

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Abdullah TAŞ

**ALKOL BORİK %4'LÜK LOKAL UYGULANIMININ
GUİNEA PİG İÇ KULAĞI ÜZERİNE OLASI
OTOTOKSİK ETKİLERİNİN ELEKTROFİZYOLOJİK
VE ULTRASTRÜKTÜREL DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Yusuf KUL

EDİRNE-2017

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük destek, ilgi ve yardımlarını gördüğüm, bilimsel katkıları ve örnek kişilikleri ile bana rehber olan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet R. KARASALİHOĞLU, Prof.Dr. Muhsin KOTEN, Prof.Dr. Mustafa Kemal ADALI, Prof.Dr. Cem UZUN, Prof.Dr. Recep YAĞIZ, Prof.Dr. Abdullah TAŞ, Yard.Doç.Dr. Selis Gülseven GÜVEN'e; birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Araştırma Görevlisi hekim arkadaşlarıma; tez çalışmamdaki katkıları sebebiyle Prof.Dr. Necdet SÜT'e ve Yard.Doç.Dr. Erdoğan BULUT'a; yarının hekimleri olan intern hekimler ve stajyer hekimler şahsında beraber çalışma şansına sahip olduğum bütün sağlık emekçilerine teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
KULAK ANATOMİSİ	3
KOBAY TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ	12
İŞİTME FİZYOLOJİSİ	12
OTOAKUSTİK EMİSYONLAR	15
İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI	18
ALKOL BORİK	19
OTOTOKSİSİTE	20
OTOTOKSİSİTENİN ODYOLOJİK MONİTÖRİZASYONU	21
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	31
TARTIŞMA	42
SONUÇLAR	48
ÖZET	50
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	54
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

- ABR** : “Auditory Brainstem Response”, İşitsel Beyinsapı Yanıtları
- dB** : Desibel
- DPOAE** : “Distortion Product Otoacoustic Emission”, Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar
- DTH** : Dış Tüylü Hücre
- Hz** : Hertz
- İT** : İntratimpanik
- İTH** : İç Tüylü Hücre
- OAE** : Otoakustik emisyon
- SNR** : “Signal Noise Ratio”, Sinyal Gürültü Oranı
- TEM** : Taramalı Elektron Mikroskopisi
- TEOAE** : “Transient Evoked Otoacoustic Emission”, Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar

GİRİŞ VE AMAÇ

Ototoksisite, herhangi bir terapötik ajanın veya kimyasal maddenin, iç kulak dokularında özellikle VIII. Kranial sinir ve son organlarında hücresel hasar ve fonksiyonel bozukluğa neden olması şeklinde tanımlanmıştır (1,2). Bu toksisite iç kulak yapılarından kokleayı, vestibülü veya her ikisini beraber etkileyebilir. Sistemik antibiyotikler, diüretikler, antineoplastikler, antimalaryal ilaçlar, antiinflamatuvarlar, şelat yapıcı ajanlar yanında topikal olarak kulağa uygulanan ajanlarda ototoksisiteye neden olabilirler (1,3). Topikal ajanlar dış kulak yolu enfeksiyonlarında sistemik tedaviye oranla daha etkilidirler. Enfeksiyon bölgesinde daha yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmeleri ve sistemik yan etkilerden azade kullanılabilmeleri gibi avantajları varken, timpanik zarı perforé veya açık mastoid kaviteli kulaklarda yuvarlak pencere gibi doğal yollar ile direk iç kulağa ulaşmaları ototoksisite potansiyellerini arttırmaktadır (4,5).

Borik asit, borat mineralinin sülfirik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşur ve doğada beyaz kristalize toz halinde bulunur. Borik asit ve tuzları bakterisid, fungusit ve antiseptik olarak 1860'tan beri kullanılmaktalar (6). Günümüzde de borik asit küçük yara ve yanıkların antiseptisinde bir yıkama solusyonu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Borik asit bir çok formuyla aftöz lezyonlar, açık yaralar, ülsere difteri lezyonları, gonore, vajinit gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (7-9). Nihayet kulak burun boğaz hekimliği pratiğinde kullanılabilen farklı formlar içinde 70° alkol ile hazırlanan %4'lük borik asit solusyonu antiseptik, antifungal, antibakteriyel ve hidroskopik etkileri nedeni ile dış kulak yolu iltihabında ve orta kulak iltihaplarında bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (10-12).

Alkol borik topikal olarak nonkolesteatomatöz otitis media ve eksternal otit tedavisinde kulak burun boğaz hekimleri tarafından kullanılmaktadır. Birçok topikal ajanın ototoksik etkileri detaylı bir şekilde araştırılmış olmasına rağmen literatürde alkol borik ile ilgili çalışma sayısı sınırlıdır. Bu sınırlı sayıda çalışmada olası ototoksik etki elektrofizyolojik testlerle değerlendirilmiş olup, histopatolojik inceleme yapılmamıştır (13,14). Biz bu nedenle %4'lük alkol borik topikal uygulamanın olası ototoksik etkilerini elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel düzeyde incelemeyi amaçladık.



GENEL BİLGİLER

KULAK ANATOMİSİ

Kulak işitme ve dengenin periferik organıdır ve temporal kemik içine yerleşmiş, görevleri ve yapıları birbirinden farklı üç bölümden oluşur: 1-Dış kulak, 2-Orta kulak, 3.İç kulak(15).

Dış Kulak (*Auris Externa*)

Kulak kepçesi(*Auricula*) ve dış kulak yolu(*Meatus acusticus externus*) dış kulağın iki kısmını oluşturur(16).

Kulak kepçesi, deri ve perikondrium ile örtülü ince elastik bir kıkırdak yapıdan oluşmuştur.

Dış kulak yolu, konkadan kulak zarına kadar olan mesafeyi içine alır(15).Hafif 'S' şeklinde oblik yerleşimi bulunan dış kulak yolunun arka-üst duvar uzunluğu yaklaşık olarak 25 mm iken, ön-alt duvar uzunluğu 31 mm'dir(15,17).Dış kulak yolunun 1/3 dış bölümünü arka üst kısmı açık bir boru biçimindeki fibro elastik bir yapı (kıkırdak) oluştururken 2/3 iç bölümü ise kemiksel yapıdadır. Dış kulak yolunun kıkırdak kısmını kaplayan deride kıl kökü yağ, ter ve serumen bezleri bulunmaktadır. Kemik kısmını kaplayan deri ise oldukça ince olup sadece periostun üzerini kaplar; yağ, kıl ve serumen bezleri bulundurmaz(15-17).

Orta Kulak(*Auris Media*)

Kulak zarı ile kemik labirent arasında yerleşim gösteren ve üstü müköz membranla örtülü bir bölümdür. Vertikal ve anteroposterior çapları 15 mm, mediolateral derinliği üstte yaklaşık 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm' ye kadar iner (17).

Orta kulak boşluğu, ön tarafta *tuba auditiva* (östaki borusu) ile nazofarinkse açılmakta, arkada ise *aditus ad antrum* yolu ile mastoid mastoid antrum ve hücreleri ile devamlılık göstermektedir (16). Orta kulak kavitesi topografik olarak kulak zarına göre üç bölümden oluşur. Mezoimpanum kulak zarı seviyesini, epitimpanum kulak zarının üstünde kalan kısmı, hipotimpanum ise kulak zarının altında yer alan orta kulak boşluğunu ifade eder (15).

Orta kulak kavitesinin 6 duvarı bulunmaktadır:

Üst duvar (*tegmen tympani*): Bu duvar epitimpanum tavanını oluşturmaktadır. Orta kulak boşluğunu orta fossa durasından ayırır.

Alt duvar: Hipotimpanumun döşemesini oluşturur. Bulbus vena juguli ve internal karotis arter ile komşuluğu bulunmaktadır.

Ön duvar: Ön duvarın en alt kısmı *canalis caroticus*'un dikine parçasıyla komşuluk gösterir. Üstte tensor timpani kasını içinde bulunduran yarım kemik kanal ve hemen altındaysa östaki borusunun timpanik orifisi yer alır.

Arka duvar: Orta kulak ile mastoid arasındaki duvardır. Üstteki parçasını *aditus ad antrum* oluşturur. *Eminentia pyramidalis* burada bulunur. *Eminentia pyramidalis*'inde *m. stapedius* yer alır. Bu bölüm fasial sinirin ikinci parçası ile yakın komşuluk gösterir. *Chorda tympani eminentia pyramidalis*'in lateralinden orta kulağa girer. *Chorda tympani* ile *eminentia pyramidalis* arasında *recessus fasialis* bulunmaktadır. *Eminentia pyramidalis* medialinde sinüs timpani yer alır (15-19).

Dış duvar: Bu duvarı kulak zarı ile skutum oluşturur. Skutum epitimpanumda *incisura tympanicus*'u üstten örten skuamöz kemiğin uzantısıdır. Kulak zarı, timpanik kemiğin *sulcus tympanicus*'una uyan Gerlach halkası olarak adlandırılan fibröz anulus aracılığı ile tespit edilmiştir (15,17,18,20). Anulus üst tarafta tam değildir. Posterior ve anterior malleolar ligamentlerle devam eder. Kulak zarının bu ligamentler üzerinde yer alan gevşek bölümüne *pars flaccida* (Shrapnell zarı), alttaki gergin kısma ise *pars tensa* adı verilir. Kulak zarı oval biçimli, yarı geçirgen ve sedef renktedir. Vertikal uzunluğu 9-10 mm olan zarın horizontal uzunluğu 8-9 mm, kalınlığı ise 0.1 mm'dir (16,20-23). Kulak zarının *pars tensa* kısmında, ortada yukarıdan aşağıya doğru uzanım gösteren malleusun kulak zarı içerisinde yer alan kısmı olan *manubrium mallei* bulunur. *Manubrium mallei*'nin bitimindeki nokta şeklindeki

görüntü umbo olarak adlandırılır (16-18). Umbodan başlayarak öne ve aşağıya doğru kulak zarının kenarına kadar ilerleyen üçgen biçimindeki aydınlık bölgeye Politzer üçgeni denir (19). Kulak zarının pars tensa bölümü üç tabakadan oluşmuştur. Dış yüzde dış kulak derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve bunların arasında ise fibröz tabaka yer alır (15-18). Kulak zarının *pars flaccida* bölümünde fibröz tabaka bulunmamaktadır (16).

İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayıran duvardır. Epiteimpanum kısmında horizontal, anterior ve posterior vertikal semisirküler kanal ile fasial sinirin geçtiği Fallop kanalı yer alır. Mezoimpanumdaki iç duvarda ise fasyal sinirin hemen alt kısmından başlayan ve kokleanın birinci turu hizasına rastlayan promontoryum ve labirent pencereleri vardır. Promontoryumun arka üst tarafındaki çukurluk, oval pencere (*fossula fenestra vestibuli*) olarak adlandırılır. Stapes tabanı buraya yerleşir. Promontoryumun arka alt tarafında yuvarlak pencere (*fossula fenestra cochlea*) yer alır ve *membrana secundaria* olarak isimlendirilen fibröz bir doku ile örtülüdür (15-19). Timpanik boşluğa uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına temel geçiş yeri olan yuvarlak pencere yaklaşık 1.5 mm genişliğinde ve 2-3 mm uzunluğundadır (24). Yuvarlak pencere nişinin şekli, orta kulak efüzyonlarının ve orta kulaktaki değişik maddelerin bu bölgede birikmesine sebep olur (25). Bu şekilde orta kulak sıvılarının iç kulağa difüzyonlarının artmasına neden olabilir. Bunun yanında yuvarlak pencere membranı ses iletiminde de rol alır. Promontoryumun orta kısmında sinir ve damarlardan oluşmuş bir ağ (*plexus tympanicus*) yer alır (15-19).

Orta kulak kavitesinde malleus, incus ve stapes olmak üzere üç adet hareketli kemikçik bulunmaktadır (16-18,22). Kemikçikler manubrium mallei ile kulak zarına ve anuler ligament aracılığı ile oval pencereye bağlanmışlardır. Kemikçiklerin arasındaki inkudo-malleolar ve inkudo-stapedial olmak üzere iki eklem bulunur. Bunun yanında kemikçikleri orta kulak duvarına bağlayan dört ligament ve iki kas bulunur. Dört ligament ve iki kas bulunur. Dört ligamentin üçü malleusa biri ise inkusa aittir. Kemikçiklere tutunan kaslar *m.stapedius* ve *m.tensor tympani*'dir (15,18,23).

İç Kulak (*Auris Interna*)

İç kulak, işitme ve denge ile ilgili reseptörlerin yer aldığı bölümdür ve temporal kemiğin petröz parçasında yer almaktadır (15-17). Oval ve yuvarlak pencere aracılığı ile orta kulakla, koklear ve vestibüler aquaduktus yolu ile kaya içi ile bağlantılıdır (15,16).

İç kulağın kan akımı *a. auditiva interna* (labirentin arter) ile gerçekleşir. *A. auditiva interna* çoğunlukla *a.cerebelli inferior anterior*'un dalıdır. Ancak, bazen direk olarak baziler

arterden hatta vertebral arterden bile kaynaklandığı olur (16,19-21,26). İç kulağın venöz dönüşü ise arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yoluyla meydana gelen labirentin ven ile olur. Lenfatik sistem perilenf ve endolenf olarak kabul edilir (27).

İç kulak sıvıları perilenf, endolenf ve korti lenf olmak üzere üç türden oluşmaktadır. Perilenf kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıya benzer, Na+'dan zengin (Na+ 148 mEq/L), K+'dan ise fakirdir (K+ 4-6 mEq/L). Endolenfin yapımında *stria vaskularis* rol almaktadır. K+ açısından zengin (K+ 140-160 mEq/L), Na+'dan fakirdir (Na+ 6-10 mEq/L). Kortilenf Corti tüneli ile Nuel boşluklarında yer alır. Beyin omurilik sıvısından kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde uzanım gösteren akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin K+ içeriğinin yüksek olması sinirsel iletiyi engelleyeceği için Corti tünelinin içinde uzanım gösteren dış tüylü hücrelere ait lifler kimyasal açıdan perilenfe benzeyen kortilenfle sarılmıştır (21).

İç kulak membranöz (zar) ve kemik (periotik) labirent olmak üzere iki bölümden oluşur (16-19).

Kemik labirent: Otik kapsül olarak adlandırılan sert kompakt kemik dokusu tarafından oluşturulur. Zar labirentse bunun içinde bulunur. Aralarında perilenf denen sıvı yer alır (26). Kemik labirent şu kısımlardan meydana gelir:

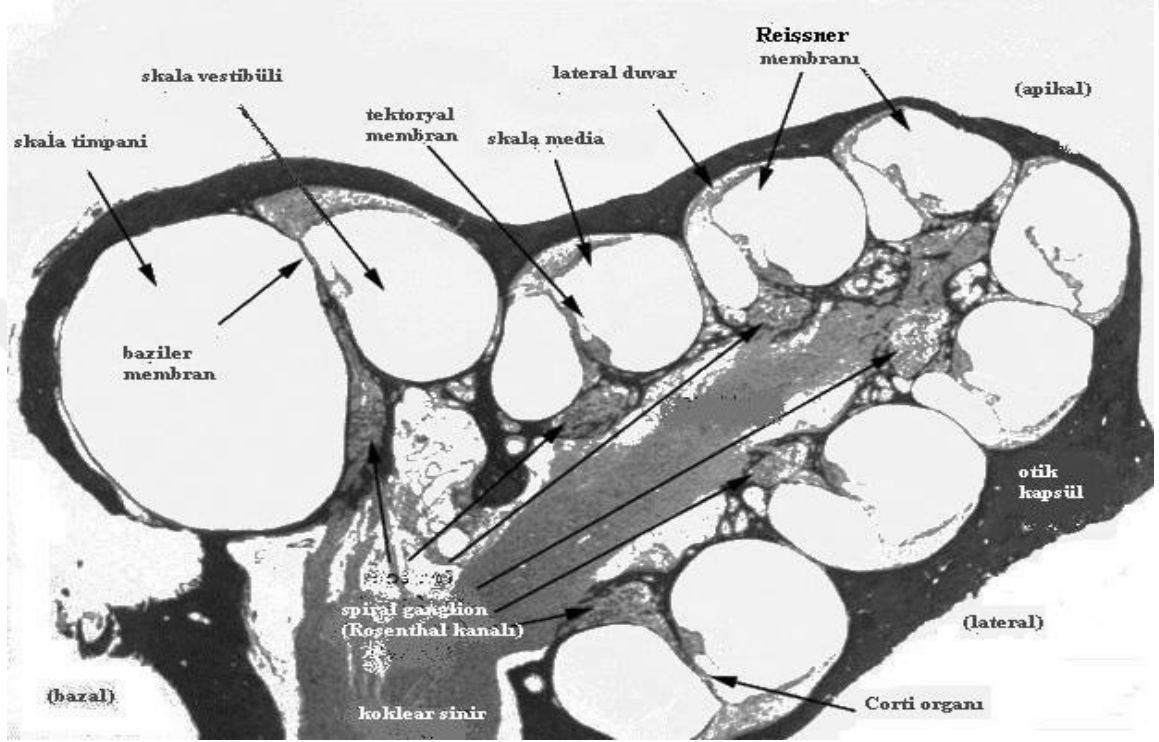
- 1- Vestibulum
- 2- Kemik semisirküler kanallar
- 3- Koklea
- 4- Vestibuler akuaduktus
- 5- Koklear aquaduktus

1- Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid şekilde boşluktur. Dış yan duvarı oval ve yuvarlak pencere aracılığı ile timpanik boşluğa; ön duvarsa kokleaya komşudur. Arka üst duvarda semisirküler kanallarla birleşir. İç yan duvardaysa ön altta sakkulusun yerleştiği sferik reses, arka üstte ise utrikulusun yerleştiği eliptik reses yer alır (26,27).

2- Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior, lateral adlı üç semisirküler kanal uzayın üç düzlemine yerleşik bulunmaktadır. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadar olan bu semisirküler kanallar vestibulumu açılır (17,26,27).

3- Koklea: İç kulağın ön tarafında bulunan ve şekil olarak salyangozu andıran kemik bir tüptür. Modiolus, canalis spiralis cochlea ve lamina spiralis ossea'dan meydana gelir. Modiolus, kokleanın eksenini oluşturur. Modiolustaki ince kanallardan koklear damarlar,

sekizinci kranial sinirin lifleri uzanım gösterir. Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral biçimde olmasından dolayı modiolusun spiral kanalı olarak da adlandırılan Rosenthal kanalına açılırlar (Şekil 1) (28). Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen Corti ganglionu yer alır.



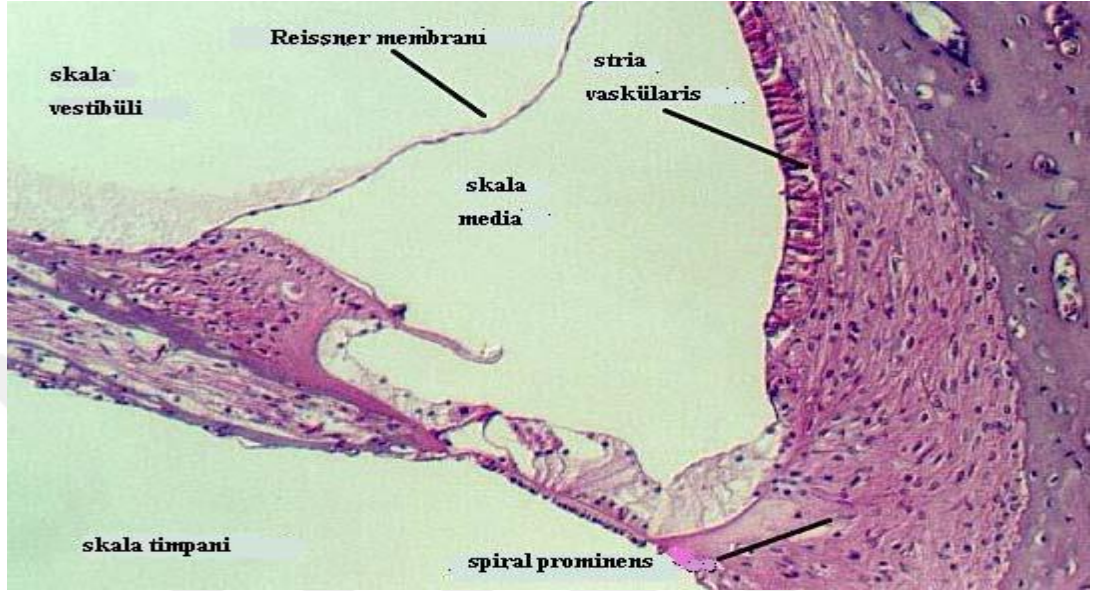
Şekil 1. Kokleanın radyal kesiti (bazal→apeks) (28)

Canalis spiralis cochlea, modiolustan uzanım gösteren kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devamlılık bulur ve karşı duvara ulaşarak *canalis spiralis cochlea*'yı iki parçaya böler. Vestibulumuna açılan üstteki parçaya vestibuler skala, fenestra koklea aracılığı ile kavum timpaniye açılan alttaki parçaya ise skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema olarak adlandırılan açıklıkla birleşirler.

