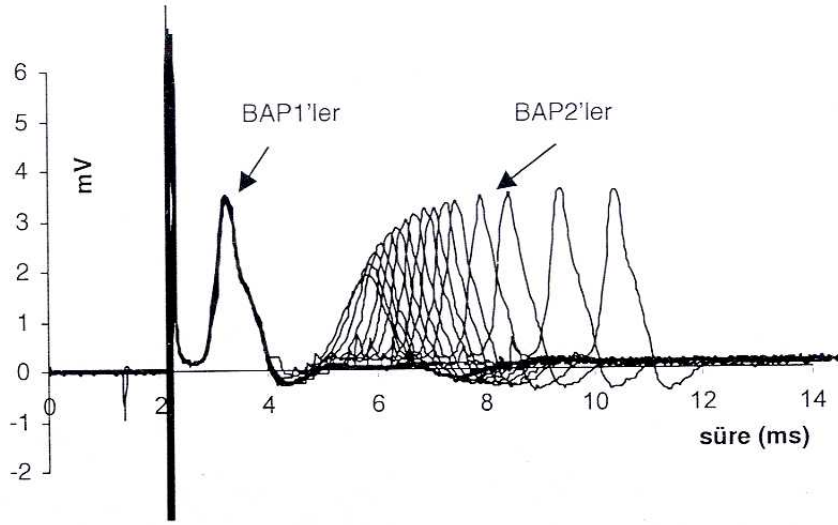
6 ms	5ms	4,5 ms	4 ms	3,8 ms	3,6 ms
0,125	2,44	2,96	0,76	6,04	8,98

**Tablo 2.** Farklı gecikme sürelerinde (ms) BAP1 ile BAP2 lif dağılım histogramlarının  $\chi^2$  değerleri ( $\chi^2 < 35$  ise  $p > 0,05$ ). 7,0

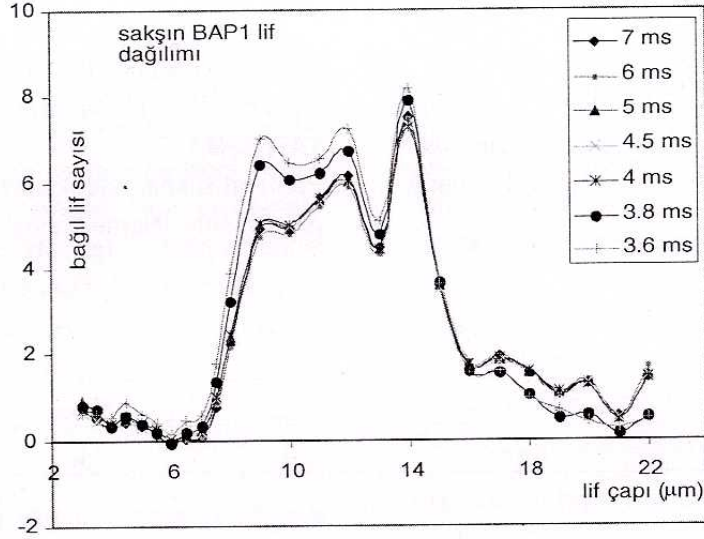
ms	6,0 ms	5,0 ms	4,5 ms	4,0 ms	3,8 ms	3,6 ms	3,4 ms	3,2 ms	3,0 ms	2,8 ms	2,6 ms	2,4 ms	2,2 ms	2,0 ms
-6,65	4,8	-2,7	4,2	7,6	7,3	13,6	24,0	21,3	22,1	24,0	32,7	40,8	53,6	96,2



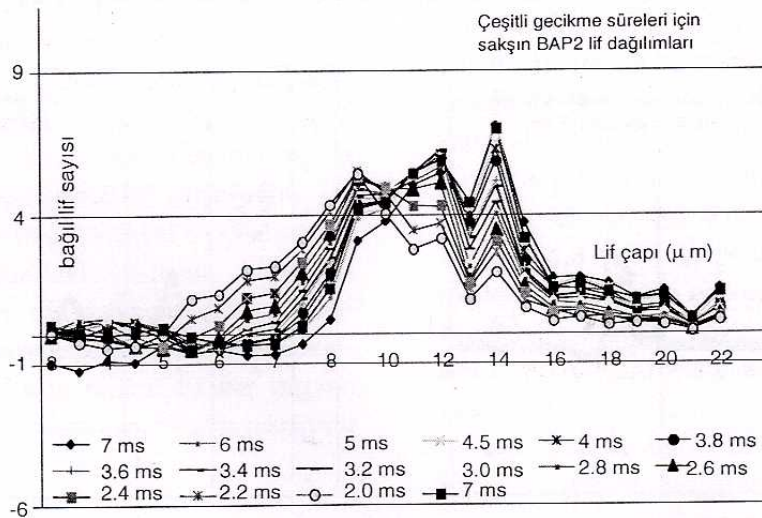
**Şekil 1.** Kayıt uzaklığı 2,5 cm ve iki puls arası gecikme süresi 7,3,4 ve 2,2 ms iken tek bir sinirden kaydedilen BAP1 ve BAP2 ler



