

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN VE BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PİCİBANİL'İN (OK-432) ORTA KULAK VE KOKLEA ÜZERİNE
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Hatice Hazan SÖNMEZ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Şinasi YALÇIN**

**ELAZİĞ
2018**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

TEŞEKKÜR

Kulak Burun Boğaz alanındaki uzmanlık bilgi ve becerisini kazandıran, mesleki, akademik ve sosyal tecrübelerini devamlı bizimle paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen tez konumun seçiminde, değerlendirilmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen anabilim dalı başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Şinasi YALÇIN'a , kliniğimizin öğretim üyeleri Prof. Dr. İrfan KAYGUSUZ, Prof. Dr. Turgut KARLIDAĞ ve Prof. Dr. Erol KELEŞ' e teşekkürü borç bilirim.

Çalıştığım dönem boyunca birlikte olduğum, kendilerinden mesleki bilgiler yanında sevgi, saygı ve dostluğa dair pek çok şey öğrendiğim, daima desteklerini gördüğüm ikinci aile ortamının değerli üyeleri olan kliniğimizin asistan doktorlarına, hemşirelerine, sekreterlerine ve personeline özellikle teşekkür etmek isterim.

Ayrıca tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Prof.Dr. Figen KAYMAZ'a teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesine maddi olarak destek veren Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne de teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca karşılıksız sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen, bugünlere gelmeme vesile olan sevgili aileme minnettarım.

ÖZET

İç kulak hastalıklarının intratimpanik tedavisine olan ilgi son yirmi yılda önemli ölçüde artmıştır. İntratimpanik tedaviler ile ilaçların sistemik yan etkilerinden kaçınılmış olunur ancak bu ilaçların lokal uygulanmasıyla da görülebilecek ototoksisiteye karşı dikkatli olunmalıdır.

Picibanil (OK-432) klinikte, malign hastalıklarda sistemik veya lokal olarak adjuvan tedavi ajanı olarak kullanılırken sklerozan etkisi nedeniyle de lenfatik malformasyonlarda ve kistik lezyonlarda kullanılmaktadır. OK-432 ile ilgili literatürde çeşitli kullanım yerleriyle ilgili birçok çalışma olmasına rağmen orta kulak ve koklea üzerindeki etkileri hakkında İngilizce literatürde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmadı. Bu çalışma ile OK-432'nin kulakta lokal kullanımı ile kulak üzerindeki histopatolojik etkileri ve ototoksisitesi araştırılmıştır.

Çalışmaya 40 tane guine pig alınmış ve bunlar rastgele beşerli sekiz gruba ayrılmıştır. Grupların dördü çalışma, dördü kontrol grubudur. Çalışma gruplarında intratimpanik OK-432 (1 KE 0,1 ml) enjeksiyonu, iki gruba bir enjeksiyon diğer iki gruba ise üç enjeksiyon şeklinde yapılmıştır. Bir ve üç kez enjeksiyon yapılan çalışma gruplarından biri bir hafta sonra, diğeri ise bir ay sonra kurban edildi. Kontrol gruplarına da çalışma gruplarıyla aynı miktar, süre ve sıklıkta serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. OK-432'nin etkileri elektrofizyolojik testler ve histopatolojik bulgular ile değerlendirilmiştir. Çalışma grupları, kontrol grupları ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda OK-432'nin intratimpanik kullanımı ile kısa dönemde orta kulakta önemli bir değişiklik görülmezken koklea üzerinde mikroskopik düzeyde dejenerasyon saptandı. Elektrofizyolojik testler ile de işitme kaybının erken bulguları görülmüş olup ototoksik etkileri görüldü.

Çalışmamız, çeşitli endikasyonlar için lokal olarak kullanımı da mevcut olan OK-432'nin bazı orta kulak ve iç kulak hastalıklarında intratimpanik tedavi ajanı olarak kullanımı ile ilgili çalışmalara öncülük edebilir.

Anahtar Kelimeler: Picibanil, ototoksisite, intratimpanik enjeksiyon

ABSTRACT

THE EFFECT OF PICIBANIL (OK-432) ON MIDDLE EAR AND COCHLEA

Interest in intratympanic treatment of inner ear diseases has increased significantly in the last two decades. The systemic side effects of the drugs will be avoided with intratympanic treatments, but should be careful of ototoxicity which can be seen with local administration of these drugs.