Lamina osseanın serbest kenarıyla *canalis spiralis cochlea*'nın dış yan duvarı arasındaki baziler membranın üst tarafında, Corti organı (Şekil 2) adı verilen işitme organı yer alır (26-28).

4- Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlayıp petröz kemiğin fossa subarkuata denilen çukurunda sonlanır. Bu kanalın içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus vardır (18,26,27).

5- Aquaduktus koklea: Skala timpaniden başlayıp petröz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. Periotik doku ile doludur ve gerçek bir kanal niteliği taşımaz (15).



Şekil 2. Koklear skalalar ve Corti organı (28)

Zar labirent: Zar labirenti oluşturan bölümler; utrikulus, sakkulus, duktus semisirkularis, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis'dir.

1- Utrikulus: Hafifçe düzleşmiş oval bir keseciktir ve vestibulun girişini işgal eder. Ön ve dış bölümünde makula bulunur. Burası denge sisteminin duyarlı epitelini içerir.

2- Sakkulus: Sakkul de oval biçimlidir fakat utrikulustan küçüktür. Yapı bakımından utrikulusun aynısı olmasına rağmen, makulası utrikulustaki gibi yatay değil, dikey konumda yerleşmiştir. Makulalar yer çekimi ve lineer hareketlerden etkilenirler (15).

3- Duktus semisirkularis: Kemik semisirkuler kanalların içerisinde bulunurlar. Ancak kemik kanalların 1/5 kalınlığındadır. Diğer 4/5'lik kısmı perilenf ile doludur. Membranöz kanalların ampullalarında krista ampullaris adı verilen bölgelerde duyu epitelini mevcuttur.

4- Duktus endolenfatikus: Duktus utrikulosakkularis adlı borucuktan doğar. Aquaduktus vestibuli adlı kemik kanal içinde ilerler. Fossa subarkuatadaki sakkus endolenfatikus adlı şişlikte duramater altında sonlanır.

5- Duktus perilenfatikus: Aquaduktus koklea içerisinde bulunur ve skala timpani ile subaraknoidal boşluğu birleştirir. İçinde perilenf bulunur (26,27).

6- Duktus koklearis: Membranöz labirentin bu parçası kemik kokleanın spiral kanalını tüm uzunluğunca takip eder (17).

Üçgen şeklindeki koklear duktus üç bölgeye ayrılabilir:

- 1- Skala media ve skala vestibüli arasındaki sınırı oluşturan Reissner membranı.
- 2- Spiral ligaman, stria vaskülaris, spiral prominens ve dış sulkusu içeren lateral duvar.
- 3- Skala media ve skala timpani arasında sınır oluşturan baziler membran ve osseöz spiral lamina.

Reissner membran (Vestibüler membran); Skala mediayı skala vestibüliden ayıran üç katmanlı bir yapıdır. Bu üç katmanlı yapı, bir bazal lamina ile ayrılan iki hücre tabakasından oluşur. Reissner membranı spiral limbusun modiolar kenarına ve lateralde stria vaskülarisin apeksinde spiral ligamana yapışır.

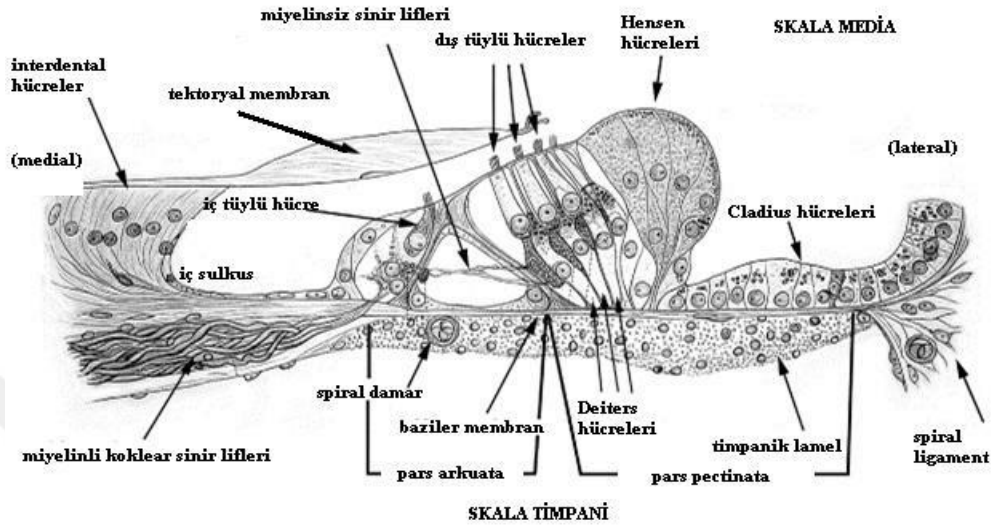
Spiral ligaman; Koklear duktusun lateral duvarının en büyük kısmını oluşturur. Gevşek bağ dokusu ve iyon transportunda görevli enzimleri içeren hücrelerden oluşur. Lateral sınırını otik kapsülün iç yüzü, medial sınırını ise stria vaskülaris ve spiral prominens oluşturur. Spiral ligaman skala vestibüli ve skala timpani içlerine kadar uzanarak bu iki perilenfatik kanal arasındaki ilişkinin lateral yolunu oluşturur. Spiral ligaman matriksi fibroblast benzeri hücreler ve çok sayıda ekstraselüler filaman içerir. Spiral ligamanda tip I fibroblast benzeri hücreler baskındır. Bununla birlikte diğer 4 tip fibroblast benzeri hücre (II,III,IV,V) ve dış sulkus hücreleri spiral prominens yakınlarında bulunabilir.

Stria vaskülaris; Reissner membranının yapışma yerinden spiral prominense kadar uzanır. Stria vaskülaris bazal membranı olmayan özel bir epiteldir. Temel olarak üç hücre tipi (marjinal, intermediate ve bazal hücreler) içeren stratifiye epitelyum ve intraepitelyal kapillerlerden oluşur. Marjinal hücreler stria vaskülarisin temel fonksiyonel birimidir. Pozitif endokoklear potansiyel üretir ve endolenfin düşük sodyum, yüksek potasyum iyon konsantrasyonunun sürdürülmesini sağlar.

Spiral prominens; Stria vaskülaris ve baziler membran arasında uzanan bir doku kenarıdır. Spiral prominensin konnektif doku matriksi omega şeklinde kapillerler ve çok sayıda tip II fibroblast hücreleri içerir. İyon transportunda görev alır. Dış sulkus; Spiral ligaman ve baziler membranın Claudius hücreleri tarafından oluşturulan açık kanala denir (26).

Baziler membran; Kemik spiral laminanın lateral kenarından spiral ligaman içine kadar uzanır. İnsanda ortalama uzunluğu 31.5 mm'dir. Genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru artar. Baziler membranın uzunluğu boyunca, kalınlığı ve genişliğindeki değişiklikler membranın frekans spesifik maksimum vibrasyonlar ve "travelling wave"

oluşumundan sorumludur (15, 26). Baziler membranın dış tarafında Claudius ve Boettcher hücreleri bulunur. Bundan sonra Corti organı başlar (Şekil 3) (15,26,28).



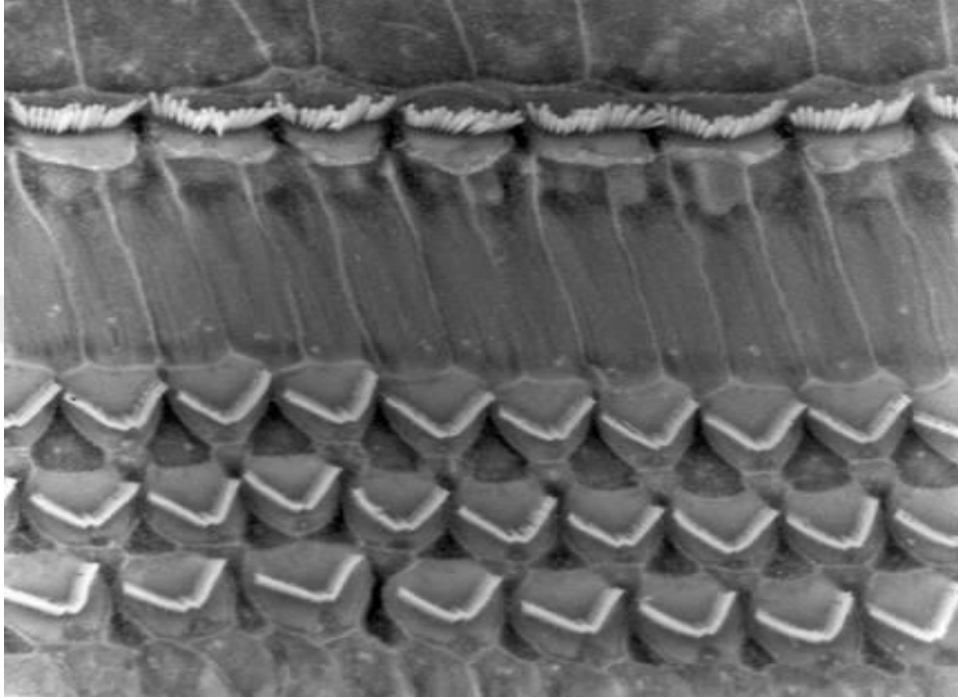
Şekil 3. Baziler membran bölgeleri ve Corti organı (28)

Corti organı: Baziler membranın iç kenarında dizilmiş nöroepitelial yapıları içerir. İnsanda koklea içerisindeki toplam uzunluğu yaklaşık 35 mm civarındadır. Genişliği bazalden apekse giderek artar. İç ve DTH'ler olmak üzere 2 farklı duyuşal hücre ve destek hücrelerini içerir. DTH'lerin etrafını saran geniş bir ekstrasellüler boşluk (Nuel boşluğu) ve DTH ile İTH arasında tünel biçiminde bir boşluk (Corti tüneli) bulunur. Bu boşluklar destek hücrelerinin özelleşmesi ile meydana gelir. Boşlukların içerisinde perilemf bulunur.

Corti organı yapısında destek hücreler olarak; Hensen hücreleri, Deiters hücreleri, sütun hücreleri (pillar hücreler) ile falangeal (parmaksı) hücreler bulunmaktadır (26,28). Corti organı yapısındaki DTH'ler ve İTH'ler mekanik (akustik) enerjinin, elektriksel (nöral) enerjiye transdüksiyonunda majör rol oynar. Her iki hücre morfolojik olarak ve nöral innervasyon yönünden belirgin farklılık gösterir (15,29).

Dış tüylü hücreler; silindirik yapıda olup, nükleusları bazal yerleşim gösterir. 3-4 sıra halinde bulunurlar. Dış tüy hücre demetleri karakteristik olarak "W" şeklinde izlenir. Tektoryal membran ile temas halindedir ve 3 sıralı 46-148 adet stereosilyadan oluşur. DTH'lerin uzunlukları koklea bazalinden apekse doğru giderek artar. Stereosilyalarında da benzer bir artış olur.

İç tüylü hücreler; basık ve silindirik yapıdadır. Genelde tek sıra halinde yerleşirler. Bu hücrelerin tüycükleri düz bir hat veya geniş bir “U” şeklinde dizilirler. Stereosilyalar tektoryal membran ile temas etmez. Her hücrenin tüyleri, apeksleri modiolustan uzakta yerleşmiş, 2 sıralı ve çift “V” şeklinde (Şekil 4) düzenlenmiş 120 stereosilya içerir (26,28).



Şekil 4. İç ve dış tüylü hücre stereosilya diziliminin Taramalı Elektron Mikroskop görüntüsü (28)

Afferent sinir liflerinin %90-95'i İTH'ler ile sinaps yapar. Bunlar Tip I nöron olarak adlandırılır. Her bir İTH yaklaşık 15-20 Tip I nöron tarafından innerve edilir. DTH'ler geri kalan %5-10'u tarafından innerve edilir. Bunlara Tip II nöron denir. Her bir Tip II nöron yaklaşık 10 DTH'i innerve eder. Tip I'ler miyelinli liflerdir. Tip II nöronlar ise miyelinsizdirler. İç ve DTH'leri innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmiştir (15, 17, 26, 30).

KOBAY (GUINEA PIG) TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ

Koklea, timpanik bulla içindeki en belirgin yapıdır ve timpanik bulla medial duvarının büyük bölümünü yapar. İç kulak kavitesi geniştir ve iç kulak ince bir duvarla sarılmıştır. Koklea ve her üç semisirküler kanal orta kulak kavitesinde çıkıntı yaparlar ve böylece kolaylıkla tanınabilirler (31). Koklea insanda olduğu gibi skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç tubuler kompartmandan oluşur. Kobay ve insan kulağı

morfolojisi bir çok yönden benzerlikler göstermesine rağmen bazı farklılıklar mevcuttur. Bu farklılıklar şunlardır (31-33):

- Kulak zarı ve timpanik halkanın boyutları temporal kemiğin büyüklüğüne oranla insandakinden daha büyüktür. Kulak zarında pars flaccida yoktur.
- Havalı hücre sistemi daha basit olup dört büyük hücreden oluşur ve insandaki trabekülasyon yoktur.
- Kobaylarda timpanik bulla olarak adlandırılan çok geniş ve muntazam bir orta kulak boşluğu mevcuttur.
- Kemikçikler iki tanedir (malleoinkudal kompleks ve stapes).
- Östaki tüpü tamamen kıkırdak yapıdadır.
- Koklea bulla içerisine projekte olur. Timpanik bullanın medial duvarının büyük bir kısmını oluşturur.
- Kobaylarda internal akustik meatus bulunmamaktadır.
- Kobaylarda koklea 3.25 veya 4.25 tur dönüş yapar. İnsanda ise dönüş sayısı 2.5-2.75'dir.

İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Aurikulanın topladığı ses enerjisinin, kulağın çeşitli bölümlerinde değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri halinde beyine gönderilip burada ses halinde algılanması olayına işitme denir (16). İşitme, işitme sistemi (auditory system) adı verilen geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Dış, orta ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır (15). İşitme organı fonksiyonel bakımdan iki kısımda incelenir:

- 1- İletim aygıtı
- 2- Persepsiyon (algı) aygıtı

Bunlardan iletim aygıtı; dış kulak ve orta kulak, persepsiyon aygıtı ise iç kulak, işitme siniri ve onun santral bağlantıları ile işitme merkezinden oluşur (16). Ses dalgasının Corti organına iletilmesi sürecinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici etkileri vardır (17). İşitme fonksiyonu ses dalgalarının dış kulak yoluna girmesi ile başlar. Dış kulak yolu ses dalgalarını sıkıştırır ve gergin olan kulak zarına iletir. Hava yolu denilen bu sisteme karşılık kafa kemikleri de titreşimleri iç kulağa kadar ulaştırabilmektedir. Buna kemik yolu denilmektedir. Normal bir kulakta hava yolu ile işitme, kemik yolu ile işitmeden ortalama iki kat fazladır (16).

İşitme için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden Corti organına iletilmesi gerekir (iletim-kondüksiyon). Bu mekanik bir olaydır ve sesin bizzat kendi enerjisi ile sağlanır. İkinci

olarak Corti organında, ses enerjisi biyokimyasal olaylar ile sinir enerjisi haline dönüştürülür (dönüşüm-transdüksiyon). Üçüncü olarak iç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriki akım kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur. Bu olaya neural coding ya da relay adı vrilir. Son olarak da tek tek gelen bu sinir iletimleri işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür (15).

Dış Kulak Yolu Fizyolojisi

Kulak kepçesi, konumu ve biçimi ile çevredeki sesleri toplamaya, yönlendirmeye yarar. Konka ise megafon görevi yapar ve ses dalgalarını dış kulak yolunda yoğunlaştırır. Bu şekilde ses dalgalarının şiddetini 6 dB arttırdığı sanılmaktadır. Ses dalgalarının atmosferde yayılması ile dış kulak yolundaki yayılması karşılaştırıldığında yetişkin bir insanda sesin şiddetinin arttığı ve bu artışın 1000-8000 Hz frekansları arasında olduğu saptanmıştır. Normal yetişkinlerde bu şiddet artışı 3500-4000 Hz frekansındaki en yüksek değerine erişmektedir (15,30,34,35).

Orta Kulak Fizyolojisi

Orta kulak ses enerjisini dış kulak yolundaki hava ortamından kokleadaki sıvıya iletim rolünü üstlenir (30,36). Ses dalgaları ortam değiştirirken hava ve perilenf arasındaki rezistans farkından dolayı yaklaşık 30 dB kayba uğrar. Orta kulağın görevi ortam değiştirmekten meydana gelen bu kaybı karşılamak yani sesin şiddetini 30 dB artırmaktır (15,36). Orta kulak burada transduser gibi rol oynayarak impedans adaptasyonu sağlar ve koklear sıvılara geçen akustik enerji amplifiye olur (34,36).

Orta kulak sesin şiddetini üç mekanizma ile artırır (15):

- 1- Kulak zarının yükseltici etkisi (catenary lever)
- 2- Kemikçik sisteminin yükseltici etkisi (ossicular lever)
- 3- Kulak zarı ve stapes taban yüzeyleri arasındaki büyüklük farkı (hydrolic lever).

Kulak zarı ses alıcısı ve transformatördür. Kulak zarının titreşim bakımından kemik anulus ve manibrium mallei olmak üzere iki sabit noktası vardır. Kulak zarı kemiğe sıkıca yapıştığı için anulusda titreşmez, ancak ince olan orta kısımda titreşir. Bu şekilde ses enerjisi kısmen hareketli manubriuma büyüyerek geçer. Buna "catenary lever" denilmektedir. Sonuçta dış kulak yolundan kulak zarına gelen ses enerjisi kemikçik sistemine amplifiye edilerek ulaştırılır (15). Kemik zincirinin manivelası malleus başı ile lentiküler çıkıntı arasındadır. Bu sistemin yükseltici etkisi umbo ve processus brevis arasındaki doğru ile inkus'un uzun kolunun birbirine oranından ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde kemikçik sisteminin yükseltici etkisi 1,3/1

olarak hesaplanmıştır. Bu yaklaşık 2,5 dB'lik artış sağlar (15,16,30). Orta kulağın amplifikatör etkisinde en önemli rol hidrolik mekanizmaya aittir. Bu mekanizma kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki yüzey alan farkından kaynaklanmaktadır. Kulak zarının titreşime katılan bölümü $\sim 55 \text{ mm}^2$, oval pencere membranının yüzölçümü $\sim 3.2\text{-}3.5 \text{ mm}^2$ 'dir. Bunun ikisinin arasındaki oran 17/1 'dir. Bu yaklaşık 25 dB'lik bir artışa neden olur(16).

Orta kulak kaslarının ses iletimini etkilediği aşıkardır, ancak hala bu etkinin derecesi ve ayrıntıları tam olarak bilinmemektedir (30). M. stapedius ve m. tensor tympani'nin kontraksiyonları şiddetli sesleri söndürme (attenuation) etkisi ile iç kulak yapılarını koruyucu etkiye sahiptir (35,36).

Orta kulak, genel olarak bakıldığında sesleri iç kulağa geçiren pasif bir mekanik sistemdir. Orta kulak mekanik bakımdan lineer özelliklere sahiptir. Yani sesin şiddeti yükselince iç kulağa iletilen enerji miktarı da yükselir. Orta kulağın bu görevine transfer fonksiyonu adı verilir. Alçak frekanslar için lineer özellikler değişmese bile yüksek frekanslarda kulak zarı titreşimleri düzensiz bir hal alır ve şiddet yükselmesi ile paralel olmayan bir enerji iç kulağa iletilir (30,36).

İç Kulak Fizyolojisi

Kemik zinciri ile iletilen ses, kokleadaki iç kulak sıvısına oval pencere yoluyla girer. Normal koşullarda kulak zarı ve kemikçik sistemi ile oval pencereye ulaşan ses enerjisi hem hızlı hem de yukarıda bahsedilen üç sistemin yükseltici etkisinden dolayı, hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşan ses enerjisinden fazladır. Pencereye ulaşan iki ayrı ses dalgası arasında iletim hızının farklı olması yüzünden faz farkı ortaya çıkar. Bu faz farkı sonucu, ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziler membranda titreşimler meydana gelir (15,16). Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy, bu harekete gezinen dalga "travelling wave" adını vermiştir (15).

Bazal turda baziler membran daha gergindir ve baziler membran genişliği arttıkça gerginlik giderek azalır. Bu fark nedeniyle ses dalgası bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile götürülmüş olur. Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da, baziler membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziler membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde baziler membran amplitüdü bazal turda en yüksek seviyededir. Buna karşılık alçak frekanslarda baziler membran amplitüdü apikal turda en yüksek seviyeye erişir (15,16,30,36). Bu yüzden yüksek frekanslı seslerde gezinen dalga bazal turda kalır, fakat alçak frekanslı seslerde bazal turdan başlayarak apikal tura kadar devam eder (15,30). Orta kulaktaki lineer özelliklerin aksine baziler membrandaki

titreşim amplitüdüleri non-lineerdir. Yani şiddetin artması ile amplitüd aynı oranda artmaz ve bu özellik yüksek frekanslarda daha belirgindir (36).