Şekil 2. Kayıt uzaklığı 2,5 cm ve iki puls arası gecikme süresi 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6; 3,4; 3,2; 3,0; 2,8; 2,6; 2,4; 2,2; 2,0 ve 1,8 ms iken "suction" yöntemi ile tek bir sinirden kaydedilen BAP1 ve BAP2'ler.

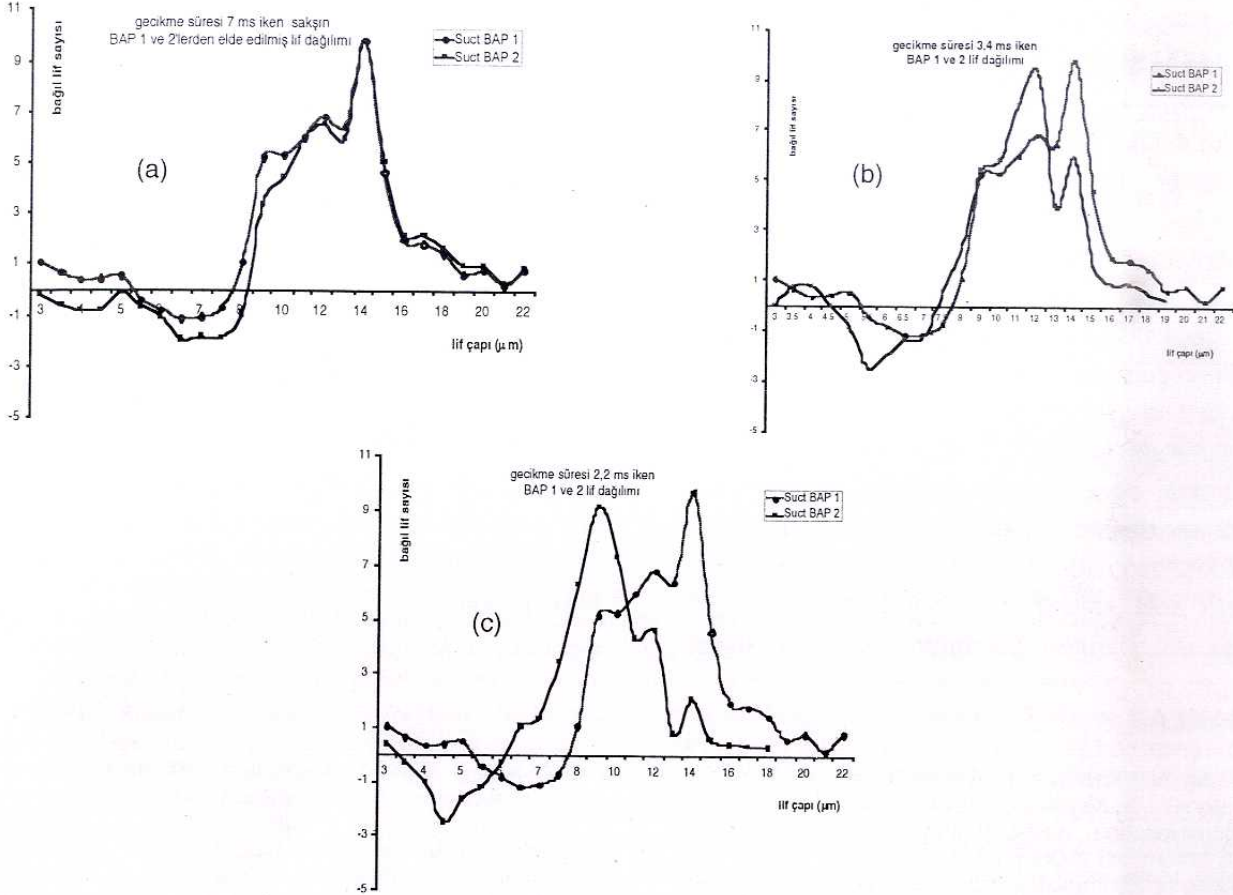


Şekil 3. Birinci ve ikinci uyarın arasındaki gecikmenin 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6 ms olduğunda sadece BAP1' den elde edilmiş lif dağılım histogramları (n=6).