Picibanil (OK-432) is used clinically in malign diseases systemically or locally as an adjuvant treatment agent and for sclerosing effect in lymphatic malformations and cystic lesions. Although there have been many studies on the use of OK-432 in literature, there has been no study in the English literature about the effects on the middle ear and cochlea. In this study, histopathological effects and ototoxicity of OK-432 with local use on the ear were investigated.

In the study, 40 guinea pigs were randomly selected and divided into eight groups of five. There are four study and four control groups. In the study groups, the subjects were performed intratympanic OK-432 (1 KE 0,1 ml) injections at two groups of one injection and other two groups of three injections. One and three injections groups were sacrificed one week later and the other one month later. The control groups were performed of saline injection with the same doses, duration and frequency, similarly to the study groups. The effects of OK-432 were evaluated by electrophysiological tests and histopathological findings. The study groups were compared with the control groups and themselves.

In our study, intratympanic use of OK-432 did not show any significant change in the middle ear in the short term, but microscopic degeneration was detected on the cochlea. Electrophysiological tests showed early signs of hearing loss and ototoxic effects.

Our study can guide studies on the use of OK-432, which is also available locally, as an intratympanic treatment agent in some middle ear and inner ear diseases for a variety of indications.

Key Words: Picibanil, ototoxicity, intratympanic injection

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	2
1.1.1 Orta Kulak ve İç Kulak Embriyolojisi	2
1.1.1.1 Orta Kulak Embriyolojisi	2
1.1.1.2 İç kulak Embriyolojisi	3
1.1.2 Orta Kulak ve İç Kulak Anatomisi	4
1.1.2.1 Orta Kulak Anatomisi	4
1.1.2.2 İç Kulak Anatomisi	6
1.1.3 Orta Kulak ve İç Kulak Histolojisi	9
1.1.3.1 Orta Kulak Histolojisi	9
1.1.3.2 İç Kulak Histolojisi	9
1.1.4 İşitme Fizyolojisi	13
1.1.5 Ototoksisitenin Odyolojik Monitörizasyonu	17
1.1.5.1 Otoakustik Emisyonlar	17
1.1.5.2 İşitsel Beyin Sapı Yanıtları	23

1.1.5.3 Akustik Empedans Ölçümleri	26
1.1.6 Guinea Pig Temporal Kemik Anatomisi	27
1.1.7 Picibanil	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1 Denekler	31
2.2 İşlem	32
2.3 Elektrofizyolojik İncelemeler	33
2.4 Diseksiyon	36
2.5 Histopatolojik Değerlendirme	38
2.6 Ultrastrüktürel Değerlendirme	39
2.7 İstatistiksel İnceleme	39
3. BULGULAR	40
4.TARTIŞMA	78
5. KAYNAKLAR	84
6. ÖZGEÇMİŞ	89

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Çalışma ve kontrol gruplarının işlem öncesi ve sonrası DPOAE ve ABR bulguları	49
Tablo 2.	Çalışma gurupları orta kulak ışık mikroskopik histolojik bulgu skorları.	60
Tablo 3.	Çalışma grupları iç kulak elektron mikroskopik histolojik bulgu skorları.	75

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Koklea kesiti	8
Şekil 2. Korti organı	10
Şekil 3. Semisirküler kanal ampullasından geçen kesit	12
Şekil 4. Makulanın kesitsel görünümü	13
Şekil 5. Üç farklı işitme düzeyli bireyden kaydedilen odyogramlar ve TEOAE'ler	20
Şekil 6. Farklı işitme düzeyine sahip iki bireyin DPOAE ve odyometrik eşikleri arasındaki ilişki gösterilmiştir.	22
Şekil 7. ABR testinde çeşitli işitsel patolojileri gösteren dalga latans ve morfolojileri	25
Şekil 8. OK-432 (Picibanil 1 KE)	33
Şekil 9. Bir deneğe ait DPOAE ölçümü görüntüsü	34
Şekil 10. Bir deneğe ait ABR kayıt görüntüsü	35
Şekil 11. Bir deneğe ait makroskopik diseksiyon görüntüsü	36
Şekil 12. Mikroskop altında diseksiyon	37
Şekil 13. Bir deneğe ait temporal kemiğin iki yarıma ayrılmış ışık mikroskopik görüntüsü	38
Şekil 14. İntratimpanik Picibanil tek enjeksiyonu öncesi ve bir hafta sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları	41
Şekil 15. İntratimpanik Picibanil tek enjeksiyonu öncesi ve bir ay sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.	43
Şekil 16. İntratimpanik Picibanil 3 kez enjeksiyonu öncesi ve bir hafta sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.	45
Şekil 17. İntratimpanik Picibanil 3 kez enjeksiyonu öncesi ve bir ay sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.	47
Şekil 18. Kontrol grubuna ait bir kobaya ait timpan zarının ışık mikroskopik görünümü	50