Corti organının iç ve DTH'leri, mekanik (akustik) enerjinin elektriksel (nöral) enerjiye dönüşümünde (transduction) major bir rol oynar. Dönüşüm olayının meydana gelişinde tüylü hücre ve stereosilya kompleksinin rolü olduğu herkes tarafından kabul edilmektedir. Stereosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Bu kanallar stereosilyaların hareketleri ile açılır veya kapanırlar. Baziler membran hareketleri ile stereosilyalar hareket eder ve iyon kanalları hareketin yönüne göre açılır veya kapanırlar. Sonuçta, baziler membran hareketleri elektriki akıma dönüşmüş olur ve kendileri ile ilişkili olan afferent sinir liflerine bu elektriki potansiyel aktarılır. Sinir lifleri ile hücreler arasında spesifik bir nörotransmitter olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Sinir lifleri ilgili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtır. Karakteristik frekansı ve nonlinear özellikler, aynen sinir liflerinde de görülür. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur (30,34). Bu enerji de sinir impulsları doğurarak sesin VIII. sinir lifleriyle merkeze iletilmesine sebep olur. Ses uyarınları taşıdıkları frekanslara göre beyinde değişik yerlerde sonlanır. Yüksek tonlar işitme merkezinin derinliklerinde düşük tonlar ise yüzeylerinde sonlanır (16). İşitme merkezi temporal lobdaki Sylvian yarığında yerleşmiştir (30).

OTOAKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonlar (OAE), kokleadaki aktif süreçlerin bir yansıması olarak ortaya çıkan ve dış kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli seslerdir. İlk olarak 1978 yılında Kemp tarafından tanımlanmışlardı (37-40). Dış tüylü hücre hareketi koklea içerisinde mekanik bir enerji ortaya çıkar. Bu enerji, oval pencere ile orta kulağa, daha sonra timpanik membrana ve kulak kanalına doğru iletilir. Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) oluşur ve bu sinyal hassas bir mikrofonla ölçülebilir (39-41).

Otoakustik emisyonların ölçümü periferik işitsel fonksiyonu değerlendirmede hassas bir göstergedir. Hem işitme kaybının koklear komponentini saptamaya hem de diğer odyolojik metodlarla saptanamayan, kokleanın durumundaki küçük değişiklikleri objektif olarak izlemeye olanak tanır (38). Kolay ve hızlı uygulanırlar. Hasta tarafından kolay tolere edilirler. Objektif sonuca dayalı, girişimsel olmayan testlerdir. Çocuklar, yaşlılar, ototoksik ilaç kullanan ağır durumdaki hastalar, yabancı bir dili konuşanlar, subjektif testler için yeterli işbirliğini gösteremeyen olguların işitme fonksiyonunun araştırılmasında OAE'lar özel bir yere sahiptir (39,42,43). Uyarılmış OAE normal ya da normale yakın işitmesi olan tüm kulaklarda kaydedilebilir (37). DTH yapısal olarak tahrip olduğunda veya fonksiyon

yapamadıklarında emisyonlar üretilemez (40). Ayrıca orta kulağın iletim fonksiyonu da OAE saptanmasında önem taşır. Çünkü hem akustik uyarı hem de kokleanın ürettiği sesler orta kulağı geçmek zorundadırlar. Dolayısıyla, emisyonların saptanması hem koklea hem de orta kulak sistemlerinin normal veya normale yakın fonksiyon göstermesiyle bağlantılıdır (42,44).

Emisyonların sınıflandırılması ortaya çıkarılmaları için kullanılan stimulus cinsine göre yapılmıştır. Buna göre emisyonlar, spontan ve uyarılmış (evoked) emisyonlar adı altında iki geniş sınıfa ayrılabilir (39,41).

Spontan Otoakustik Emisyonlar

Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE) dışarıdan bir uyarı olmaksızın ortaya çıkarlar ve insan kulağında, dışarıdan bir uyarı olmaksızın %40-60 oranında elde edilebilirler (37,41). Klinikte koklear fonksiyonu değerlendirme açısından pratik değildir (44).

Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

Bir dış akustik uyarı varlığında kulak kanalından ölçülen düşük seviyeli akustik sinyallerdir (42). Kullanılan uyarının cinsine göre üç sınıfa ayrılırlar:

- 1-Uyarı frekansı otoakustik emisyonlar (Stimulus frequency OAE, SFOAE)
- 2- Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (Distortion product OAE, DPOAE)
- 3- Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar (Transient evoked OAE, TEOAE)

1- Uyarı frekansı otoakustik emisyonlar: Kokleanın pürton uyarıya, uyarıyla aynı frekansta kendiliğinden oluşan yanıtlarıdır. Uyarı frekansı emisyonların kaydedilmeleri güçtür ve klinik olarak yararlanımları sınırlıdır (39,41,45).

2- Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar: Eş zamanlı olarak uygulanan iki pür tonun, koklea içerisinde non-lineer etkileşiminden doğan ve kulak kanalından ölçülen akustik enerji olarak tanımlanırlar (41). Dışarıdan verilen iki frekans tonu ile içeride üçüncü bir frekans oluşturulur. Emisyon uyarıcı iki ton f_1 ve f_2 primerleri olarak isimlendirilir. İnsanda en belirgin emisyon yanıtları f_2/f_1 oranı 1.2'ye eşit olduğunda elde edilir. DPOAE teknolojik olarak ölçümü en kolay emisyonlardır; nispeten parazitsizdir ve ölçüm sonrası işlem gerektirmez. Diğer emisyon ölçümlerinde olduğu gibi mikrofon içeren bir prob gerekmektedir. Ancak iki farklı frekansta uyarıyı vermek için iki kanal gerekmektedir. Uyarılar kulak yolunda karışmaktadır. Gürültü eşliğini azaltmak primerlerin seviyelerini ve distortion ürününün analizini yapmak için kulak yolu ses basıncı ortalamaları alınır.

DPOAE'ların gürültüden ayırt edilmesini sağlayan en düşük primerler seviyesi, eşik seviyesini verir. DPOAE 50-60 dB'e ulaşan sensorinöral işitme kayıplarında genellikle yoktur. Ölçümde primerler iki şekilde manuple edilir; seviye sabit tutulurken frekans değişir, frekans sabit tutulurken seviye değişir. Birincinin sonucuna "distortion ürünü odyogram" adı verilir. İkinci input/output (I/O) işlevini verir. Distortion ürünü odyogram, pürton odyogram gibi işitme eşiklerini göstermez. DPOAE eşiklerini I/O işlevi verir. Klinik uygulamalarda en uygun uyarı değişkeni henüz kesinleşmemiştir. Uyarı değişkenlerindeki çeşitlilik nedeniyle de DPOAE'ların tanısal anlamlılığı netlik kazanmamıştır. DPOAE odyogramları geniş bir frekans alanında, ancak genellikle sadece 1-2 seviyede bilgi sağlar (39,46-48).

3- Transient evoked otoakustik emisyonlar: Klikler veya tone bipler gibi kısa süreli uyarılarla ortaya çıkarılırlar. Genellikle 80 dB SPL civarında stimulus kullanılır. Koklea tarafından üretilen emisyon yanıtları kulak kanalındaki hassas mikrofonla ölçülür ve arka plandaki gürültüden ayrılarak averajlanır. Sinyallerin incelenmesinde non-lineer yanıtlar dikkate alınır; akustik prob ve dış kulak yolunun lineer cevabı iptal edilir. Non-lineer uyarı dörtlü bir gruptan oluşur. Bu grup içerisindeki ilk üç stimulus aynı fazda sunulurken, dördüncüsü ters fazda ve ilk üçünün amplitüdlerinin 3 katı olarak sunulur. Dolayısıyla her bir hafıza bankasında $260 \times 4 = 1040$ transient yanıt toplanır. Ortalaması alınan yanıtlar iki ayrı hafıza bankasında depolanır ($1040 \times 2 = 2080$) ve iki ayrı dalga formu ortaya çıkar. Bu dalga formlarının elde edilmesi için depolanan toplam stimulus sayısı 2080'dir. İki ayrı hafıza bankasındaki dalga formları arasındaki çapraz korelasyon "reprodüktibilite" yüzdesini verir (40,49). Klinik pratikte, reprodüktibilitenin % 50-60 veya üzerinde olması "yanıt var" anlamına gelir (39-41,50). Geçici uyarılmış otoakustik emisyonların yorumlanmasında reprodüktibilite değeri, emisyon amplitüdüleri (echo level, response level, emission strength) ve signal/noise oranları incelenebilir. Response level (emission strength) TEOAE amplitüdünün dB cinsinden ifadesidir. Düzeltilmiş response level (response level-noise) de eğer 2,4 dB ve üzeriyse "yanıt var" anlamına gelir (50). Signal/noise (S/N) oranını elde etmek için, çeşitli uyarılara alınan yanıtların ortalaması hesaplanır. Yanıtın ilk 2.5 ms'n'si uyarıdan ayırmak için dışlanır (49,51).

Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar, işitme eşiğinin 35 dB'den düşük olduğu durumlarda çoğunlukla mevcuttur (52). Normal işiten kişilerde ise hemen daima var oldukları kabul edilir. Normal işitmeli bir kişide eğer TEOAE yanıtları yoksa bu; ya subklinik bir işitsel disfonksiyona, ya çevresel şartların uygun olmayışına ya da teknik problemlere bağlı olabilir (39).

Günümüzde en çok TEOAE ve DPOAE'ların kullanım alanları bulunmaktadır ve başlıca kullanım alanları şunlardır (47, 53):

I- Tanısal amaçla:

1- İşitme kaybının koklear lokalizasyonunu objektif olarak doğrulamak amacıyla;

a) Gürültüye bağlı işitme kaybı

b) Presbiakuzi

c) Ailesel işitme kaybı

d) İdiopatik işitme kaybı

2- İşitme kaybının koklear komponentinin belirlenmesi amacıyla;

a) Meniere hastalığı

b) Ani idiyopatik sensorinöral işitme kaybı

c) Akustik nörinoma

II- Tarama amacıyla:

1- Yenidoğan taraması

2- Oyun çocuğu taraması

3- Mesleki işitme kaybı riski olanlarda tarama

III- Monitorizasyon amacıyla:

1- Ototoksik ilaç kullanımı

2- Gürültüye bağlı işitme kaybı

3- Progressif işitme kayıpları (ailesel, Meniere hastalığı, akustik nörinoma)

4- İntraoperatif monitorizasyon (akustik nörinoma cerrahisi).

İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI

İşitsel beyinsapı yanıtları (ABR), işitme sinirinin başlangıcından ponsun en üst bölümüne kadar olan anatomik bölgede işitme yollarındaki elektriksel akımın senkronize aktivitesini kaydedebilen elektrofizyolojik bir test yöntemidir. İşitsel uyarılma potansiyellerinin kayıt tekniği, temelde işitme sistemi ve beynin bir ses uyarısına verdiği yanıtın elde edilmesi olduğundan; yapılan kayıtlarda ses uyarısı ve bu uyarının özellikleri önemli bir rol oynar (54).

İşitsel beyinsapı yanıtları kayıtlarında en çok tercih edilen, klik uyarı tipidir ve amplitüdü dB olarak ölçülür (55,56). Klik uyarılarla kokleanın bütün frekans alanlarının aynı anda uyarıldığı kabul edilir. Bu yüzden frekansa özgü ABR kayıtları yapabilmek için kısa süreli tonal uyarılar kullanılır ki bu tip ses uyarılarına tone-burst veya tone-bip denir. Uyarılmış işitme potansiyellerinin kaydı sırasında elektrotların konumları; kaydedilen cevabın

varlığını ve kalitesini doğrudan etkiler. Aktif elektrot için verteks sık olarak seçilen bir elektrot yerleştirme noktasıdır. Referans elektrotlar ise aurikula lobülü veya mastoid proçes'e koyularak horizontal yerleşim tamamlanır (54,57,58). İşitsel uyarılma potansiyellerine alınan cevaplar; latensleri esas alınarak erken, hızlı, orta ve geç olarak alt gruplara ayrılır (54,55,58).

İşitsel beyinsapı yanıtları, akustik sinir ile birlikte beyin sapındaki nükleusların biyoelektriksel aktivite gösteren dalga serilerinden oluşur. Bu seri insanda 7 pozitif tepeden ibarettir; bu tepelerin orijinleri 1970'den bu yana değişik şekillerde isimlendirilmiş, son yıllarda yapılan çalışmalara göre her ABR dalgasının birden fazla beyinsapı işitme nükleusundan ve işitme yollarını meydana getiren sinir liflerinden oluştuğu sonucuna varılmıştır (54,57). Son görüşe göre; I. dalga işitme siniri distalinden, II. dalga işitme siniri proksimalinden, III. dalga koklear nükleusdan, IV. dalga superior olivar kompleksden, V. dalga lateral lemniscusdan, VI. ve VII. dalgalar inferior colliculus'dan orijin almaktadır. Eşik altındaki uyarı düzeylerinde cevap trasesi neredeyse düz bir formda iken, eşığın hemen üzerinde V. dalga latensi ortaya çıkmaktadır. Orta düzeydeki ses şiddetlerinde III. dalga belirginleşirken; I. II. ve IV. dalgalar ancak yüksek şiddetlerde belirginleşmektedir. Bunlardan II. ve IV. dalgalar değişkendir ve herkeste elde edilmeyebilir. Aynı şekilde VI. ve VII. dalgalar da bu değişkenlik özelliğine sahiptir. Bu nedenle klinik uygulamalarda I. III. ve V. dalgalar tanı aracı olarak kullanılırlar (55). İşitsel beyinsapı yanıtları ile eşik tayini adayları; davranış odyometrisi tekniklerinin uygulanmasının mümkün olmadığı olgulardır. Bunların çoğunluğunu yenidoğanlar, küçük çocuklar, zihinsel özürlüler, deneysel kobay çalışmaları ve simülasyonla kendini hasta göstermeye çalışanlar oluşturur. ABR'nin objektif oluşu eşik tayini açısından deneysel modelde araştırmacı için büyük kolaylık sağlamaktadır (54,55).

ALKOL BORİK

Boron atom numarası 5 ve kimyasal sembolü B olan biyoaktif eser bir elementtir (59). Doğada borik asit ve borat tuzları halinde bolca bulunur. Borik asit kimyasal formülü H_3BO_3 olan, doğada beyaz kristalize toz halinde bulunan zayıf bir asittir (60). Doğada bulunabildiği gibi borat mineralleri ile sülfürik asitin reaksiyona sokulması ile de elde edilebilir. Borik asit insektisit, çeşitli ürünlerde koruyucu ek madde ve endüstriyel ajan olarak çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Medikal alanda sıklıkla 70° alkol veya distile su ile hazırlanan %4'lük solüsyon ya da saf toz halinde kullanılır (13,61).

Boronik asitler, son zamanlarda tanımlanan bor içeren yeni bir antibiyotik sınıfıdır (62). Bunun yanında enflamatuvar yanıt düzenlenmesinde ve immun yanıt regülasyonunda rol oynarlar (63). Osteogeneziste ve kemiklerin bakımında hayati rol oynarlar. Kemik

yenilenmesi ve gelişimi bor eksikliğinde olumsuz etkilenerek kemik kaybı riskinde artışa neden olur (64).

Borik asit nasıl etki ettiği tam anlaşılammakla birlikte antiseptik özelliktedir. Antiseptik olarak borik asit solusyonlarının kullanımı Lister'in 1875'te raporlanan öncü çalışmasına kadar uzanabilir (65). Günümüzde bir çok formuyla aftöz lezyonlar, ülsere difteri lezyonları, gonore, vajinit gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır(7). Antiseptik ve antibakteryel özellikleri yanında antifungal özelliği nedeni ile de tıp pratiğinde kullanılmaktadır. Romsaithong ve ark. (66) otomikoz tedavisinde borik asiti %67 oranında etkili bulmuşlardır.

Otit media tedavisinde de umut vaad eden sonuçlar elde edilmiştir (61). Kulak burun boğaz hekimliği pratiğinde de 70° alkol ile hazırlanan %4' lük borik asit solusyonu antiseptik, antifungal, antibakteriyel ve hidroskopik etkileri nedeni ile dış kulak yolu iltihabında ve orta kulak iltihaplarında bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (10,11).

OTOTOKSİSİTE

Ototoksisite, bir ilacın ya da kimyasal ajanın işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak fonksiyon bozukluğuna neden olabilme potansiyeline verilen genel bir isimdir (67). İlaçlara bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir. Ototoksisite semptomları yeni geliştirilen tedavi ajanlarının uzun klinik kullanımları sonrasında ortaya çıkmaktadır ve bu yeni kullanıma girmiş ajanların da ototoksik etkilerinin olabileceği göz önünde bulundurularak, bu konu ile ilgili her türlü bilgiye ulaşmaya çalışılmalıdır (15,18,68).

Günümüzde ototoksisiteye neden olduğu bilinen ilaçlar temel başlıklar halinde antibiyotikler, diüretikler, antineoplastik ilaçlar, antimalaryal ilaçlar, antienflamatuarlar, şelat yapıcı ajanlar, ototopik ilaçlar ve diğerleri şeklinde sınıflandırılabilir (1,3).

Tinnitus çoğunlukla en fazla görülen semptomdur ve ardından gelebilecek pek çok toksik etki için de erken habercidir. Tinnitus genelde yüksek perdeli, 4000-6000 hz arasında değişen frekanstadır. Genellikle işitme kaybından önce çıkar ve onun yerini alır. Tinnitusun tam olarak kaybolması nadir olarak görülür. Fakat zamanla nöral elemanların dejenere olmasıyla tinnitusun şiddetinde azalma olabilmektedir.

Geri dönüşümlü tinnitus ve işitme kaybı salisilatlar ve kinin kullanımı ile meydana gelebilmektedir. Loop diüretikleri de akut işitme kaybına yol açarlar fakat tedavinin kesilmesi ile düzelmeye gözlenir. Bunun dışında geçici işitme kaybı aminoglikozid grubu antibiyotiklere bağlı olarak da görülebilir. Ancak kayıp sıklıkla kalıcıdır. Antibiyotik kullanımıyla oluşan

işitme kaybı genellikle 3-4 gün sonra oluşmada, ilk doza bağlıda gelişebilir. Kalıcı ototoksik işitme kaybı tedavinin bitiminden günler haftalar ya da aylar sonra bile ortaya çıkabilir. İşitme kaybı ve tinnitus genellikle bilateral ve hemen hemen simetrikdir. Bununla beraber bu semptomlar tek taraflı olduğunda ototoksisite yoktur denemez. Antibiyotikler yüksek frekanslarda dik eğimli bir kayıp meydana getirirken, diüretikler çoğunlukla düz veya hafif eğimli odyometrik kayba sebep olurlar (1,3,69).

İlaçlara bağlı olan işitme kaybı, sensörinöral tiptedir. Bazı hastalar ototoksisite için daha yüksek risk taşır. Odituar ve vestibüler toksisite için potansiyel olarak daha yüksek risk durumları şunlardır; böbrek yetersizliği, karaciğer yetersizliği, immün yetmezlik durumları, ileri yaş, ototoksisite öyküsü olması, bilinen ototoksik ajanların eş zamanlı kullanılması, gürültüye maruz kalma, önceden sensörinöral işitme kaybının olması, kollajen vasküler hastalıklardır (1,3).

OTOTOKSİSİTENİN ODYOLOJİK MONİTORİZASYONU

Ototoksisitenin odyolojik monitörizasyonu oldukça karmaşık bir konu halini almıştır. Bilinen ototoksik ajanların sayısı ve sinerjistik faktörler giderek artmaktadır. Ototoksisite monitörizasyonu için mevcut odyolojik metotların sayısı artmıştır. Ancak sensitivite ve spesifisiteyi iyi tespit edilememiştir. Bu nedenle ototoksisite monitörizasyonunda kesin kılavuzlar yoktur (70).

Ototoksik ilaç kullanılan olgularda hastanın işitme kaybından yakınmasını beklemek, en etkisiz monitorizasyon yöntemidir. Çünkü bilindiği gibi, işitme kaybının birey tarafından fark edilebilmesi için en az 30 dB olması gereklidir. Bu nedenle ototoksik ilaç kullanan özellikle yüksek risk grubundaki hastalarda, işitmenin monitorizasyonu için, ilaç kullanmaya başlamadan önce, bazal işitme seviyesi tespit edilmeli ve belli aralıklarla işitme düzeyi takip edilmelidir. Bu amaçla konvansiyonel odyometri, konuşmayı ayırt etme skoru, yüksek frekans odyometri, elektrokokleografi, OAE ve ABR testlerinden bir veya birkaçı kullanılabilir (15,70,71). Ototoksisitenin erken tanısında, duyarlı bir yol olarak, iki ya da üç günde bir yüksek frekans odyometri (9000-20000 Hz) yapılması önerilmektedir (72). Dreschler ve ark. (73) bir frekansta 20 dB ve fazlası, iki frekansta 15 dB, dört veya daha fazla frekansta 10 dB'lik eşik yükselmesini hem konvansiyonel hem de yüksek frekans odyometride ototoksisite ölçütü olarak belirlemişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda ise bu değerlerin ototoksik ilaç almayan kişilerde de aşılabildiği savunulmuştur (70).