Şekil 4. İki puls arasındaki gecikme süresi 7,0; 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,8; 3,6; 3,4; 3,2; 3,0; 2,8; 2,6; 2,4; 2,2; 2,0; 1,8 ms olduğunda BAP2'lerden oluşturulmuş lif dağılım histogramları (n=6).





Şekil 5. Gecikme süreleri sırayla 7 ms (a); 3,4 ms (b); ve 2,2 ms (c) iken kaydedilen BAP1 ve BAP2'lerden bulunan lif dağılım histogramları (n=6).

potansiyeli analizi üzerine uzun yıllardır çalışılmaktadır (12-16). Bu çalışmalarda genellikle aksiyon potansiyelinin latans değeri, ana bileşenin tepe değerine ulaşma süresi ve tepeden tepeye genliği ölçülmektedir (17). Bunun yanında sadece çapı 9 mm'den büyük olan liflerin bileşik aksiyon potansiyelinin ana bileşenine katkıda bulunabildiği bilinmektedir. Sural sinirlerde bu lifler toplam sinir liflerinin ancak %30'unu oluşturmaktadır. Diyabet, hypereosinophlic syndrome veya mitochondrial hastalıklar gibi nedenlere bağlı aksonal nöropatilerde, yavaş ileten liflerdeki iletim gecikmesi, hızlı ileten liflerdeki gecikmeye göre daha önemli olmaktadır (18). Bu yüzden yavaş ileten liflerin de aktivitelerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Sinire aynı noktadan supramaksimal çift pulslar uygulandığında, birinci ve ikinci uyarılara yanıt olarak sırayla BAP1 ve BAP2 olarak adlandırdığımız potansiyeller oluşur. Bu BAP1 ve BAP2 yanıtlarının aynı büyüklükte ve biçimde olabilmesi için, iki uyarı arasındaki sürenin (gecikme süresi), sinir içindeki en yavaş ileten lif grubunun refraktör döneminden daha uzun olması gerekir. Şekil 2'de görüldüğü gibi, bu süre için 5 ms ve üzeri yeterli olmaktadır. Bu

bağlamda, kurbağa siyatik sinirinde en yavaş ileten liflerin refraktör periyodu yaklaşık 5 ms'dir denilebilir. Birinci uyarı sonucunda sinirdeki tüm lifler uyarılacağı için, BAP1'in genliğinin ve biçiminin gecikme süresi ne olursa olsun değişmemesi gerekir. BAP1 sinyallerine model uygulandığında, gecikme süresinin küçültülmesiyle oluşan BAP1 lif dağılım histogramları Şekil 3'te görüldüğü gibi değişmemektedir. Çeşitli gecikme sürelerine ilişkin BAP1 histogramları, referans olarak seçilen 7 ms gecikme süreli BAP1 histogramı ile ki-kare testi uygulanarak karşılaştırıldıklarında, aralarında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (Tablo 1). Bu da beklentimizi doğrulamaktadır.

İletim hızı ile refraktör dönem arasında ters bir orantının olduğu bilinmektedir (19). Gecikme süresinin küçültülmesiyle, Şekil 2'de görüldüğü gibi BAP2'ler de küçülmeye başlamaktadır. Yavaş ileten liflerin refraktör dönemden henüz kurtulamamış olmaları nedeniyle BAP2'ye katkıları olmamaktadır. Gecikme süresinin her kısaltılmasında, refraktör dönemden kurtulamayan lif sayısı artacağından, BAP2 genliği de kademe kademe azalmaktadır. BAP2 sinyallerinde meydana gelen bu genlik ve biçim



değişmesi, doğal olarak lif dağılım histogramlarına da yansımaktadır. Şekil 4 ve Şekil 5'de BAP2 histogramlarının gecikme süresinin (7 ve 1,8 ms arasında) 0,2 ms'lik adımlarla azaltılmasına paralel değişimi görülmektedir. Tablo 2'den de anlaşılacağı gibi, BAP1 ve BAP2'den elde edilen bağıl lif dağılım histogramları arasında ancak 3,4 ms'lik gecikme süresinden itibaren anlamlı farklılaşma olmaktadır. Bu da, gecikme süresi 3,4 ms'ye indiğinde yavaş ileten liflerin çoğunluğunun refraktör dönemde bulunduğu anlamına gelmektedir.