Şekil 19. Grup 1A'ya ait bir örnekte ışık mikroskopik kulak kesiti	51
Şekil 20. Grup 1A'ya ait örnekte timpan zarı ışık mikroskopik görüntüsü	52
Şekil 21. Grup 1A'ya ait bir örneğin ışık mikroskopunda belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu	52
Şekil 22. Grup 2A'ya ait bir örneğin ışık mikroskopunda hücre infiltrasyonu	53
Şekil 23. Grup 2A'ya ait bir örneğin ışık mikroskopunda timpan zarı	54
Şekil 24. Grup 3A'ya ait bir örneğin ışık mikroskopunda kulak görüntüsü	55
Şekil 25. Grup 3A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda orta kulak boşluğuna bakan temporal kemik periostu üzerinde hücre infiltrasyonu	55
Şekil 26. Grup 3A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda hücre infiltrasyonu	56
Şekil 27. Grup 3A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda timpan membran altında belirgin hücre infiltrasyonu	56
Şekil 28. Grup 3A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda orta kulak kesiti	57
Şekil 29. Grup 3A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda orta kulak boşluğunda iri makrofajlar	57
Şekil 30. Grup 3A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda östaki borusu kesiti	58
Şekil 31. Grup 4A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda dış kulak yolu ve timpan membranı	59
Şekil 32. Grup 4A'ya ait örneğin ışık mikroskopunda timpan membranın her iki tarafında da hücre infiltrasyonu ve fibrozise bağlı kalınlaşma	59
Şekil 33. Kontrol grubunda bir örnekte dış tüy hücresinin elektron mikroskopisi	62
Şekil 34. Kontrol grubunda bir örnekte stria vaskülarisin elektron mikroskopisi	63
Şekil 35. Kontrol grubunda bir örnekte stria vaskülarisin elektron mikroskopisi	63
Şekil 36. Kontrol grubunda bir örnekte marjinal hücrelerin elektron mikroskopisi	64
Şekil 37. Grup 1A'da bir örnekte elektron mikroskopik dış tüy hücreleri	65

Şekil 38. Grup 1A bir örnekte elektron mikroskopik stria vaskülaris görüntüsü	65
Şekil 39. Grup 1A'ya ait örnekte elektron mikroskopik görüntü	66
Şekil 40. Grup 2A'ya ait örnekte elektron mikroskopik dış tüy hücreleri	67
Şekil 41. Grup 2A'ya ait bir örnekte elektron mikroskopik stria vaskülaris	67
Şekil 42. Grup 2A'ya ait örnekte elektron mikroskopik stria vaskülaris	68
Şekil 43. Grup 3A'ya ait örnekte elektron mikroskopik korti organı	69
Şekil 44. Grup 3A'ya ait bir örnekte elektron mikroskopik görüntü	69
Şekil 45. Grup 3A'ya ait bir örnekte elektron mikroskopik dış tüy hücreleri	70
Şekil 46. Grup 3A'ya ait örnekte elektron mikroskopik görüntü	70
Şekil 47. Grup 3A'ya ait bir örnekte elektron mikroskopik stria vaskülaris	71
Şekil 48. Grup 4A'ya ait bir örnekte elektron mikroskopik dış tüy hücreleri	72
Şekil 49. Grup 4A'ya ait örneğin elektron mikroskopik dış tüy hücresi	72
Şekil 50. Grup 4A'ya ait örneğin elektron mikroskopik dış tüy hücresi	73
Şekil 51. Grup 4A'ya ait başka bir örnekte dış tüy hücrelerinin elektron mikroskopik görüntüsü	73
Şekil 52. Grup 4A'ya ait bir örneğinin büyük büyütmesinde dış tüy hücreleri	74
Şekil 53. Grup 4A'ya ait bir örneğin elektron mikroskopisinde belirgin stria vaskülaris hasarı	74

KISALTMALAR LİSTESİ

ABR	: İşitsel beyin sapı yanıtı
daPa	: Decapascal
dB	: Desibell
DPOAE	: Distortion product otoakustik emisyon
F	: Frekans
H.E	: Hemotoksilen eosin
HL	: Hearing level
Hz	: Hertz
İ.Ö	: İşlem öncesi
İ.S	: İşlem sonrası
KE	: Klinische Einheit
ml	: Mililitre
ms	: Milisaniye
mV	: Milivolt
OAE	: Otoakustik emisyon
SNR	: Sinyal gürültü oranı
SPL	: Sound pressure level
SSK	: Semisirküler kanal
TEOAE	: Transient uyarılmış otoakustik emisyon

1. GİRİŞ

Bazı ilaçlar veya kimyasal maddelerin alımı sonrası iç kulak yapılarında meydana gelen hasar ototoksisite olarak adlandırılır. İç kulak yapılarında meydana gelen toksisite koklea, vestibül veya her iki yapıyı da ilgilendirebilir (1).