Otoakustik emisyonların, ototoksisite monitörizasyonunda işitme kaybı gelişmeden, erken koklear değişiklikleri saptamada değerli olduğu bilinmektedir (71). OAE'ların koklea,

muhtemelen de DTH'ler tarafından üretildiğine inanılır. Çoğu ototoksik ilacın iç kulakta DTH'leri etkilemesi nedeniyle, teorik olarak OAE'ların ototoksisite tespitinde faydası olması gerekir. Ototoksisite monitörizasyonunda OAE'nun avantajları; hızlı, non-invaziv olması ve hastanın aktif katılımını gerektirmemesidir. Ancak hastada daha önceden var olan işitme kaybı, OAE'ların monitörizasyon amaçlı kullanımında sınırlayıcı bir faktördür. OAE ölçümlerinde, OAE'daki bir değişiklik ototoksisiteye atfedilmeden önce normal orta kulak fonksiyonu dikkatlice monitörize edilmelidir (70).



GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurul onayı (Ek-1) alındıktan sonra Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) 'ne sunulmuş ve TÜBAP-853 no'lu proje ile gerekli kimyasal ve sarf malzemelerin alımı sağlanmıştır (Ek-2). Bu çalışma için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Birimi'nde üretilen, 4-8 aylık ve ağırlıkları 400-600 g arasında değişen 15 adet auropalpebral refleksi, pigmente hartley suşu erişkin kobay (Guinea pig) kullanılmıştır. Kobaylar %50 nem, 16-21 °C ısı koşullarında pellet yem, mevsimsel taze sebze ve meyve ile beslenerek barındırılmıştır. Çalışmamızda Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların refah ve korunmasına dair 13.12.2011 tarih ve 28141 sayılı yönetmeliğine ve uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyulmuştur.

Elektrofizyolojik ölçümler, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Birimi'nde yapıldı. Elektrofizyolojik ölçümler genel anestezi altında yapıldı. Genel anestezi, ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg + xylazine hidroklorür (Rhompun flakon, Bayer, İstanbul) 5 mg/kg intramusküler (i.m) ile sağlandı. Tekrarlayan anestezi dozu gerektiğinde, ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin hidroklorür i.m olarak uygulandı.

Genel anestezi altında toplam 30 kobayın 60 kulağının otomikroskopik bakısı yapıldı, dış kulak yolundaki debris veya buşonlar temizlendi. Bütün kobaylarda normal timpanik membran görüntüsü saptandı. İntratimpanik (İT) ilaç uygulaması öncesinde, tüm kobay kulaklarında DPOAE ölçümleri ile normal DTH fonksiyonu ve ABR ölçümü ile normal

işitmenin varlığı araştırıldı. DPOAE ve ABR testleri sonucunda, emisyon varlığı ve işitmesi normal saptanan toplam 30 kobayın 30 sağ kulağı çalışma kapsamına alındı ve randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Bu 3 grubun biri çalışma grubu diğer ikisi kontrol (pozitif ve negatif) grupları olarak planlandı. Çalışma grubundaki kulaklara 70° alkol ile hazırlanan %4 alkol borik, pozitif kontrol grubundaki kulaklara gentamisin (genta göz kulak damlası İ.E. Ulugay, İstanbul), negatif kontrol grubundakilere ise serum fizyolojik (%0.9 NaCl) İT olarak enjekte edildi. Tüm gruplarda İT enjeksiyonlar birer gün ara ile 5 defa uygulandı.

Grup 1 (çalışma grubu): 10 kulağa 70° alkol ile hazırlanmış %4 alkol borik 0.1 ml, birer gün ara ile 5 kez yapıldı.

Grup 2 (pozitif kontrol grubu): 10 kulağa gentamisin 0.1 ml, birer gün ara ile 5 kez yapıldı.

Grup 3 (negatif kontrol grubu): 10 kulağa serum fizyolojik 0.1 ml, birer gün ara ile 5 kez yapıldı.

İT enjeksiyonlar insülin enjektör pistonu ucuna dental iğne ucu takılarak timpanik mebranların arka alt kısımlarına yaklaşık 0.08-0.1 ml hacminde olacak şekilde uygulandı (Şekil 5).



Şekil 5. Otomikroskopi altında kobay kulak zarı görüntüsü

Enjeksiyonlar her defasında aynı saatte tekrarlandı. Bütün anestezi süresi boyunca, enjeksiyonlar ve ölçümler süresince kobaylar ısıtılmış pedlerle örtülerek vücut sıcaklıkları korunmaya çalışıldı. İşlemler, nem oranı %50 ve sıcaklığı 16-21 °C arasında değişen bir ortamda yapılarak kobayların sıvı kaybı azaltılmaya çalışıldı. Son ilaç uygulamasından 10 gün

sonra DPOAE ve ABR ölçümleri tekrarlandı. Ölçümlerin hemen sonrasında kobay koklealarını taramalı elektron mikroskopisinde incelemek üzere yüksek doz ketamin ve xylazin enjeksiyonunun ardından dekapitasyon yapıldı. Bütün gruptaki kobayların temporal kemikleri ultrastrüktürel incelemeler için diseke edildi. Rutin takip, dokuların hazırlanması ve TEM görüntülenmesi Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma Geliştirme Merkezi'nde yapıldı.

ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Ölçümü

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar ($2f_1$ - f_2 kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) Capella-MADSEN (GN Otometrics A/S Taastrup, Denmark) cihazı kullanılarak DPOAE modunda ölçüldü. Kobayların dış kulak yollarına göre plastik tüp adaptörlerinin 1 cm'lik ucuna yenidoğan için kullanılan 1-2 numaralı timpanometri plastik prob uçlarına OAE prob ucu (Capella-MADSEN) yerleştirildi (Şekil 6). f_2 ve f_1 frekansları arasındaki oran (f_2/f_1) 1.22 olacak şekilde ayarlanarak, uyarın şiddeti f_1 frekansı için L1 ($L_1=65$ dB SPL), f_2 frekansı için L2 ($L_2=55$ dB SPL) olarak alındı ve distorsiyon ürünü emisyonlar $2f_1$ - f_2 modunda ölçüldü. Otoakustik emisyonlar f_1 ve f_2 nin 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 kHz frekanslarında, geometrik ortalamalarında kaydedildi. Alınan her bir kayıt süresi yaklaşık 1 dakikaydı. Kayıtlar gürültü şiddetinin 50 dB'in altında olduğu bir ortamda alındı.



Şekil 6. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Ölçüm Cihazı ve örnek bir kobayda ölçümü

DPOAE sonuçları değerlendirilirken; her bir frekansta yani 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 ve 8 kHz frekans bantlarında oluşan SNR esas alınarak, 6 dB ve üzerindeki sonuçlar anlamlı kabul edildi (74). DPOAE cevapları değerlendirilirken, SNR DPOAE amplitüdlerine kıyasla daha anlamlı bulunmuştur (34,39). Çalışmamızda frekansa spesifik olarak SNR cevapları (ilk ve son ölçümler arasındaki fark alınarak) her bir kobay için değerlendirilerek, SNR frekans bantlarında değişim grafikleri oluşturuldu.

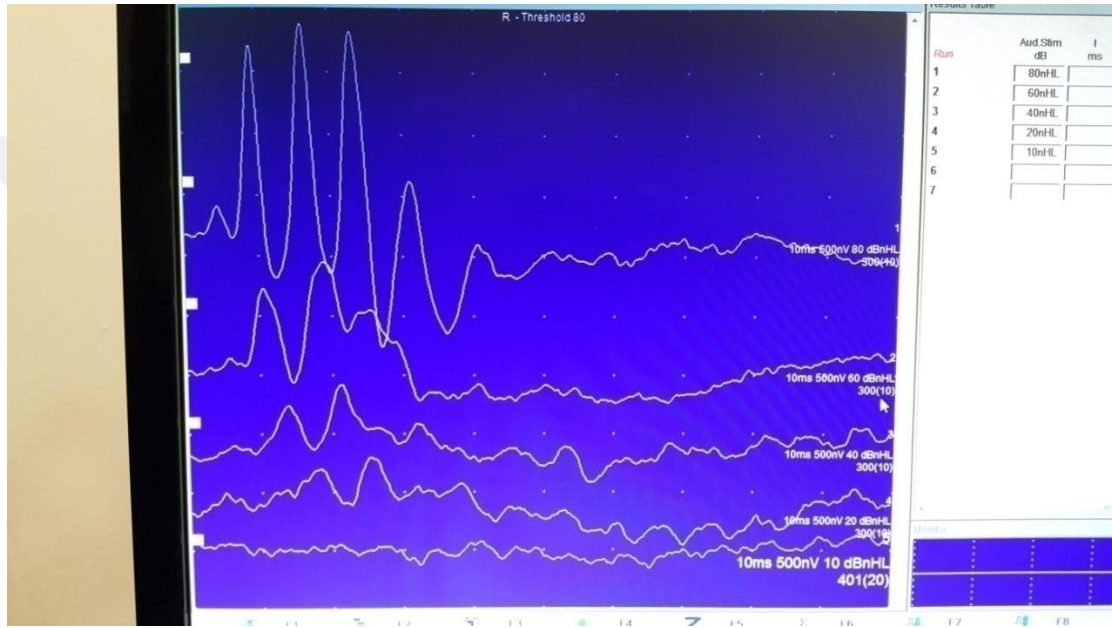
İşitsel Beyinsapı Yanıtları

Ölçüm için Medelec Synergy ABR (Oxford Instruments, Oxford, UK) marka beyin sapı analizatör kullanıldı. E-A-R Tone 3A insert kulaklıkların ses tüpüne, kobayların dış kulak kanalına uygun 1 cm boyutunda plastik tüp adaptörler bağlandı. Test edilen kulak mastoidine negatif gümüş iğne elektrodu, alına pozitif iğne elektrodu, toprak elektrod da kontra lateral ayak tarafına yerleştirildi (Şekil 7).



Şekil 7. Örnek bir kobaya ait ABR kaydı

Cihaz üzerindeki elektrot testi ile elektrotların uygun bağlanıp bağlanmadıkları kontrol edildi. Elektrot impedanslarının 5 kOhm' nin altında olmasına dikkat edildi. Uyarılar klik uyarı şeklinde verildi. Saniyede 11 klik uyarı verilerek 300 cevabın ortalaması belirlendi. Ayrıca frekans spesifik olarak 8000 Hz eşik yanıtları da değerlendirildi. Uyarı verilmeye 80 dB Normalized Hearing Level'den (nHL) başlanarak 10'ar dB azaltıldı ve en az 3 dalga formunun gözlemlendiği işitme seviyesi eşik olarak belirlendi. ABR dalga konfigürasyonu 20 dB HL'de saptandığında işitme normal olarak değerlendirildi (Şekil 8).



Şekil 8. Bir kobay kulağına ait örnek ABR kaydı

TEMPORAL KEMİK DİSEKSİYONU VE ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ve ABR testleri tamamlandıktan sonra kobaylar yüksek doz ketamin ve xylazin enjeksiyonunun ardından dekapitasyon yapılarak sakrifiye edildiler. Bütün kobayların sağ ve sol kulaklarının temporal kemik diseksiyonları, koklea ve iç kulak yapılarına hızlı erişim sağlayacak bir teknik ile gerçekleştirildi. Oksipital bölgeden horizontal ensizyon yapıldı. Cilt ve cilt altı dokular kranium üzerinden öne doğru eleve edildi. her iki taraftaki temporal kas ve periost önce parietal kemiğin, ardından temporal kemiğin skuamöz parçası üzerinden eleve edildi. Aurikula laterale ekarte edilerek kıkırdak dış kulak yolu keskin diseksiyon ile timpanik halkadan ayrıldı. Subperiostal planda kas dokuların elevasyonuna devam edilerek temporal kemiğin mastoid ve timpanik parçaları (bulla) ortaya konuldu. Bundan sonraki aşamada mastoid parça oksipital kemikten; skuamöz parça parietal, frontal, palatin ve etmoid kemiklerden; bulla oksipital ve sfenoid kemiklerden; petröz parça

sfenoid kemikten diseke edildi. Ortaya konan VII. ve VIII. kranial sinirlerin ekstratemporal kısımları kesildikten sonra temporal kemik, çevre kas dokularından da diseke edilerek kafatasından ayrıldı. Temporal kemikler pH'ı 7.3 olarak ayarlanan, %2.5 glutaraldehit içeren fosfat tamponuna alınarak 12 saat bekletildi. Bu prefiksasyon işleminden sonra kemik doku fosfat tamponunda (PBS) 1 gün bekletilerek yıkandı. Sonrasında dokular pH'ı 7.3 olan 0.1 M Na-EDTA (Sigma-Germany) solüsyonunda 2 hafta süreyle oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. Dekalsifiye olan temporal kemiklerden timpanik bullaları açılarak koklear yapıya ulaşıldı. İzlediğimiz metod, temporal kemikte diseksiyonla kokleaya ulaşım şekline göre daha koruyucu bir yöntemdir (75,76). Temporal kemik diseksiyonları Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde yapıldı.

Taramalı Elektron Mikroskopisi

Temporal kemik dekalsifikasyonu sonrası, koklear yapılar otik kapsül ile çevrili olduğundan dekalsifikasyon bir kez daha tekrarlandı. Bu amaçla dokular; 0.1 M PBS'de 1 gün bekletildikten sonra, 0.1 M Na-EDTA (pH=7.3) ile 1 hafta daha oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. Taramalı elektron mikroskopisi (TEM) görüntülenmesi için koklear yapıları örten otik kapsül asimetrik olarak bazalden apekse doğru diseke edildi (Şekil 9) ve bu yapılar 3 gün +4°C PBS 'de bekletilerek TEM takibine (Tablo 1) alındı.



Şekil 9. Modiolar eksende bazalden apekse doğru koklea X11.4

Tablo 1. Rutin taramalı elektron mikroskopisi takip protokolü

İŞLEM	KULLANILAN MADDE	SÜRE
1. Tespit	% 2.5 Glutaraldehit fosfat	4 saat
Yıkama	PBS	12 saat
2. Tespit	%1 lik Osmium tetraoksit	1 saat
Yıkama	PBS	15 dakika
Dehidratasyon	%50 Alkol	5 dakika
	%70 Alkol	10 dakika
	%90 Alkol	10 dakika
	%96 Alkol	10 dakika
	%100 Alkol	15 dakika
	%100 Alkol	15 dakika
İnklüzyon Materyaline Gömme	2/1 Alkol-Amilasetat	15 dakika
	1/1 Alkol-Amilasetat	15 dakika
	1/2 Alkol-Amilasetat	15 dakika
	Saf Amilasetat	
Kritik Kurutma	Karbonmonoksit(CO)	
	Tutucuya Yapıştırma	

Hazırlanan dokular kritik kurutma noktasında karbonmonoksit (CPD 010, Balzer Union- Liechtenstein) ile kurutuldu. Karbon tutucular ile pirinç bloklar üzerine sabitlendi. TEM değerlendirmesinde öncelikle Corti organı yüzey anatomisi incelendi. Yüzey anatomisinde genel hücre morfolojisi ile DTH stereosilya morfolojisi Tablo 2’teki parametreler kullanılarak değerlendirildi (77). Değerlendirilen parametreler koklear frekans bandlarında bazalden apekse doğru ağırlıklı olarak dış tüylü hücre stereosilya morfolojisinin dizilimi incelendi. Rutin takip, dokuların hazırlanması ve TEM görüntülenmesi Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma Geliştirme Merkezi'nde yapıldı.

Tablo 2. Taramalı elektron mikroskopisi ile Corti organında yüzey anatomisi değerlendirme parametreleri (77)

PARAMETRELER	BULGULAR	DEJENERASYON DERECELERİ	PUAN
Genel Hücre Morfolojisi (yüzey, yan bağlantılar)	Normal hücre görünümü	Normal	0
	Kollaps, yan bağlarda düzenli ayrılma	Hafif derecede dejenerasyon	1
	Kollaps, yan bağlarda düzensiz ayrılma	Orta derecede dejenerasyon	2
	Nekroz	İleri derecede dejenerasyon	3
Dış Tüylü Hücreler (DTH)	Normal sterosilya görünümü	Normal	0
	Sterosilyalarda düzensizlik	Hafif derecede dejenerasyon	1
	Sterosilyalarda yapışıklık, parsiyel kayıp	Orta derecede dejenerasyon	2
	Total sterosilya kaybı	İleri derecede dejenerasyon	3
Dejenerasyon Yeri	Dejenerasyon yok	Normal	0
	Kokleanın 1/3'ünde tüylü hücre dejenerasyonu	Hafif derecede dejenrasyon	1
	Kokleanın 2/3'ünde tüylü hücre dejenerasyonu	Orta derecede dejenerasyon	2
	Kokleanın 3/3'ünde tüylü hücre dejenerasyonu	İleri derecede dejenerasyon	3

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Gösterilen sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplandı. Gruplarda ABR, DPOAE yanıtlarının ilk ve son ölçümlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon sign rank test kullanıldı. ABR, DPOAE değerlerinin ilk ve son ölçümleri arasındaki fark değerlerini ve TEM skolarını gruplar arasında karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı, fark saptandığında bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemede Bonferroni post-hoc testi kullanıldı.

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 (Lisans No:10240642) paket programı kullanılarak yapıldı. Analizlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi.

BULGULAR

ELEKTROFİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER

Çalışmamızda 3 grupta toplam 30 kobayın 30 kulağının elektrofizyolojik test sonuçları (DPOAE ve ABR ile) değerlendirildi. Her grupta 10 kobay yer almaktaydı. Çalışmanın başlangıcında ve İT uygulamalar tamamlandıktan sonra gruplarda tekrardan DPOAE ve ABR ölçümleri yapıldı.

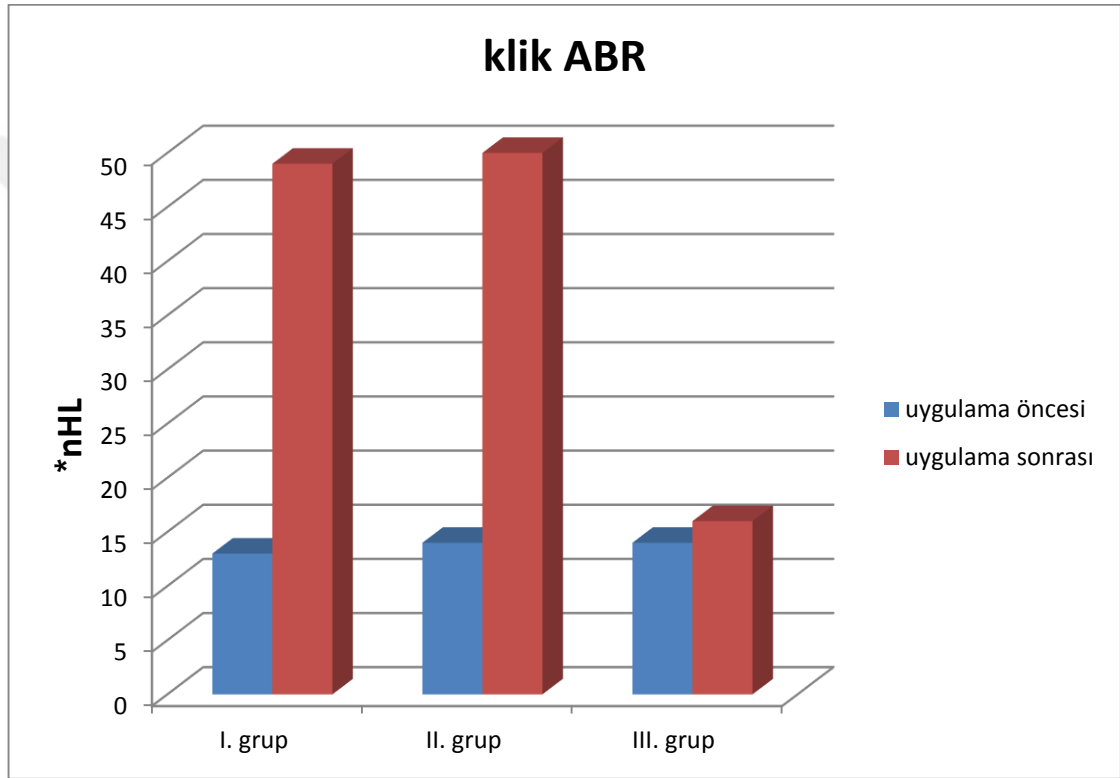
Son ölçümlerden önce yaptığımız otomikroskopide Grup 1'de (Alkol borik grubu) yer alan kobayların dış kulak yollarında ödem gözlemlendi. Grup 2 (Gentamisin grubu) ve Grup 3 'te (Serum fizyolojik grubu) böyle bir bulgu saptanmadı.

Elektrofizyolojik ölçümlerde uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değerleri, frekans spesifik olarak 8000 Hz ABR eşik değerleri ve DPOAE 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarda SNR'leri karşılaştırıldı.