Gecikme süresinin kısalmasıyla önce yavaş ileten lifler refraktör döneme girer ve BAP2'deki katkıları kaybolur ve eğrinin sağa doğru kayması beklenir. Oysa BAP2'den elde edilen bağıl lif sayısı-lif çapı eğrilerinin sola kaydığı görülmektedir (Şekil 4 ve Şekil 5). Lif dağılım histogramını veren model

#### KAYNAKLAR

1. Dalkılıç N., Pehlivan F. Ekstraselüler ve "Suction" Yöntemleri ile Kaydedilen Siyatik Siniri Bileşik Aksiyon Potansiyellerinin Karşılaştırılması. Ankara Üniv. Tıp Fak. Mecmuası 2000; 53(3):153-160.
2. Dalkılıç N. Ekstraselüler Kayıt ve "Suction" Yöntemleri Kullanılarak Kaydedilen Siyatik Siniri Bileşik Aksiyon Potansiyellerinden İletim Hız Dağılımı Belirlenmesinin Karşılaştırılması Olarak Araştırılması. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 1999.
3. Stys P.K, Ransom B.R., Waxman S.G. Compound Action Potential of Nerve by Suction Electrode: A Theoretical and Experimental Analysis. Brain Research, 1991; 546:19-32.
4. Dorfman L.J. The distribution of conduction velocity (DCV) in peripheral nerves: A review. Muscle & Nerve; 1984; 7:2-11.
5. Waxman S.G. Determination of conduction velocity in myelinated nerve fibers. Muscle & Nerve 1980; 3:141-150.
6. Wells MD, Gozani SN. A method to improve the estimation of conduction velocity distribution over a short segment of nerve. IEEE Trans. Biomed Eng. 1999; 46(9):1107-1120.
7. Dalkılıç N., Pehlivan F. Comparison of Fiber Diameter Distribution Deduced by Modelling Compound Action Potentials Recorded by Extracellular and Suction Techniques. International Journal of Neuroscience; 2002 112(7):913-930.
8. Cummins KL, Perkel DH, Dorfman L.J. Nerve fiber conduction velocity distributions. I. Estimation based on the single-fiber and compound action potentials. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiology 1979; 46:634-646.
9. Cummins KL, Perkel DH, Dorfman L.J. Nerve fiber conduction velocity distributions. II. Estimation based on two compound action potentials. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiology 1979; 46:647-658.
10. Morita G., Tu Y.X., Okajima Y., Honda S., Tomita Y. Estimation of the conduction velocity distribution of human sensory nerve fibers. Journal of Electromyography and Kinesiology 2002; 12:37-43.
11. Pehlivan F., Kızıltan E., Dalkılıç N. Elektrofizyolojik Sinyallerin Kayıt ve Analizi İçin Bir Bilgisayar Programı: BIOSİG. IV. Ulusal Biyofizik Kongresi 1994, İstanbul.
12. Oldfors A., Ullman M. Motor Nerve Conduction Velocity and Nerve Fibre Diameter in Experimental Protein Deprivation. Acta Neuropathol (Berl), 1980; 51:215-221.
13. Felts P.A., Smith K.J. Conduction Properties of Central Nerve Fibers Remyelinated by Schwann Cells. Brain Research, 1992; 574:178-192.
14. Horowitz S.H., Krarup C. Conduction Studies of the Normal Sural Nerve. Muscle & Nerve 1992; 15:374-383.
15. Krarup C., Trojaborg W. Compound Sensory Action Potentials Evoked by Tactile and by Electrical Stimulation in Normal Median and Sural Nerves. Muscle & Nerve 1994; 17:733-740.
16. Schalow G., Zach G.A. Nerve Compound Action Potentials Analysed With the Simultaneously Measured Single Fiber Action Potentials in Humans" Electromyography and Clin. Neurophysiology. 1994; 34:451-465.
17. Oh S.J., Kim d.E., Kuruoglu R. What is the Best Diagnostic Index of Conduction Block and Temporal Dispersion? Muscle & Nerve, 1994; 17:489-493.
18. Skefner J.M., Buchtal F., Krarup C. Slowly Conducting Myelinated Fibers in Peripheral Neuropathy. Muscle & Nerve 1991; 14:534-542.
19. Pehlivan F. Biyofizik. Hacettepe-Taş Kitapçılık, 1989:s69-115.