İç kulağın çeşitli kimyasal maddelere karşı duyarlılığı yüzyıllardır bilinmektedir. Ototoksisite, işitme kaybı ve denge bozukluğuna sebep olan önemli bir nedendir. Ototoksisite semptomları yeni tedavi ajanlarının kullanımları sonrasında ortaya çıkabilmektedir. Bu ajanların ototoksik etkilerinin olabileceği göz önünde bulundurularak bu konuyla ilgili her bilgiye ulaşılmaya çalışılmalıdır (2-4). Günümüzde ototoksisiteye sebep olduğu bilinen tedavi ajanları ana başlıklar halinde antibiyotikler, antienflamatuarlar, diüretikler, antineoplastik ajanlar, şelat yapıcı ilaçlar, antimalaryal ajanlar, ototropik ilaçlar ve diğerleri şeklinde söylenebilir. Ototoksik ajanlara bağlı olarak gelişen başlıca yakınmalar kulak çınlaması, işitme kaybı ve baş dönmesidir (5, 6).

Picibanil (OK-432) insan kaynaklı *Streptococcus pyogenes*'in grup A tip 3 suşunun ısı ve benzil penisilin ile işlem görmüş halinin jenerik ismidir ve liyofilize toz halinde flakonlarda muhafaza edilmektedir (7, 8). İlk olarak Okamoto tarafından 1966 yılında bulunduğu bildirilmiştir (9). OK-432 malign hastalıkların tedavisinde immün tedavi ajanı olarak kullanılmış olup intraperitoneal ve intratorasik kullanımıyla dahi toksisite görülmemiştir (10). Sklerozan etkisinden dolayı diğer bir kullanım alanı da lenfanjiomların tedavisi olmuştur (11, 12). OK-432'nin farklı bir kullanım alanı Matsushita ve arkadaşları (13) tarafından bildirilen rekürren temporomandibular eklem dislokasyonları olmuştur. Yine Şengül ve arkadaşlarının (14) yaptığı bir hayvan çalışmasında, konka hipertrofisinde konkalara enjekte edilip fibrozis oluşturduğu gözlenmiştir.

Çalışmamız planlanırken, OK-432 ile ilgili literatürde bir çok çalışma olduğu görülmeye rağmen İngilizce literatürde orta kulak ve koklea üzerindeki etkileri hakkında yapılmış bir çalışmaya rastlanılmadı.

Çalışmamızın amacı guinea piglerde tedavi ajanı olarak OK-432'nin intratimpanik enjeksiyonuyla orta kulak ve koklea üzerine etkilerini histopatolojik ve elektrofizyolojik yöntemlerle araştırmaktır.

1.1 GENEL BİLGİLER

1.1.1 Orta kulak ve İç Kulak Embriyolojisi

1.1.1.1 Orta Kulak Embriyolojisi

Orta kulak boşluğu, mukozası ve östaki tüpü ikinci farengeal keseden de küçük bir katkı alarak birinci farengeal kesenin genişleyen ucundan gelişir. Gebeliğin dördüncü haftasında brankial yarığın karşısında tubotimpanik reses olarak olarak belirginleşir. Beşinci ve altıncı haftalarda brankiyal yarık ve iç kulak arasındaki mezenşim kemikçikleri oluşturmaya başlar. Genel olarak malleus başı, inkus gövdesi ve inkusun kısa kolu Meckel kıkırdağından (birinci brankiyal ark) şekillenir. Malleusun manubriumu, inkusun uzun kolu, stapes suprastrüktürü ve stapes tabanının timpanik yüzeyi Reichert kıkırdağından (ikinci brankiyal ark) gelişir. Stapes tabanının vestibüler yüzeyi ve anüler ligaman da otik kapsülün mezoderminden gelişir (15).