Çalışmamızda uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değerleri öncelikle gruplar içinde karşılaştırıldı. Grup 1'de ilaç uygulaması öncesi klik ABR eşik değerleri ortalama 13 ± 4.8 dB, uygulama sonrası klik ABR eşik değerleri ortalama 49 ± 17.9 dB olarak saptandı ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grup 2'de ilaç uygulaması öncesi klik ABR eşik değerler ortalama 14 ± 5.2 dB, ilaç uygulaması sonrası ortalama klik ABR eşik değerler 50 ± 18.3 dB olarak saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grup 3'te ise uygulama öncesi klik ABR eşik değerleri ortalama 14 ± 5.2 dB, uygulama sonrası klik ABR eşik değerleri ortalama 16 ± 5.2 dB bulundu ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Grup 1'e ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları Grup 3'e ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları ile karşılaştırıldığında istatistiksel

olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Grup 2'ye ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları Grup 3'e ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Grup 1'e ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları Grup 2'ye ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0.05$). Bütün gruplar için uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer karşılaştırma sonuçları Şekil 10'da gösterilmektedir.

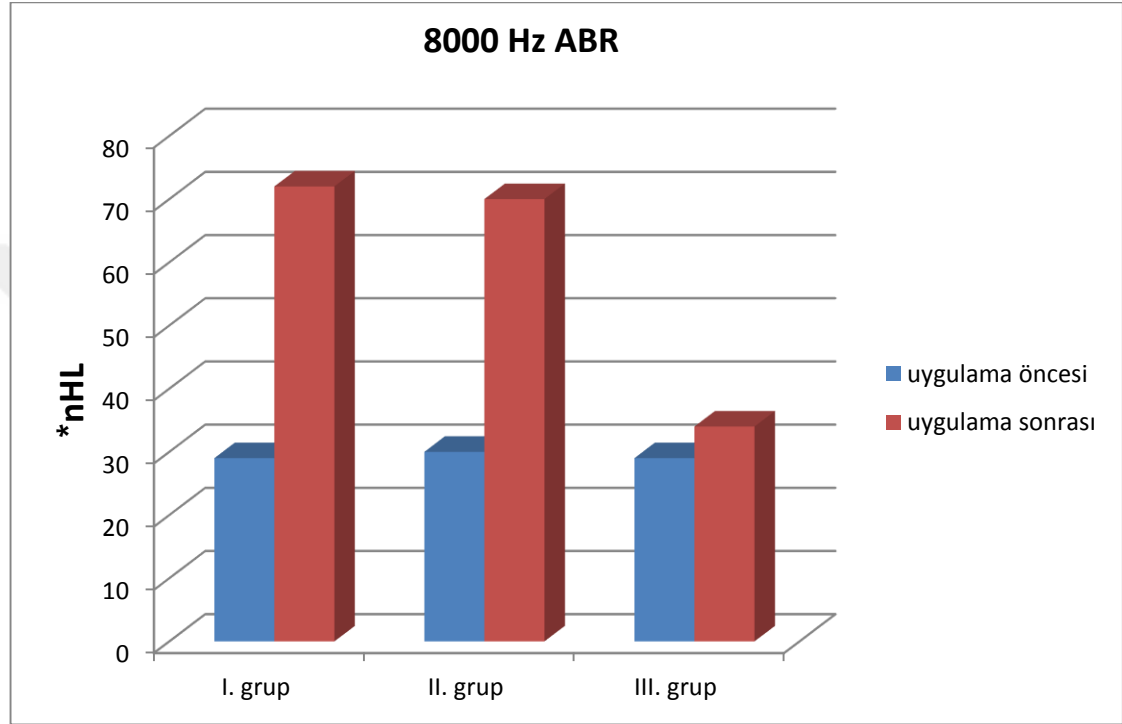


Şekil 10. Gruplar arası ilaç uygulanımı öncesi ve sonrası işitsel beyinsapı yanıtları (ABR) eşik değerleri

*nHL: Normalized hearing level

Frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değerlerini incelediğimizde Grup 1'de uygulama öncesi ortalama 29 ± 7.4 dB, uygulama sonrası 72 ± 14.8 dB olarak ölçüldü ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grup 2'de uygulama öncesi 8000 Hz ABR eşik değerleri ortalama 30 ± 6.7 dB, uygulama sonrası ortalama 70 ± 14.9 dB olarak ölçüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Grup 3'te uygulama öncesi 8000 Hz ABR eşik değerleri ortalama 29 ± 7.4 dB, uygulama sonrası ortalama 34 ± 9.7 olarak bulundu ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$). Grup 1 ile Grup 2 uygulama sonrası 8000 Hz

ABR eşik değerler karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Grup 1 ve Grup 2'ye ait uygulama sonrası 8000 Hz ABR eşik değerleri Grup 3'e ait uygulama sonrası 8000 Hz ABR eşik değerleri ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Bütün gruplar için uygulama öncesi ve sonrası frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değer karşılaştırma sonuçları Şekil 11'de gösterilmektedir.



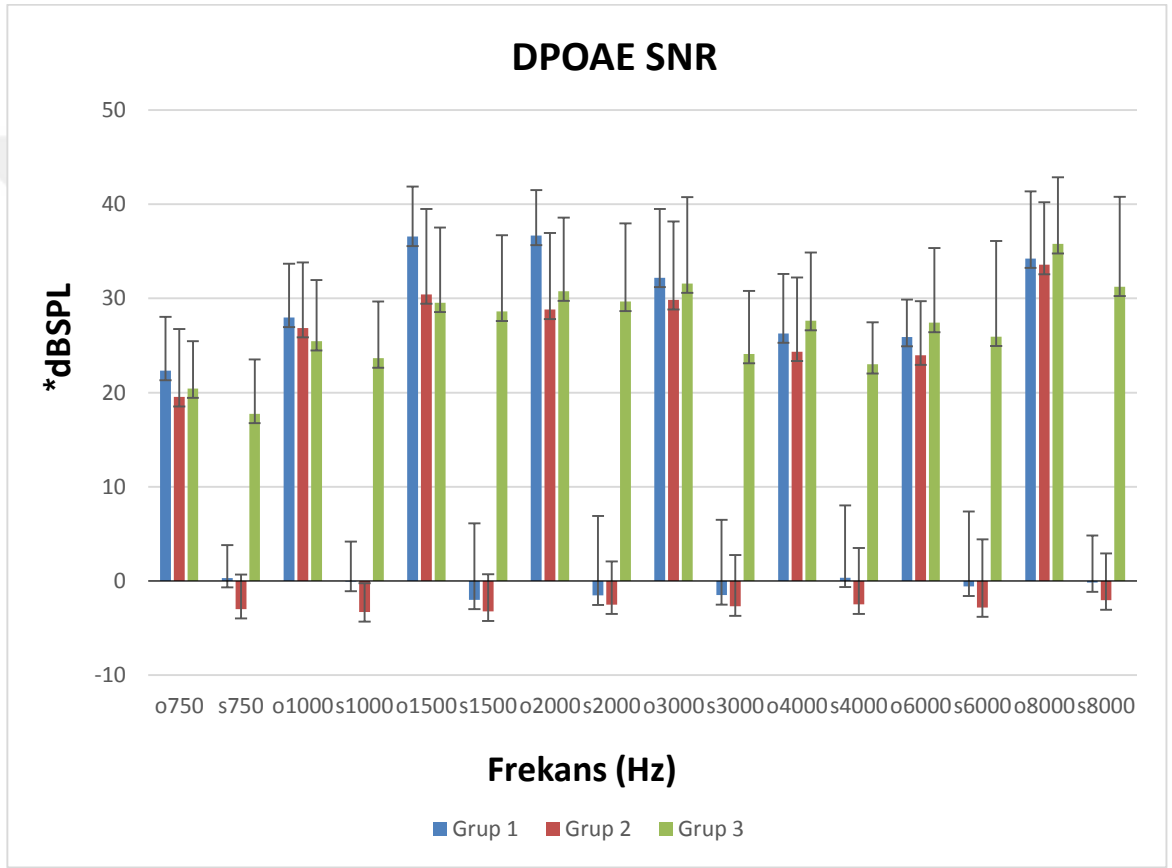
Şekil 11. Gruplar arası ilaç uygulananı öncesi ve sonrası 8000 Hz işitsel beyinsapı yanıtları (ABR) eşik değerleri

*nHL: Normalized hearing level

Grup 1'e ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları Grup 1'e ait frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değer farkları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Grup 2'ye ait uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları Grup 2'ye ait frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değer farkları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Grup 1 ve Grup 2 uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değer farkları ve frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değer farkları açısından Grup 3'e ait klik ABR eşik değer farkları ve frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değer farkları ile karşılaştırıldıklarında değişim istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Grup 1'de ilaç uygulaması ve sonrası DPOAE SNR'leri grup içinde karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında

istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0.05$). Grup 2'de ilaç uygulaması ve sonrası DPOAE SNR'leri grup içinde karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0.05$). Grup 3'te uygulama öncesi ve sonrası DPOAE SNR'leri grup içinde karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmadı ($p>0.05$). Her üç grubun ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR'leri Şekil 12'de gösterilmiştir.



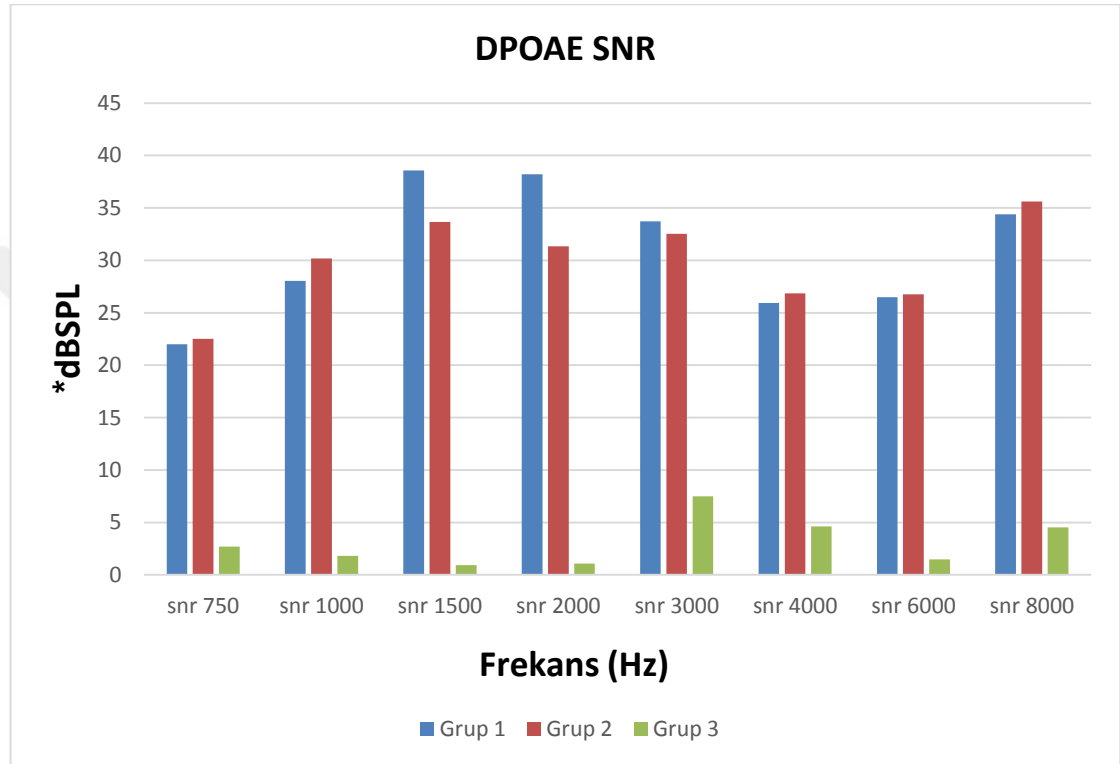
Şekil 12. Gruplar arası ilaç uygulama öncesi ve sonrası SNR'lerin \pm standart sapmaları ile frekanslara göre karşılaştırılması (SNR: sinyal gürültü oranı, o:uygulama öncesi değer, s:uygulama sonrası değer)

*dB SPL: "Desibel Sound Pressure Level", desibel ses basınç seviyesi.

Çalışmamızda 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında DPOAE SNR farkları da gruplar arasında karşılaştırıldı. Grup 1'e ait 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarındaki DPOAE SNR farkları Grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Grup 1 ve Grup 2 DPOAE SNR farkları açısından Grup 3 ile

karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarının tamamında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$).

Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait uygulama öncesi ve sonrası 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarındaki DPOAE SNR farkları Şekil 13'de gösterilmiştir.

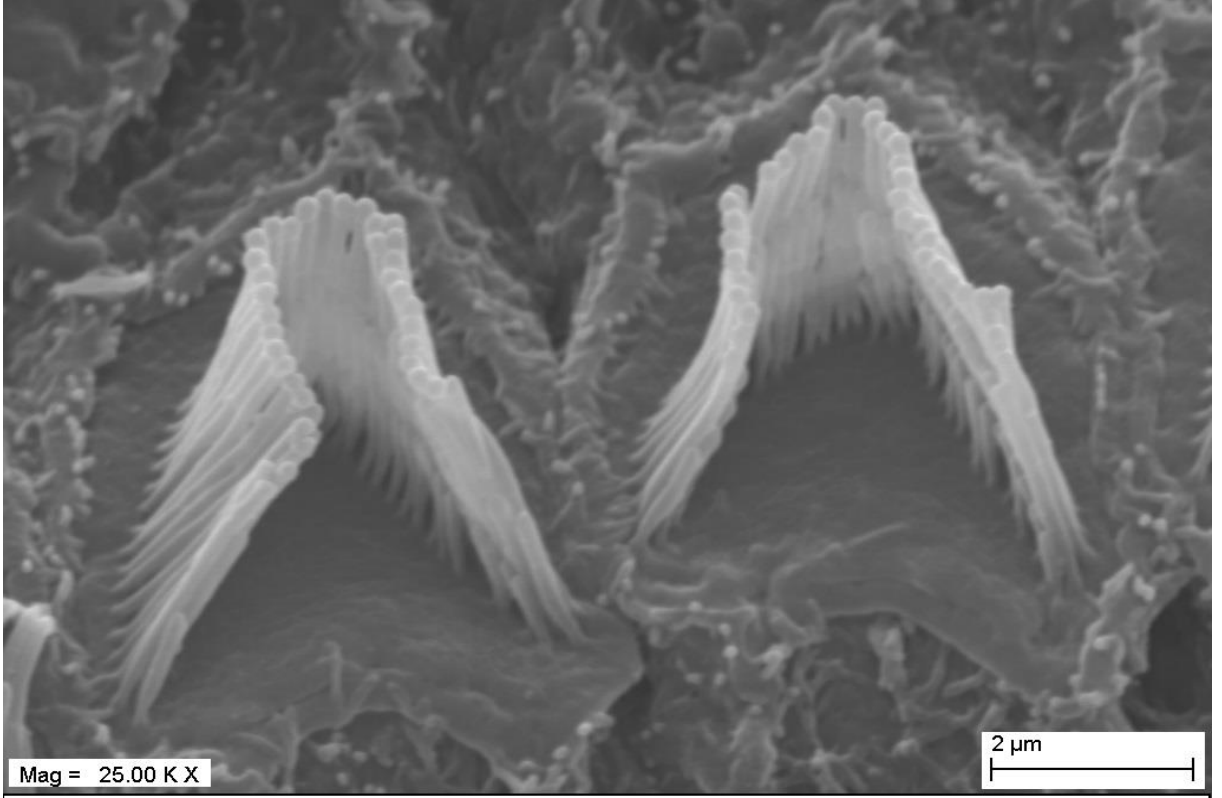


Şekil 13. Gruplar arası ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR farklarının frekanslara göre karşılaştırılması (SNR: Sinyal gürültü oranı).

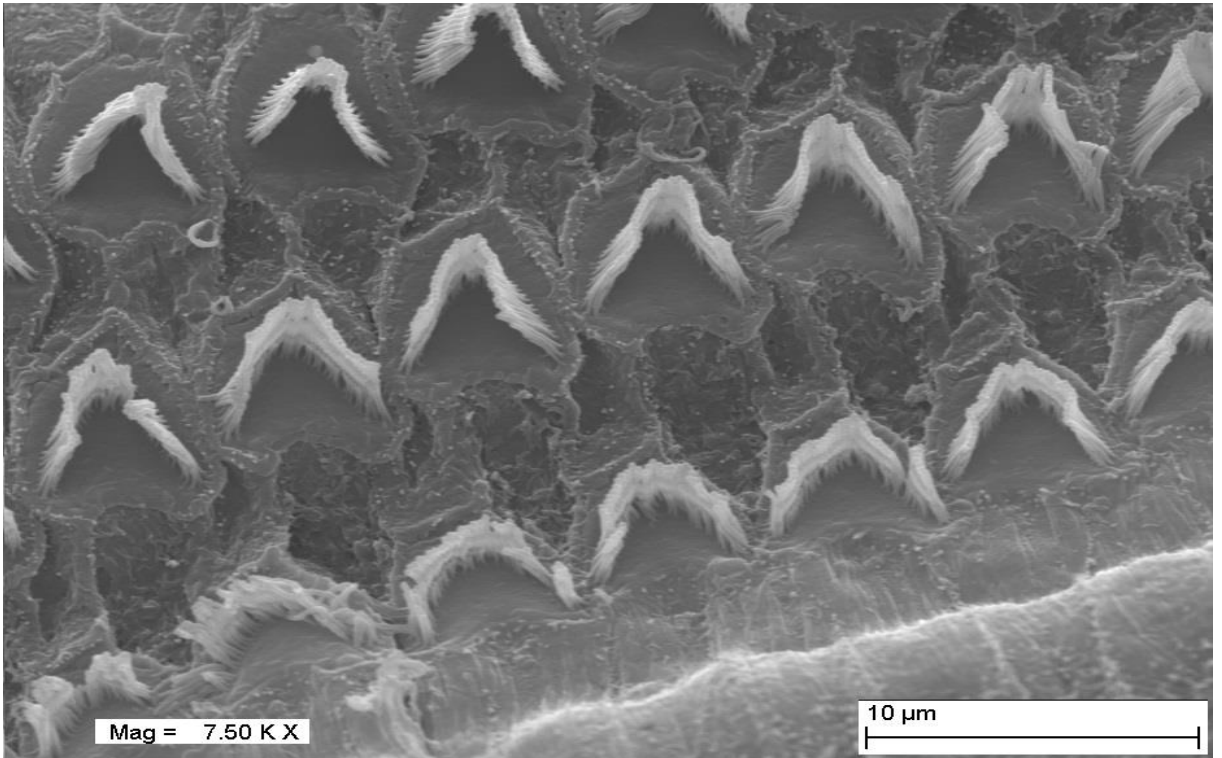
*dB SPL: "Desibel Sound Pressure Level", desibel ses basınç seviyesi.

ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEMELER

Grup 3'te yer alanon kobayın kulaklarına ait koklealarda yapılan Corti organı yüzey anatomisi incelemesinde; 8 kokleada tüm koklear segmentlerde hücreler normal olarak değerlendirildi. Yalnızca iki kulakta DTH stereosilyalarında düzensizlik mevcut idi. Histolojik skorlama sonucunda; sekiz koklea 0 puan, bir koklea 2 puan ve bir koklea 1 puan (ortalama=0.3) ile değerlendirildi. DTH stereosilya morfolojisi dizilimi değerlendirildiğinde dejenerasyon tespit edilmedi (Şekil 14-15).



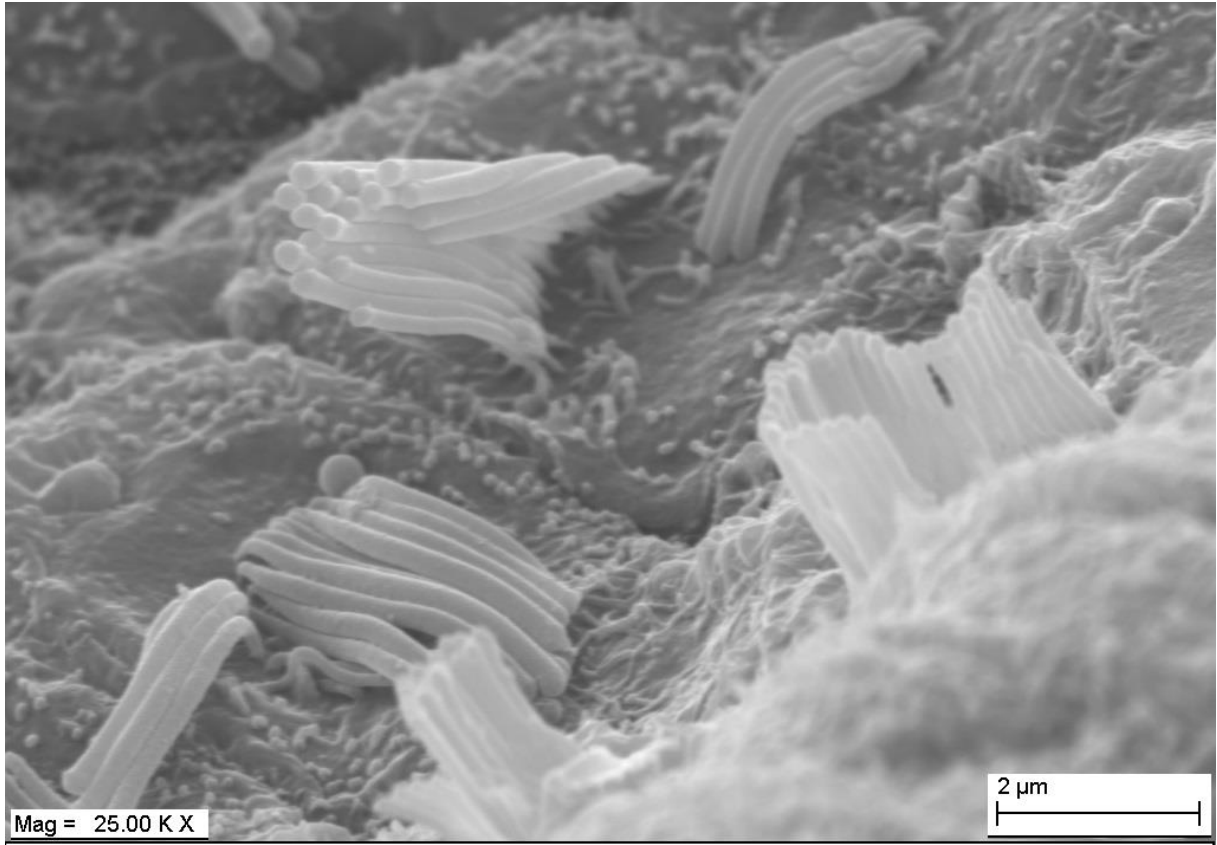
Şekil 14. Grup 3'e (Serum fizyolojik grubu) ait bir kobayın Corti organı yüzeyinin TEM görüntüsü X25000.



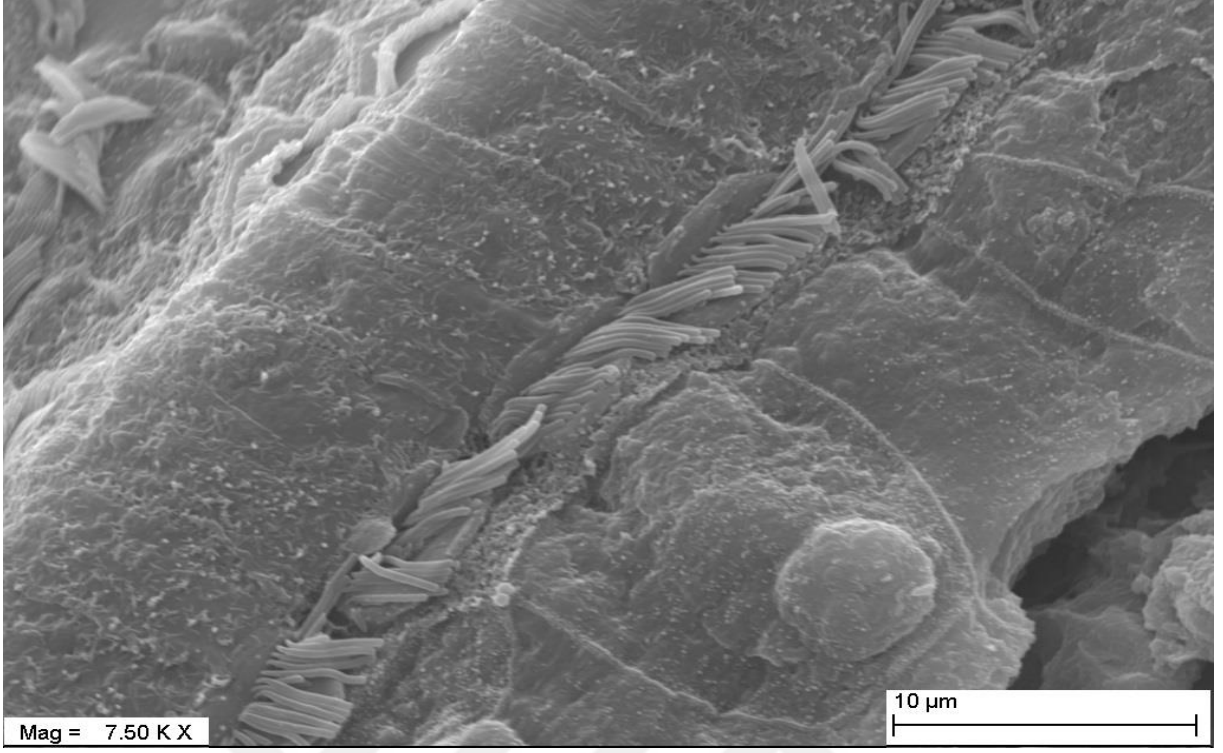
Şekil 15. TEM değerlendirmesinde Grup 3 (serum fizyolojik grubu) dış tüylü hücre stereosilya morfolojisi X7500.

Grup 1'de yer alan on kobayın koklealarında yapılan Corti organı yüzey anatomisi incelemesinde; dört kobayın koklealarında tüylü hücrelerde yan yüzey bağlantılarında düzensizlikler, kollaps, düzensiz ayrılmalar ve bazal bölgesinde dejenerasyon gözlemlendi(Şekil 16). Dört kokleanın bazal bölge tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlik, yapışıklık ve parsiyel kayıplar, iç tüylü hücre stereosilyalarında yapışıklıklar saptandı (Şekil 17). İki kokleanın DTH stereosilyalarında düzensizlik, parsiyel kayıplar ve yer yer tam kayıplar mevcut idi (Şekil 18).

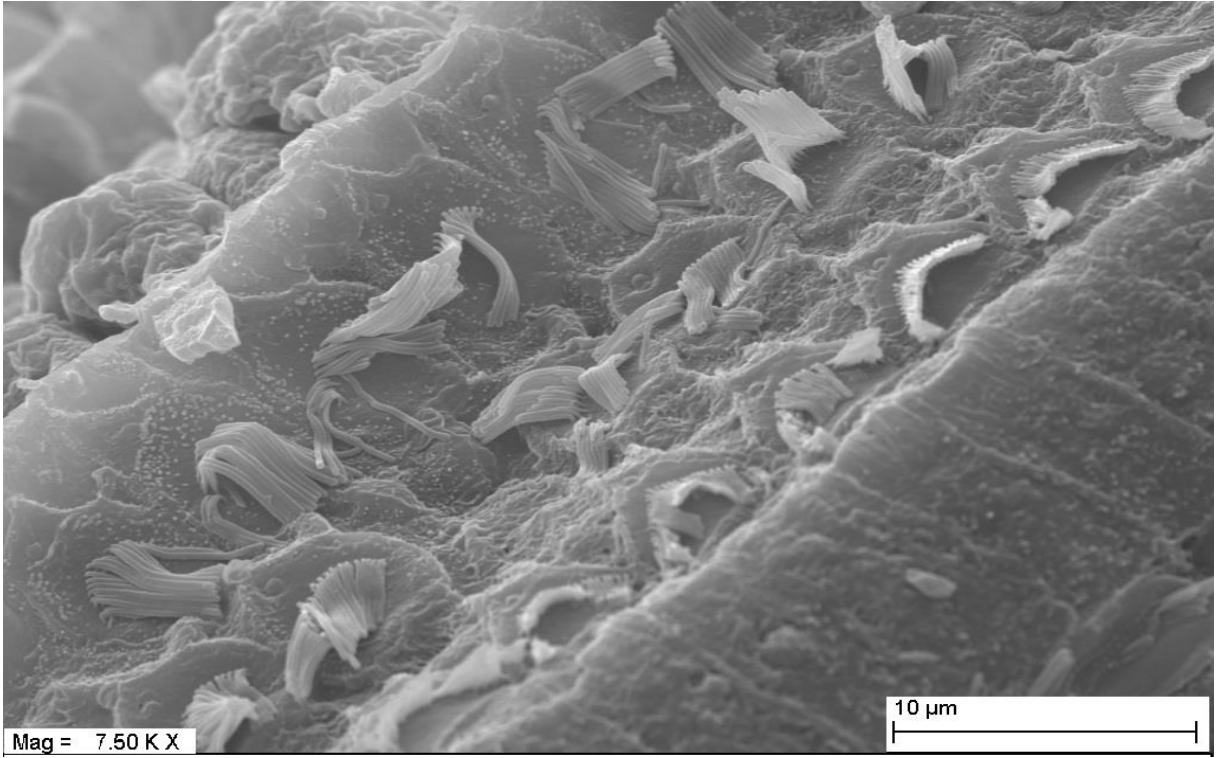
Böylece dört koklea 8, dört koklea 6 ve ikikoklea 4 puan ile (ortalama= 6.4) değerlendirildi.



Şekil 16. Grup 1'e (Alkol borik grubu) ait Corti organı TEM görüntüsünde DTH stereosilyalarında yapışıklıklar ve düzensiz ayrılmalar gözlenmektedir X25000

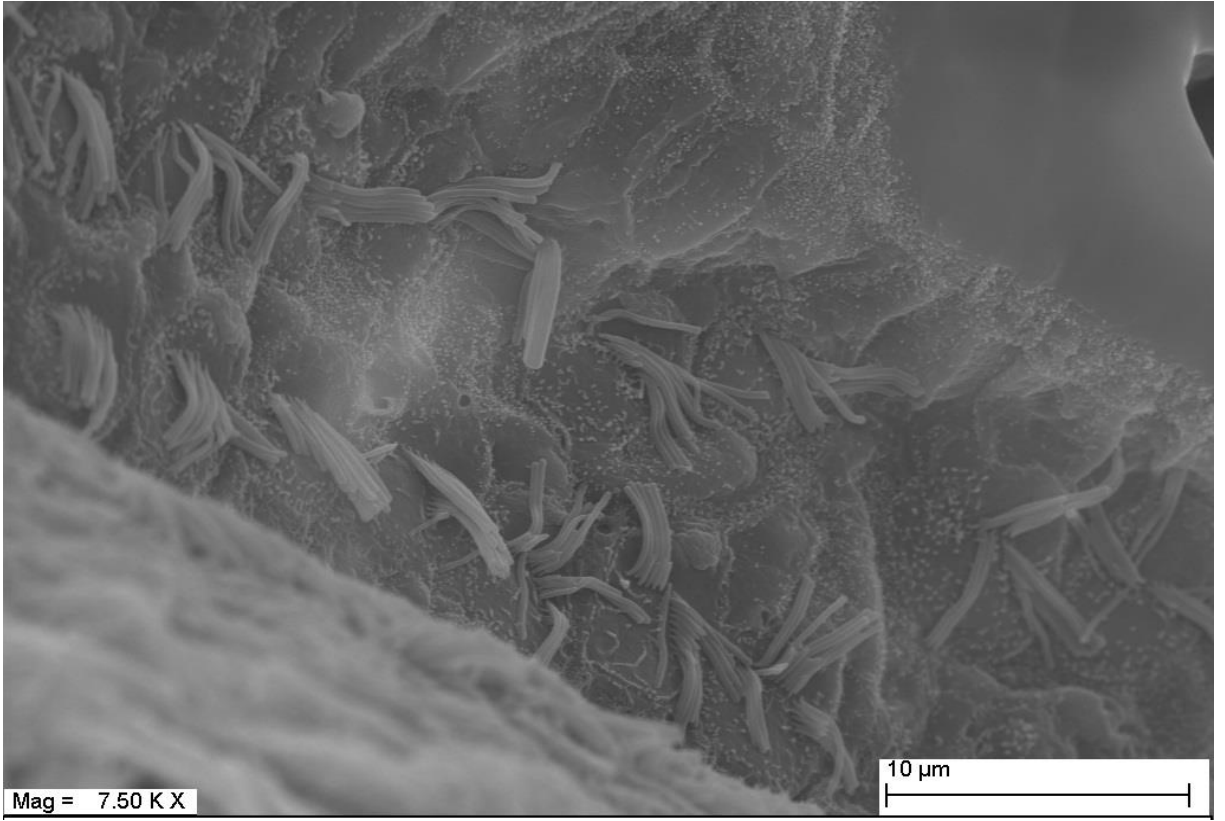


Şekil 17. Grup 1 'e (Alkol borik grubu) ait Corti organı yüzeyindeki iç tüylü hücre stereosilyalarında ki yapışıklık gözlenmektedir X7500.

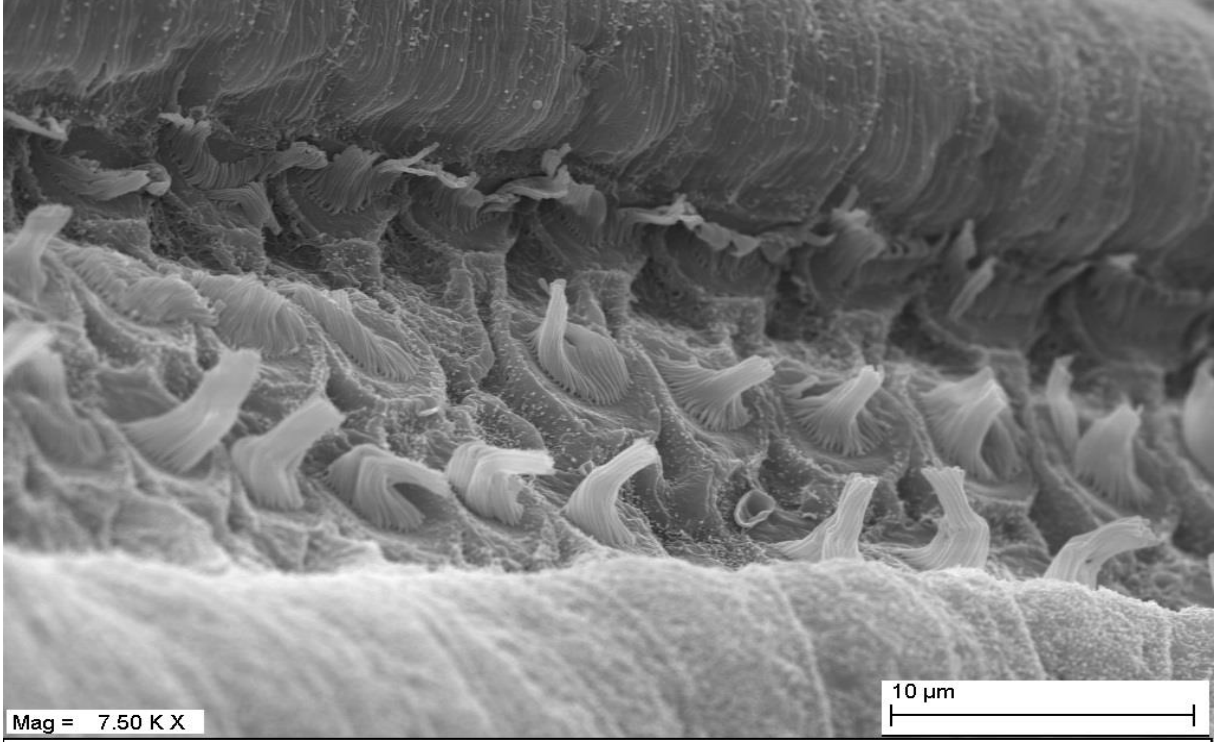


Şekil 18. Grup 1'e (Alkol borik grubu) ait Corti organı yüzeyindeki DTH stereosilyalarının yer yer tamamen kaybolduğu, parsiyel kayıplar ve stereosilyalarda yapışıklıklar gözlenmektedir X7500.

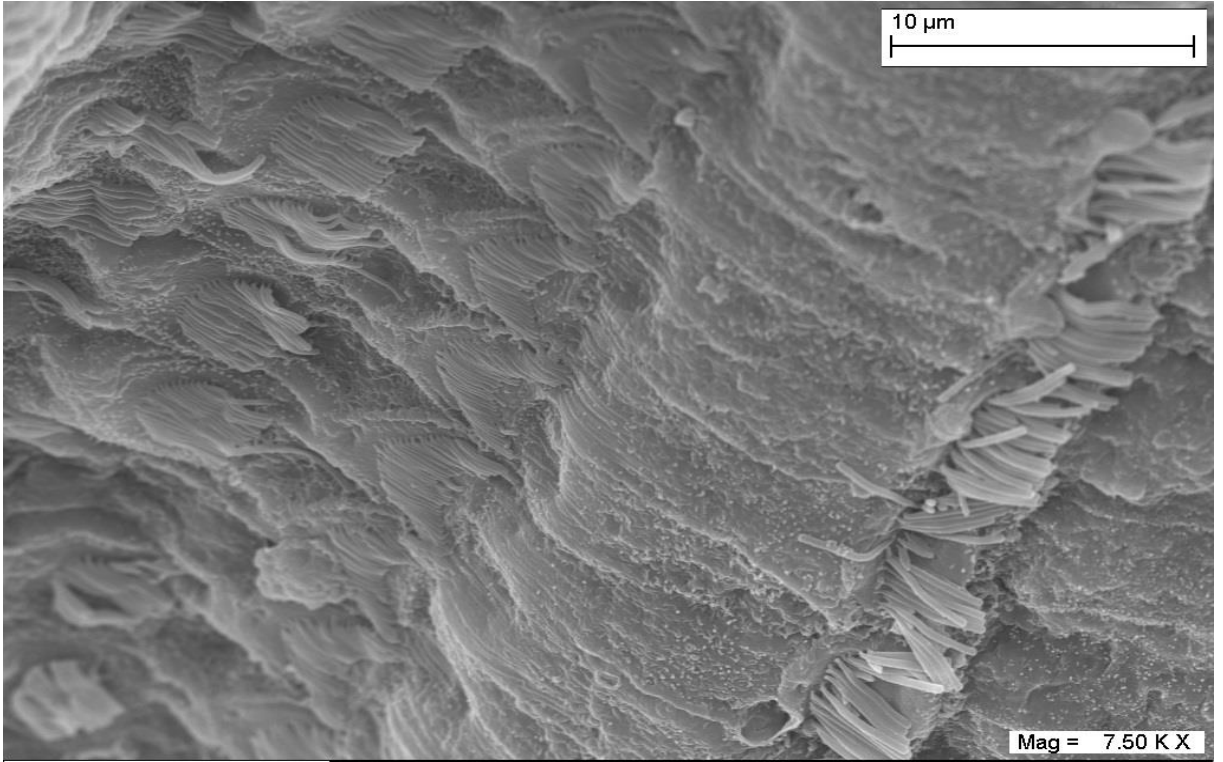
Grup 2'de yer alan on kobayın koklealarında yapılan Corti organı yüzey anatomisi incelemesinde; beş kobayın koklealarının bazal ve orta bölgelerinde tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlik, yan yüzey bağlantılarında düzenli ayrılma tespit edildi. Parsiyel ve yer yer tam kayıplar mevcut idi (Şekil 19). Üç koklea DTH stereosilyalarında düzensizlik ve yapışıklıklar mevcuttu (Şekil 20-21). Histolojik skorlama sonucunda; beş koklea 10 puan, iki koklea 8 puan ve iki koklea 3 puan (ortalama=7.2) ile değerlendirildi.



Şekil 19. Grup 2'ye (Gentamisin grubu) ait bir kobayın Corti organı yüzeyinde dış tüylü hücre stereosilyalarında parsiyel ve total kayıplar gözlenmektedir X7500



Şekil 20. Grup 2'ye (Gentamisin grubu) ait bir kobayın Corti organı yüzeyinde dış tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlik ve yapışıklıklar gözlenmektedir X7500



Şekil 21. Grup 2'ye (Gentamisin grubu) ait bir kobayın TEM görüntüsünde Corti organı yüzeyi dış tüylü hücre stereosilyalarında yapışıklıklar ve iç tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlikler gözlenmektedir X7500.

Grup 1'e ait DTH hasarı ve koklea dejenerasyonu skorları Grup 3' ait DTH hasarı ve koklea dejenerasyonu skorları ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Grup 2'ye ait DTH hasarı ve koklea dejenerasyonu skorları Grup 3' ait DTH hasarı ve koklea dejenerasyonu skorları ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Grup 1'e ait DTH hasarı ve koklea dejenerasyonu skorları Grup 2'ye ait DTH hasarı ve koklea dejenerasyonu skorları ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).



TARTIŞMA

Ototoksisite günümüzde hala önemini koruyan bir sağlık problemi olarak biz hekimlerin gündeminde yer almaktadır. Herhangi bir sağlık sorununu tedavi amacı ile kullandığımız sistemik veya kulak enfeksiyonlarında tercih ettiğimiz ototopikal ilaçlar VIII. kranial sinir ve end organında yapısal veya fonksiyonel değişikliklere neden olabilmekte böylece ototoksisite potansiyelleri ortaya çıkmaktadır. Ototoksisiteye bağlı gelişen başlıca yakınmalar; işitme kaybı, tinnitus, dengesizlik ve vertigodur (78). Dış kulak yolu enfeksiyonlarında ve orta kulak enfeksiyonlarında lokal tedavinin sistemik tedaviye üstünlüğü lokal tedavi seçeneğini ön plana çıkararak sistemik ilaçların yan etkilerinden (diare, bulantı, kusma, döküntü) korunmamıza yardımcı olurken, lokal tedavide kullanılan ajanların ototoksisite potansiyelleri daha da önem kazanmaktadır. Lokal ajanların dış kulak yolunda ve orta kulakta yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmeleri tedavideki etkinliklerini arttırırken, kulak zarı perfore olan veya açık mastoid kaviteli hastalarda yuvarlak pencere gibi doğal yollardan iç kulağa geçiş miktarları da artmakta ve böylece olası ototoksisiteleri daha da önem kazanmaktadır.

Alüminyum asetat, borik asit, povidin iyodür gibi antiseptik damlalar düşük maliyet ve kolay ulaşılabilirlik gibi özellikleri nedeni ile gelişmekte olan ülkelerde kronik süperatif otit media tedavisinde kullanılmaktadır ve her biri ile ilgili ototoksisite araştırmaları yapılmıştır (79,80). Bunun yanında sistemik tedaviye kıyasla topikal antibiyotik ve antiseptik damlalar daha etkiliyken, kendi aralarında etkinlik açısından bir üstünlük tespit edilememiştir (81). Topikal antiseptik damlaların amacı dış kulak yolu ve ortakulak boşluğunda asidik bir ortam yaratıp bakterilerin kolayca üremesini engellemektir (82).

Borik asit tıp pratiğinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Vajinit tedavisi amacı ile kadın hastalıkları ve doğum hekimlerince, periodontit tedavisi amacı ile diş hekimlerince kullanılmaktadır (59,83). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi tespit edilmiştir (8,84). İnce ve ark. (85) ratlarda borik asitin glutasyon ve benzeri antioksidan ajanların düzeylerini arttırmak suretiyle reaktif oksijen radikallerini nötralize ederek oksidatif hasarı engellediğini gösterdiler. Antioksidan özelliklerinin yanında osteoblastik aktiviteyi artırarak, kemik kaybını inhibe ettiği de gösterilmiştir (86,87). Yine rat modelinde nekrotizan enterokolite karşıkoruyucu etkileri ortaya konmuş (88), fare modelinde güçlü hepatoprotektif etkinliği gösterilmiştir (89). Gram pozitif, gram negatif bakterilere ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkinliği kanıtlanmıştır (90).

Borik asit temel olarak alkol veya distile su ile hazırlanan solusyon ve borik asit tozu olmak üzere iki formda kullanılabilir (13,60). Bu farklı formlar içinde 70° alkol ile hazırlanan %4' lük borik asit solusyonu antiseptik, antifungal, antibakteriyel ve hidroskopik etkileri nedeni ile dış kulak yolu iltihabında ve orta kulak iltihaplarında bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (10,11). Bu nedenle olası ototoksik etkiler açısından %4' lük alkol borik solusyonu önem kazanmaktadır.

Literatürde alkol borik'in ototoksik etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (13,14,19,91,92). Öztürkcan ve ark. (13) 70° alkol ile hazırlanan %4 borik asit solusyonu ile distile suyla hazırlanan %4 borik asit solusyonunun kobaylarda olası ototoksik etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında alkollü solusyon uygulanan grupta ABR eşik değerlerinde anlamlı derecede yükselme tespit ettiler. Özdemir ve ark. (14) ratlarda oksikonazol ve alkol ile hazırlanan borik asit solusyonunu ototoksisite açısından DPOAE ile değerlendirdiler ve her iki grupta da ototoksisite bulgusu saptamadılar. Fakat bu çalışmada borik asit solusyonunda kullanılan alkol derecesi ilgili bilgiye yer verilmemiştir. Aktaş ve ark. (91) kobaylarda yaptıkları çalışmalarında 60° ve 40° alkol ile hazırlanan %4 borik asit solusyonlarını ototoksite açısından ABR ile araştırdılar ve artan alkol derecesi ile paralel ABR eşiklerinde yükselme saptadılar. Minja ve ark. (92) okul çağında çocuklarda yaptıkları klinik çalışmalarında alkol borik solusyonun kronik süpüratif otitte etkili bir tedavi seçeneği olduğu ve sensorinöral işitme kaybına neden olmadığı sonucuna vardılar.

Daha önce değindiğimiz çalışmalarda borik asit içeren solusyonlar değerlendirilmişken, Salihoglu ve ark. (60) ise borik asit tozunu (%100 borik asit) ototoksisite açısından ratlarda DPOAE ile değerlendirdikleri çalışmalarında, uygulama öncesi ve sonrası amplitüdlere arasında anlamlı fark saptamamışlardır. Aynı çalışmada orta kulak mukozası

enflamasyon ve fibrozis açısından histopatolojik olarak değerlendirilmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif derecede enflamasyon ve fibrozis tespit edilmiştir.

Perforasyon varlığında topikal kulak damlalarının olası ototoksik etkilerini araştırmak için çok çeşitli hayvan modeli çalışmaları kullanılmıştır (93). Kemirgen modellerinde bir çoktopikalantibiyotiğin etkileri araştırılmış, özellikle gentamisin sürekli ve anlamlı olarak ototoksik bulunmuştur (13,93,94). Bu yüzden çalışmamızda pozitif kontrol grubu olarak gentamisin kullandık.

Sağlıklı koklea, belli bir uyarı ile dış kulak yolundan objektif olarak ölçülebilen bir akustik enerji yayar. Kokleadan kaynaklanıp kemik zincir, kulak zarı, ve dış kulak yolu tarafından iletilen vibratuar enerji karakterindeki otoakustik emisyonlar koklear hasarın en sensitif göstergesi olup; DTH'lerin durumu OAE kayıtları ile monitörize edilebilir (95). Koklear dalgaların güçlü doğal bir yan ürünü olması sebebiyle, OAE'ler kulak zarı hareketi ile birlikte tüm orta kulak kemikçik zincirin, oval pencere ve stapesin normal hareketini gösterir (96). OAE'lerin üretim yeri kokleadaki dış tüylü hücrelerdir. Ototoksik ilaçlar, hipoksi ve akustik travma ile DTH'lerin zarar görmesi OAE'lerin üretimini engelleyecektir. OAE'lerin elde edilebilmesi için sağlıklı bir orta kulak yapısı gereklidir. Sağlıklı bir orta kulak yapısında dahi kokleadan yansıyan enerjinin yaklaşık 12 dB kayba uğradığı bilinmektedir (97).

İnvaziv olmaması, ağrısız olması, anestezi gerektirmemesi, hastanın genel durumundan bağımsız uygulanabilmesi, objektif ve hassas bir ölçüm olması, test süresinin kısalığı ve geniş hasta gruplarına uygulanabilmesi gibi avantajları nedeni ile OAE ölçümleri klinik kullanımda sıkça tercih edilmektedir (15,97-99). Daha önce kobaylarda gentamisin uyguladığı çalışmasında Brown (100), korti organı DTH yüzey morfolojisindeki değişiklikler görülmeden önce DPOAE SNR yanıtlarında değişiklikler saptamıştır. Böylece OAE ölçümünün ototoksisitenin erken döneminde korti organında fonksiyonel bozulmayla birliktelik gösteren yapısal değişiklikleri belirlemek için gerekli olduğunu ileri sürmüştür. Çalışmamızda ototoksik etkiyi DTH fonksiyonları açısından değerlendirmek için DPOAE SNR'leri esas alınmıştır. Çalışmamızda grup içi SNR'ler karşılaştırıldığında alkol borik ve gentamisin gruplarında uygulama sonrası SNR'lerinde anlamlı derecede düşme tespit ettik. Serum fizyolojik grubunda ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı. SNR'ler açısından gruplar arası karşılaştırma yaptığımızda ise gentamisin kullanılan ve alkol borik kullanılan gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmazken, bu iki grup ile serum fizyolojik kullanılan grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu.

De Lauretis ve ark. (101) yaptıkları bir çalışmada sisplatin ototoksisitesinin erken tespiti için ABR'nin tespit değerinin anlamlı ölçüde başarılı olduğunu klinik odyolojik

verilerle göstermişlerdir. Campbell ve Durrant (102) literatürde ototoksisite üzerine yapılan ilk çalışmalarda, bir veya daha fazla frekansta 15 dB'i aşan ya da tek frekansta 20 dB'i aşan eşik değişikliklerinin belirgin değişiklik göstergesi kabul edildiğini ancak daha sonraki çalışmalarda bu kriterlerin ototoksik ilaç almayan kişilerde bile aşılabildiğini ileri sürmüşlerdir. Meyerhoff ve ark. (103) tobramisin sülfat veya vankomisin kullanılan 44 olguluk çalışmalarında, ototoksisite için bir frekansta en az 15 dB'lik eşik değişikliğini esas aldıklarında, ototoksisite açısından tek frekansta 15 dB'lik değişiklik kriterinin güvenilir olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca test edilen frekanslarda ortalama 5 dB'lik eşik değişikliklerini hem artış hemde azalma yönünde tespit etmişlerdir. Biz çalışmamızda bir değişiklik değeri baz almadık, ilaç uygulama öncesi ve sonrası değerleri anlamlılık açısından karşılaştırdık. Uygulama öncesi ve sonrası eşik değerleri gruplar içinde karşılaştırdığımızda alkol borik ve gentamisin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir eşik yükselmesi tespit ettik. Serum fizyolojik grubunda ise uygulama öncesi ve sonrası eşik değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Gruplar arası karşılaştırmada ise alkol borik ve gentamisin grupları arasında uygulama sonrası eşik değerler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, her iki grup için de yükselen eşik değerler serum fizyolojik grubu ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

Ototoksik etkilenme sıklıkla yüksek frekanslarda başlar ve daha sonra diğer frekanslarda da işitme eşiklerinde yükselme görülür. Kobaylar insanlara kıyasla daha yüksek frekansları işitir (104,105). Bu nedenle çalışmamızda klik ABR yanında ototoksik etkiyi daha fazla gösterebileceği düşüncesiyle frekans spesifik olarak 8000 Hz ayrıca değerlendirildi. Fakat gentamisin uyguladığımız grupta ve alkol borik uyguladığımız grupta hem klik ABR eşik değerlerinde hem frekans spesifik 8000 Hz ABR eşik değerlerinde yükselme olurken, bu yükselme miktarı test modülleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Deneysel hayvan çalışmalarında histolojik görüntülemeler değerli inceleme yöntemleridir. Literatürde daha önce yapılan deneysel çalışmalarda ototoksisitenin histopatolojik olarak ortaya konmasında floresan mikroskopu, elektron mikroskopu ve ışık mikroskopu gibi çeşitli inceleme yöntemleri kullanılmıştır (106-109). Fernandez-Cervilla ve ark. (106) koenzim A'nın sisplatin ototoksisitesinde koruyucu etkisini gösterdikleri çalışmalarında DTH'leri transmisyon elektron mikroskopisi ile incelediler. Oshima ve ark. (107) kobaylarda daptomisin ototoksisitesini inceledikleri ve ototoksik bulmadıkları çalışmalarında korti organı yüzeyindeki morfolojik değişiklikleri fluoresan mikroskopisi ile değerlendirdiler. Radyoterapi birlikteliğinin gentamisin ototoksisitesini arttırdığını

gösterdikleri çalışmalarında Bezdjian ve ark. (108) hem ışık mikroskopisi hem taramalı elektron mikroskopisi kullandılar. Abaylı ve ark. (109) orta kulağa lokal rifamisin uygulamasını hafif derecede ototoksik buldukları çalışmalarında koklea yüzeyini taramalı elektron mikroskopisi ile incelediler. Biz de çalışmamızda histopatolojik inceleme için taramalı elektron mikroskopisi kullandık. Kokleadaki tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu alkol borik ve gentamisin uyguladığımız gruplarda gözlemlendi, iki gruptaki hasar eşit düzeydeydi. Serum fizyolojik uyguladığımız grupta ise anlamlı hasar ve dejenerasyon saptanmadı.

Günümüzde ototoksisite hala önemini koruyan bir antite olarak biz hekimlerin gündemindeki önemini korumaktadır. Bu nedenle bir çok lokal ve sistemik ajan ototoksisite derecesi ve yeri açısından araştırılmıştır. Ototoksik etkisi en iyi bilinen ajanların başında gelen aminoglikozidlere bağlı oluşan ototoksisitenin iç kulakta oluşturduğu hasarın yeri ve buna bağlı oluşan klinik ve patolojik değişiklikler hakkında yeterli bilgimiz olsa da henüz ototoksisitenin moleküler mekanizması üzerine ortak kabul gören bir görüş bulunmamaktadır. Serbest oksijen radikallerinin aminoglikozidlere bağlı ototoksisitenin nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Aminoglikozidlerin hücre içinde serbest oksijen radikallerini oluşturması demir iyonu ve elektron vericisi olarak poliansature yağ molekülü gerektirir. Gentamisin ve demir birlikte bir membran lipidi olan fosfatidilinozitle bağlanarak serbest oksijen radikali oluşumuna yol açarlar (110). Böylece ototoksik etkiyi fonksiyonel ve morfolojik olarak ortaya çıkaran olaylar başlamış olur. Çalışmamızda DTH hasarını TEM ile göstermiş olsak da Alkol borik ototoksisitesinin nedenlerini yeni çalışmalarla moleküler düzeyde açıklamaya gereksinim vardır.

Çalışmamızda gözlemlediğimiz, daha önceki benzer çalışmalarda değinilmeyen bir konu da alkol borik uyguladığımız grupta ki kobayların, son ilaç uygulamasından 10 gün sonra dahi, otoskopisinde dış kulak yollarındaki ödem ve temporal kemik diseksiyonu sırasında makroskopik olarak gözlemlediğimiz orta kulak mukozasındaki hiperemi ve ödemdir. Diğer iki grupta böylesi bulgulara rastlamadık.

Alkol borik topikal olarak kronik otitis media ve eksternal otitte tedavi seçeneklerinden biridir. Çalışmamızda elektrofizyolojik olarak DPOAE ve ABR ölçümleri, histopatolojik olarak taramalı elektron mikroskopisi bulguları gösterdi ki kobaylarda orta kulağa uygulanan %4 alkol borik iç kulak yapısını bozuyor ve işitsel fonksiyonu negatif etkiliyor. Alkol borik solusyonunun orta ve iç kulağa etkilerinin yeni deneysel ve klinik çalışmalar ile daha ayrıntılı bir şekilde ortaya konulmasının gerekliliği yanında, çalışmamızda lokal %4 alkol borik kullanımının kobaylarda ototoksik etkileri olduğunu saptadık. Her ne

kadar klinik kullanımda alkol borik solusyonu sonrasında ototoksisite geliştiğini gösteren yayın yok isede, çalışmamızın verileri ışığında, kronik otitis mediada ve eksternal otitte (perfore kulak zarı olan veya ventilasyon tüpü mevcut hastalarda) lokal tedavi seçenekleri tercih edilirken ototoksik potansiyelin hatırlanması gerektiğini ve ototoksik olmayan ajanların tercih edilmesinin daha uygun olacağını düşünmekteyiz.



SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda tasarlanıp uygulanan, 'Alkol Borik %4' lük Lokal Uygulanımının Guinea Pig İç Kulağı Üzerine Olası Ototoxik Etkilerinin Elektrofizyolojik ve Ultrastrüktürel Olarak Değerlendirilmesi' başlıklı tez çalışmamızda elektrofizyolojik test sonuçları ve ultrastrüktürel incelemeler ışığında şu sonuçlara varılmıştır:

1. Alkol borik %4'lük solusyonun guinea piglerin DPOAE ile ölçülen tüm frekanslarında SNR değerlerini azalttığı tespit edilmiştir.
2. Gentamisin uygulanan grupta DPOAE SNR değerlerinde anlamlı derecede azalma tespit edildi.
3. Gentamisin ve %4'lük alkol borik grupları DPOAE SNR değerlerine göre benzer derecede ototoxik etkiye sahipti.
4. Serum fizyolojik uygulanan grupta uygulama öncesi ve sonrası DPOAE SNR değerleri ve ABR eşik değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı.
5. Alkol borik %4'lük solusyon uygulanan grupta ABR eşik değerlerinde anlamlı derecede yükselme tespit edildi.
6. Gentamisin uygulanan grupta ABR eşik değerlerde yükselme tespit edildi.
7. ABR eşik değerler göz önüne alındığında %4'lük alkol borik ve gentamisin benzer derecede ototoxik etki gösterdiler.
8. Ultrastrüktürel incelemelerde %4'lük alkol borik ve gentamisin uygulanan guinea piglerde kokleada tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu saptandı. Serum fizyolojik uygulanan grupta ise anlamlı değişiklik olmadı.

9. Elektrofizyolojik parametreler ve ultrastrüktürel incelemeler neticesinde %4'lük alkol borik gentamisinle benzer derecede ototoksik etki gösterdi.

ÖZET

Kobaylarda lokal %4 lük Alkol borik uygulananın olası ototoksik etkilerini elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel olarak araştırdığımız çalışmamızda, normal işitme eşiği ve emisyon varlığı tespit edilen 30 adet erişkin pigmente hartley suşu kobay randomize olarak 3 gruba ayrılmıştır. Grup 1 %4'lük alkol borik, Grup 2 gentamisin, Grup 3 serum fizyolojik uygulanan gruplardır. İlaç uygulaması intratimpanik enjeksiyonlar şeklinde birer gün arayla 5 kez yapılmıştır. İlk enjeksiyondan önce ve son enjeksiyondan sonra ölçülen işitsel beyinsapı yanıtları eşik değerleri ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon sinyal gürültü oranları gruplar içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Ölçümlerden sonra ultrastrüktürel incelemeler için tüm kobayların temporal kemikleri hazırlanmış, kokleadaki tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Grup 3 ilaç uygulaması öncesi ve sonrası işitsel beyinsapı yanıtları eşik değerleri ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon sinyal gürültü oranları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Grup 1 ve Grup 2 uygulama sonrası işitsel beyinsapı yanıtları eşik değerleri ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon sinyal gürültü oranları Grup 3 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Grup 1 ve Grup 2 ilaç uygulaması öncesi ve sonrası işitsel beyinsapı yanıtları eşik değerleri ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon sinyal gürültü oranları karşılaştırıldığında grup içi istatistiksel anlamlı fark saptanırken ($p<0.05$), gruplar arası karşılaştırmada Grup 1 ve Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Ototoksik etkileri histopatolojik açıdan gösterebilmek amacı ile taramalı elektron mikroskopisi kullanılmıştır. Grup 3 te anlamlı hasar ve dejenerasyon gözlenmemiştir

($p>0.05$). Kokleadaki tüylü hücre hasarı ve dejenerasyon Grup 1 ve Grup 2 de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gözlenmiş olup ($p<0.05$), iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Bu çalışmada kobaylarda lokal olarak uygulanan %4' lük alkol borik'in ototoksik etkileri gözlenmiş olup, klinik kullanımda bu hususun göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Borik asit; kobay; gentamisin; işitme kaybı, sensorinöral; otoakustik emisyon, spontan; işitsel beyinsapı yanıtları.



**ELECTROPHYSIOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL
ASSESSMENT OF POTENTIAL OTOTOXIC EFFECTS OF LOCAL
APPLICATION OF 4% ALCOHOL BORIC ON THE INNER EAR OF
GUINEA PIG**

SUMMARY

Thirty adult, pigmented, Hartley strain guinea pigs with normal hearing threshold and the presence of normal emission were divided into three randomized groups in the present study which investigated the potential ototoxic effects of local application of 4% alcohol boric on guinea pigs electrophysiologically and ultrastructurally. 4% Alcohol boric was applied to Group 1, gentamicin to Group 2 and normal saline to Group 3. Drug application was performed five times every other day through intratympanic injections. The auditory brainstem response threshold values and distortion product otoacoustic emission signal noise ratios measured before the first injection and after the last injection were compared within the groups and among the groups. After the measurements, the temporal bones of all guinea pigs were prepared for ultrastructural examinations, hairy cell damage and cochlear degeneration in the cochlea were compared statistically.

When the auditory brainstem response threshold values and distortion product otoacoustic emission signal noise ratios of Group 3 before and after drug application were compared, no statistically significant difference was found ($p>0.05$). When the auditory brainstem response threshold values and distortion product otoacoustic emission signal noise ratios of Group 1 and Group 2 after application were compared with those of Group 3, a

statistically significant difference was found ($p < 0.05$). When the auditory brainstem response threshold values and distortion product otoacoustic emission signal noise ratios before and after drug application in Group 1 and Group 2 were compared, a statistical significance was detected in the intragroup comparisons ($p < 0.05$) whereas no statistically significant difference was detected between Group 1 and Group 2 in the intergroup comparisons ($p > 0.05$).

In order to be able to demonstrate ototoxic effects from the histopathological point of view, a scanning electron microscopy was used. No significant damage and degeneration were observed in Group 3 ($p > 0.05$). Hairy cell damage and degeneration in the cochlea were observed at a statistically significant level in Group 1 and Group 2 ($p < 0.05$) whereas no significant difference was detected between these two groups ($p > 0.05$).

The ototoxic effects of local application of 4% alcohol boric on guinea pigs were observed in this study and this issue should be taken into account in clinical use.

Key words: Boric acid; guinea pigs; gentamicins; hearing loss, sensorineural; otoacoustic emissions, spontaneous; auditory brainstem response

KAYNAKLAR

1. Riggs LC, Matz GJ, Rybak RP. Ototoxicity. In: Bailey BJ, Calhoun KH (eds). Head and Neck Surgery-Otolaryngology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998:2165-70.
2. Scott PMJ, Griffiths MV. A clinical review of ototoxicity. Clin Otolaryngology 1994;19(1):3-8.
3. Wackym PA, Storper IS, Newman AN. Cochlear and vestibular ototoxicity. In: Canalis RF, Lambert PR (eds). The Ear Comprehensive Otolaryngology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000:571-85.
4. Vennewald I, Klemm E. Otomycosis: Diagnosis and treatment. Clin Dermatol 2010; 28(2):202-11.
5. Roland PS, Stewart MG, Hannley M, Friedman R, Manolidis S, Matz G et al. Consensus panel on role of potentially ototoxic antibiotics for topical middle ear use: Introduction, methodology, and recommendations. Otolaryngol Head Neck Surg 2004;130(3):51-6.
6. Quarles W. Boric Acid, Borates and Household Pests. The IPM Practitioner 2001;23(3):1-12.
7. Mullins MZ, Trouton KM. BASIC study: is intravaginal boric acid non-inferior to metronidazole in symptomatic bacterial vaginosis? Study protocol for a randomized controlled trial. Trials 2015;16:315.
8. Blech MF, Martin C, Borrelly J, Hartemann P. Treatment of deep wounds with loss of tissue. Value of a 3 percent boric acid solution. Presse Med 1990;19(22):1050-2.
9. Reichman O, Akins R, Sobel JD. Boric acid addition to suppressive antimicrobial therapy for recurrent bacterial vaginosis. Sex Transm Dis 2009; 36(11):732-4.

10. Karasalihođlu AR. Kulak Burun Boğaz Hastalıklarında İlaç Kullanımı. Dökmeci İ (Editör). Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar'da.İZMİR:Başsaray Basımevi, Saray Medikal Yayıncılık, 1996:1012.
11. Mawson SR.Diseases of the Ear.2nded. London: Edward Arnold Ltd,1979:338.
12. Sayin Z, Ucan US, Sakmanoglu A. Antibacterial and antibiofilm effects of boron on different bacteria. Biol Trace Elem Res 2016;173(1):241-6.
13. Oztürkcan S, Dünder R, Katilmis H, Ilknur AE, Aktaş S, Hacıömeroğlu S. The ototoxic effect of boric acid solutions applied into the middle ear of guinea pigs. Eur Arch Otorhinolaryngol 2009;266(5):663-7.
14. Özdemir S, Tuncer Ü, Tarkan Ö, Akar F, Sürmeliođlu Ö. Effects of topical oxiconazole and boric acid in alcohol solutions to rat inner ears. Otolaryngol Head Neck Surg 2013;148(6):1023-7.
15. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi, cilt-1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998:1-197.
16. Karasalihođlu AR. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi. 3. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003:3-14.
17. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ears. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (Eds). Otolaryngology Head and Neck Vol.1. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1991:23-58.
18. Ömür M, Dadaş B. Klinik baş ve boyun anatomisi. Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996:181-213.
19. Wrigth A. Anatomy and ultrastructure of the human ear. In: Keer AG, Gleeson M (Eds). Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1. 16th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish; 1997: ch 1,1-50.
20. Lee KJ. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. 8thed. Newyork: Medical Publish Co, 2003:1-24.
21. Austin DF. Kulağın anatomisi (çeviri: G. Hafız). Şenocak D (Editör). Ballenger Otolaringoloji Baş Boyun Cerrahisi'nde, cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000:838-57.
22. Cruz OLM. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In: Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT et al (Eds). Otolaryngol Head& Neck Surg Vol.4, 4th ed. Baltimore: Elsevier Mosby; 2005:2801-31.
23. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983:759-88.
24. Toth M, Alpar A, Patonay L, Olah I. Development and surgical anatomy of the round window niche. Ann Anat 2006;188(2):93-101.

25. Cureoglu S, Schachern PA, Rinaldo A, Tsuprun V, Ferlito A, Paparella MM. Round window membrane and labyrinthine pathological changes: an overview. *Acta Otolaryngology* 2005;125(1):9-15.
26. Santi PA, Mancini P. Koklear anatomi ve santral işitme yolları (çeviri: F. Karayel). Koç C(Editör). *Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi'nde*, cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007:3373-97.
27. Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. *Anatomi*. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi, 1997:466-90.
28. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. *Brain Res Bull* 2003;60(5-6):397-422.
29. Mills JH, Khariwala SS, Weber PC. Anatomy and physiology of hearing. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD (Eds). *Otolaryngology Head&Neck Surgery Vol.2*, 4th ed. Texas: Lippincott Williams&Wilkins; 2006:1883-903.
30. John HM, Waren YA. Anatomy and physiology of hearing. In: Bailey BJ (Ed). *Otolaryngol Head Neck Surgery Vol.2*, Philadelphia: JB Lippincott Co; 1993:1441-61.
31. Goksu N, Hazıroglu R, Kemaloglu Y, Karademir N, Bayramoglu İ, Akyildiz N. Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992;101(8):699-704.
32. Sehitoglu MA, Uneri C, Celikoyar MM, Uneri A. Surgical anatomy of the guinea pig middle ear. *Ear Nose Throat J* 1990;69(2):91-7.
33. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. *Hear Res* 2005;199(1-2):103-10.
34. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, Luebke AE. Physiology of the auditory and vestibular systems. In: Ballenger JJ, Snow JB (Eds). *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. 15th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 1996:879-929.
35. Pickles JO. Physiology of hearing. In: Kerr AG, Gleeson M (Eds). *Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1*, 6th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish Ltd; 1997: ch 2,1-34.
36. Abbas PJ, Miller CA. Physiology of the auditory system. In: Cummings CW, Fredrickson LM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (Eds). *Otolaryngology Head and Neck Surgery vol.4*, 3th ed. St. Louis Missouri: Mosby Year Book Inc; 1998:2831-74.
37. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 1978;64(5):1386-91.
38. Kemp DT. Exploring cochlear status with otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:1-47.

39. Hall JW, Baer JE, Chase PA, Schwaber MK. Clinical application of otoacoustic emissions: what do we know about factors influencing measurement and analysis? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;110(1):22-38.
40. Johnson KC. Audiologic assessment of children with suspected hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 2002;35(4):711-32.
41. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1993;14(1):11-22.
42. Plinkert PK, Bootz F, Vossieck T. Influence of static middle ear pressure on transiently evoked otoacoustic emissions and distortion products. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):95-9.
43. Nozza RJ, Sabo DL, Mandel EM. A role for otoacoustic emissions in screening for hearing impairment and middle ear disorders in school-age children. *Ear Hear* 1997;18(3):227-39.
44. Bright KE. Spontaneous otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatcke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:74-94.
45. Lonsbury-Martin BL. Introduction to otoacoustic emissions. *Am J Otol* 1994;15 Suppl 1:1-3.
46. Ueda H, Hattori T, Sawaki M, Niwa H, Yanagita N. The effect of furosemide on evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear Res* 1992;62(2):199-205.
47. Karasalihođlu A, Adalı MK, Karasalihođlu S, Koten M, Acunaş B, Uzun C et al. Normal ve Riskli Yenidođanlarda Transient Evoked Otoakustik Emisyon (TEOAE) ile İşitme Taraması. *Cerrahpaşa Tıp Fak. XIX. Akademik Hafta Pediatrik Otolarengoloji Sempozyumu Kongre Kitabı, İstanbul, Türkiye*. 1996:48-53.
48. Salata JA, Jacobsen JT, Strasnick B. Distortion-product otoacoustic emissions hearing screening in high risk newborn. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;118(1):37-43.
49. Glatcke TJ, Robinette MS. Transient evoked otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatcke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:95-115.
50. Harris FP, Probst R. Otoacoustic emissions and audiometric outcomes. In: Robinette MS, Glatcke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:213-42.
51. Ross UH, Rogowski M, Reiss G, Gloddek B. Detection of cochlear dysfunction by the measurement of transiently evoked otoacoustic emissions in Guinea pigs with autoimmune-induced labyrinthitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):80-3.

52. Moulin A, Collet L, Veuillet E, Morgon A. Interrelations between transiently evoked otoacoustic emissions, spontaneous otoacoustic emissions and acoustic distortion products in normally hearing subjects. *Hear Res* 1993;65(1-2):216-33.
53. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, McCoy MJ, Whitehead ML. New approaches to the evaluation of the auditory system and a current analysis of otoacoustic emissions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;112(1):50-63.
54. Özdamar Ö. İşitsel uyarılma potansiyellerinin tarihçesi. Muş N, Özdamar Ö (Editörler). İşitsel Beyin Sapı Cevapları Temel Bilgiler ve Klinik Uygulamaları'nda, Ankara: 1996:31-3,35-55.
55. Spelman R, Stoneham MA. Evoked potential primer. 2nd ed. London: ButterworthHeinaman Publish; 1985:194-232.
56. Northern JL, Roush J. Differential audiometry in otologic diagnosis. In: English GM. *Otolaryngology Vol. 1*, Philadelphia: Harper-Rowl Publ; ch 6, 1985:16-21.
57. Saydam L, Özlüoğlu L, Gürsel B. Serebellopontin köşe tümörlerinin tanısında beyin sapı odyometrisinin kullanımı. *Türk Otolaringoloji Arşivi* 1994;32:69-73.
58. Muş N, Yenişehir S, Özkaptan Y. Retrokoklear ABR anormalliklerinin nörofizyolojik temeli. *Kulak Burun Boğaz İhtis Derg* 1991;1:65-70.
59. Kanoriya D, Singhal S, Garg V, Pradeep AR, Garg S, Kumar A. Clinical efficacy of subgingivally-delivered 0.75% boric acid gel as an adjunct to mechanotherapy in chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial. *J Investig Clin Dent* 2017.
60. Salihoglu M, Dogru S, Cesmeci E, Caliskan H, Kurt O, Kuçukodaci Z et al. Ototoxicity of boric acid powder in a rat animal model. *Braz J Otorhinolaryngol* 2017.
61. Loock JW. A randomised controlled trial of active chronic otitis media comparing courses of eardrops versus one-off topical treatments suitable for primary, secondary and tertiary healthcare settings. *Clin Otolaryngol* 2012; 37(4):261-70.
62. Benkovic SJ, Baker SJ, Alley MR, Woo YH, Zhang YK, Akama T et al. Identification of borinic esters as inhibitors of bacterial cell growth and bacterial methyltransferases, CcrM and MenH. *J Med Chem* 2005;48(23):7468-76.
63. Nielsen FH. Is boron nutritionally relevant? *Nutr Rev* 2008;66(4):183-91.
64. Hakki SS, Bozkurt BS, Hakki EE. Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *J Trace Elem Med Biol* 2010;24(4):243-50.
65. Worboys, M. Joseph Lister and the performance of antiseptic surgery. *Notes Rec R Soc Lond* 2013;67(3):199-209.
66. Romsaithong S, Tomanakan K, Tangsawad W, Thanaviratananich S. Effectiveness of 3 per cent boric acid in 70 per cent alcohol versus 1 per cent clotrimazole solution in otomycosis patients: a randomised, controlled trial. *J Laryngol Otol* 2016;130(9):811-5.

67. Rybak LP. Vestibüler ve işitsel toksisite (çeviri: S Karahatay, S Yetişer). Koç C (Ed). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi'nde, cilt 4. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007:2933-43.
68. Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. *Otolaryngologic Clin N Am* 1993;26(5):857-71.
69. Roland JT, Cohen NL. Vestibuler and auditory ototoxicity. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (eds). *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 2nd ed. St.Louis: Mosby-Year Book, Inc; 1998:3186-97.
70. Campbell KCM, Durrant J. Audiologic monitoring for ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993;26(5):903-14.
71. Taş A, Yağız R. Ototoksisitenin odyolojik monitörizasyonu. *Trakya Üniv Tıp Fak Derg* 2005;22(1):37-41.
72. Mutlu C. Ototoksisite. Çelik O (Ed). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi'nde*. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2002:257-70.
73. Dreschler WA, Van der Hulst RJ, Tange RA, Urbanus RA. Role of high-frequency audiometry in the early detection of ototoxicity. II. Clinical Aspects. *Audiology* 1989;28(4):211-20.
74. Le Calvez S, Avan P, Gilain L, Romand R. CD1 hearing-impaired mice. I: Distortion product otoacoustic emission levels, cochlear function and morphology. *Hear Res* 1998; 120(1-2):37-50.
75. Glueckert R, Pfaller K, Kinnefors A, Rask-Andersen H, Schrott-Fischer A. Ultrastructure of the normal human organ of corti. new anatomical findings in surgical specimens. *Acta Otolaryngol* 2005;125(5):534-9.
76. Glueckert R, Pfaller K, Kinnefors A, Schrott-Fischer A, Rask-Andersen H. High resolution scanning electron microscopy of the human organ of Corti. A study using freshly fixed surgical specimens. *Hear Res* 2005;199(1-2):40-56.
77. Poyrazoğlu E, Güngör A, Uğur G, Okar İ, Candan H. Ototopikal Siprofloksasinin Koklear Etkilerinin Taramalı Elektron Mikroskopisi İle Gösterilmesi. *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi* 1997;5(2):116-21.
78. Walther LE, Hülse R, Lauer K, Wenzel A. Current aspects of ototoxicity. Ototoxic substances and their effects. *HNO* 2015;63(4):315-24.
79. Yagiz R, Tas A, Uzun C, Adali MK, Koten M, Karasalihoglu AR. Effect of topically applied povidone-iodine on transient evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. *J Laryngol Otol* 2003;117:700-3.

80. Uzun C, Bulut E. Kobaylarda intratimpanik aliminyum asetatın olası ototoksik etkisinin elektrofizyolojik testler ile araştırılması. 29. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi Özet Kitabı, Antalya, Türkiye 2007:136.
81. Verhoeff M, van der Veen EL, Rovers MM, Sanders EA, Schilder AG. Chronic suppurative otitis media: a review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006;70(1):1-12.
82. Basut O. Otitis mediada bakteriyoloji ve tedavi, *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2005;1(7):20-5.
83. De Seta F, Schmidt M, Vu B, Essmann M, Larsen B. Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of *Candida* vaginitis. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63(2):325-36.
84. Tepedelen BE, Soya E, Korkmaz M. Boric Acid Reduces the Formation of DNA Double Strand Breaks and Accelerates Wound Healing Process. *Biol Trace Elem Res* 2016;174(2):309-18.
85. Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fatih Fidan A, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *J Trace Elem Med Biol* 2010;24(3):161-4.
86. Sağlam M, Hatipoğlu M, Köseoğlu S, Esen HH, Kelebek S. Boric acid inhibits alveolar bone loss in rats by affecting RANKL and osteoprotegerin expression. *J Periodontal Res* 2014;49(4):472-9.
87. Demirer S, Kara MI, Erciyas K, Ozdemir H, Ozer H, Ay S. Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Arch Oral Biol* 2012;57(1):60-5.
88. Yazici S, Akşit H, Korkut O, Sunay B, Çelik T. Effects of boric acid and 2-aminoethoxydiphenyl borate on necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58(1):61-7.
89. Ince S, Keles H, Erdogan M, Hazman O, Kucukkurt I. Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Drug Chem Toxicol* 2012;35(3):285-92.
90. Saita K, Nagaoka S, Shirotsaki T, Horikawa M, Matsuda S, Ihara H. Preparation and characterization of dispersible chitosan particles with borate crosslinking and their antimicrobial and antifungal activity. *Carbohydr Res* 2012;349:52-8.
91. Aktas S, Basoglu MS, Aslan H, Ilknur AE, Dundar R, Katilmis H et al. Hearing loss effects of administering boric alcohol solution prepared with alcohol in various degrees on guinea pigs (an experimental study). *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2013; 77(9):1465-8.
92. Minja BM, Moshi NH, Ingvarsson L, Bastos I, Grenner J. Chronic suppurative otitis media in Tanzanian school children and its effects on hearing. *East Afr Med J* 2006; 83(6):322-5.

93. Roland PS, Rybak L, Hannley M, Matz G, Stewart MG, Manolidis S et al. Animal ototoxicity of topical antibiotics and the relevance to clinical treatment of human subjects. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(3):57-78.
94. Gultekin E, Yener M, Ozdemir I. The effect of topical Castellani solution on outer hair cell function of rats. *Laryngoscope* 2010;120(4):808-12.
95. Kizilay A, Ozturan O, Erdem T, Kalcioglu MT, Miman MC. Effects of chronic exposure of electromagnetic fields from mobile phones on hearing in rats. *Auris Nasus Larynx* 2003;30(3):239-45.
96. Rahko T, Kumpulainen P, Ihalainen H, Ojala E, Aumala O. A new analysis method for the evaluation of transient evoked otoacoustic emissions. *Acta Otolaryngol Suppl* 1997;529: 66-8.
97. Probst R, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. A review of otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 1991;89(5):2027-67.
98. Apaydın F, Ege Y, Günhan Ö, Bilgen V. Otoakustik emisyonlarda ilk uygulamalarımız. *Türk Otolaringoloji Arşivi* 1995;33(4):267-72.
99. Fabiani M. Evoked otoacoustic emissions in the study of adult sensorineural hearing loss. *Br J Audiol* 1993;27(2):131-7.
100. Brown AM. Acoustic distortion from the rodent ears: A comparison of responses from rats, guinea pigs and gerbils. *Hear Res* 1987;31:25-38.
101. De Lauretis A, De Capua B, Barbieri MT, Bellussu L, Passali D. ABR evaluation of ototoxicity in cancer patients receiving cisplatin or carboplatin. *Scand Audiol* 1999; 28(3):139-43.
102. Campbell KC, Durrant J. Audiologic monitoring for ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993;26(5):903-14.
103. Meyerhoff WL, Maale GE, Yellin W, Roland PS. Audiologic threshold monitoring of patients receiving ototoxic drugs. Preliminary report. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98(12 Pt 1): 950-4.
104. Warfield D. The study of hearing in animals. In: Gay W (Ed.) . *Methods of Animal Experimentation*. London: IV. Academic Press; 1973:43-143.
105. Rosowski JJ. Outer and Middle Ears. In: Fay RR, Popper AN (eds). *Comparative Hearing: Mammals*. New York: Springer-Verlag; 1994:172-247.
106. Fernandez-Cervilla F, Martinez-Martinez M, Fernandez-Sequra E, Canizares-Garcia FJ, Crespo-Ferrer PV. Effect of coenzyme A on outer hair cells in cisplatin ototoxicity: functional and ultrastructural study. *Histol Histopathol* 2017;32(2):171-6.

107. Oshima H, Nomura K, Yamazaki M, Suzuki J, Kawasa T, Kobayashi T et al. Ototoxic effect of daptomycin applied to the guinea pig middle ear. *Acta Otolaryngol* 2014;134(7):679-83.
108. Bezdjian A, Mujica-Mota MA, Devic S, Daniel SJ. The effect of radiotherapy on gentamicin ototoxicity: an animal model. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2015;152(6):1094-101.
109. Abaylı C, Kul Y, Koten M, Karasalihođlu AR, Taş A, Yağız R et al. Possible Ototoxic Effects of Topical Rifamycin Application: An Electrophysiological and Ultrastructural Study. *Turk Arch Otorhinolaryngol* 2017;55:99-104.
110. Priuska EM, Schacht J. Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochem Pharmacol* 1995;50(11):1749-52.



EKLER



Ek 1



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2017/05

Karar Tarihi: 31.05.2017

KARAR NO: 2017.05.01

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof.Dr. Abdullah TAŞ'ın yaptığı Arş. Gör.Dr. Yusuf KUL'un Tıpta Uzmanlık Tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2016/44 protokol nolu "Alkol Borik %2lik Lokal Uygulamalarının Guinea Pig İç Kulağı Üzerine Olası Ototoksik Etkilerinin Elektrofizyolojik ve Ultrastüktürel Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmanın isminin "Alkol Borik %4 lük Lokal Uygulanımının Guinea Pig İç Kulağı Üzerine Olası Ototoksik Etkilerinin Elektrofizyolojik ve Ultrastüktürel Değerlendirilmesi" şeklinde değiştirilmesi teklifi görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergelerinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Vet. Hocim İyâ ÇUKUR
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

- MAZERETLİ -

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

- MAZERETLİ -

Doç. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Ecz. F. Uygur GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Osman GÜLTEKİN
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Ek 2



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
İdari ve Mali İşler Daire Başkanlığı

Sayı : 59803669-604.99
Konu : Sözleşme

-E.56150

23/02/2017

Sayın Prof. Dr. Abdullah TAŞ
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve Arş. Gör. Dr. Yusuf KUL'un "Alkol Borik %2 Lik Lokal Uygulamalarının Guinea Pig İç Kulağı Üzerine Olası Ototoxik Etkilerinin Elektrofizyolojik ve Ultrastrüktürel Değerlendirilmesi" başlıklı tıpta uzmanlık projesinin 8 (sekiz) ay süre ve 9.437,00 TL ile desteklenmesine, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 09.02.2017 tarih ve 2017/01 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 7. maddesinin c bendi uyarınca düzenlenen Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim

e-İmzalıdır

Prof. Dr. Mümin ŞAHİN
Rektör Yardımcısı

Ek:Protokol sözleşmesi (2 sayfa)

Evrakı Doğrulamak İçin : https://ebys.trakya.edu.tr/enVision/Validate_Doc.aspx?V=BENU3BD48

Adres:Trakya Üniversitesi Rektörlüğü İdari ve Mali İşler Daire Başkanlığı Balkan
Yerleşkesi Edirne 22030
Telefon:2842234210 Faks:2842235507
E-Posta: idamali@trakya.edu.tr Elektronik Ağ: <http://imdb.trakya.edu.tr/>

Bilgi için: Sabiha DERMENCİ
Unvan: Bilgisayar İşletmeni



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.