Malleus ve inkus ilk olarak gebeliğin altıncı haftasında kıkırdak modeller şeklinde belirirler. Onaltıncı haftada kemikleşmeye başlarlar ve kemikleşme otuzuncu haftada nerdeyse tamamlanmış olur. Stapes başlangıçta halka şeklinde olup onuncu haftada bilinen üzengi şeklini nerdeyse almıştır. On altıncı haftada kemikleşmenin başlamasıyla oluşan şekli gelecekteki stapesin bir rol modeli şeklindedir. Fötal hayat boyunca gelişimi devam edip hacimce küçülme gösterir (15).

Mastoid havalı hücre sisteminin şekillenmesi fötal hayatın geç dönemlerinde başlar. Doğumda antrum mevcuttur ve çocukluk hayatı boyunca da gelişmeye devam eder (15).

Timpanik membran ise üç yapraktan köken alır. Bunlar; lateralde birinci brankiyal yarık tabanından ektoderm orjinli gelişen epidermal yaprak, medialde birinci farengeal kese endoderminden gelişen mukozal yaprak ve ortada sefalik mezodermden nöral krista mezenşiminden gelişen fibröz yapraktır. Başlangıçta nerdeyse yatay şekilli olan kulak zarı yaklaşık üç yaş civarında yetişkin pozisyonunu alır (15).

1.1.1.2 İç Kulak Embriyolojisi

İç kulak, kulağın bölümlerinden ilk gelişen bölümdür. Gestasyonun üçüncü haftasının sonunda otik plak embriyonun sefalik ucunun lateralinde, kapanan nöral tüpün arka beyin bölümüyle temasta olan ektodermin kalınlaşması olarak farklılaşmaya başlar. Otik plak membranöz labirentin öncüsü, otik vezikülü oluşturacak şekilde kapalı bir kese haline invajine olur. Otokist büyüyüp şekil değiştirerek onuncu haftaya kadar erişkin şeklini alır. Yirminci haftaya kadar da erişkin boyutlarına ulaşmış olur (15).

Otokist uzayıp, kraniyal bölümü endolenfatik duktus olarak kaudal bölümü ise koklear duktus olarak gelişmeye başlar. Ara bölüm olan utrikülosakküler alan ise vestibüler sisteme öncüdür. Vestibüler kesenin utriküler bölümünden santral epitelin füzyonu ile semisirküler kanallara dönüşecek üç cep belirir. Altıncı haftada ilk olarak superior kanal oluşmaya başlar, son olarak ta lateral kanal gelişir. Utrikül ve sakkül altıncı haftada gelişmeye başlar ve sonrasında utrikülosakküler duktusu meydana getirirler. Koklear duktus altıncı haftada sakkülden gelişmeye başlar. Koklear duktus onuncu haftada 2,5 kıvrım olmuş şekilde hızla büyür (15).

Endolenfatik duktus ve kese iç kulağın üçüncü trimesterde gelişmeye devam eden yegane bölümleridir. Tam boyutlarına erişmesi yetişkin yaşları bulur (15).

1.1.2 Orta Kulak ve İç Kulak Anatomisi

1.1.2.1 Orta Kulak Anatomisi

Orta kulak kemik labirent ve kulak zarı arasında bulunan, östaki tüpü aracılığı ile dış ortamla ve aditus et antrum yolu ile de mastoidin havalı boşlukları ile bağlantıda olan mukoz membranla döşeli bir alandır. Ortalama hacmi 0,5 cm³ kadardır. Orta kulağın altı duvarı mevcuttur (16).

Orta kulağın lateral duvarının büyük kısmını timpanik membran oluşturur. Lateral duvarın superior kısmında skutum adı verilen epitimpaniumu dış kulak yolundan ayıran kama şekilli bir kemik yapı mevcuttur. Kulak zarı oval şekilli olup dış kulak yolu tabanı ile yaklaşık 55° açı yapar. Çevresinin büyük kısmını oluşturan fibrokartilajinöz yapıdaki timpanik anulus, timpanik kemikte timpanik sulkus içerisine yerleşir. Sulkus kanalın üst kısmında bulunan rivinus çentiğine uzanmaz. Sulkusun superior sınırında anulus, malleusun lateral proçesine bağlanan anterior ve posterior malleolar ligamanlar olarak fibröz bir bat halinde uzanır. Timpanik zarın Rivinus çentiğinde malleolar ligamanlar arasında kalan üçgen şeklindeki küçük parçası, pars flaksida olarak adlandırılır. Timpanik zarın dış kulak kanalına doğru konkav şekilli geri kalan kısmı ise pars tensa olarak adlandırılır (17).

Orta kulak inferiorda juguler bulbustan, kompakt veya hava dolu kemik bir parça ile ayrılır. Juguler bulbusun yüksekliğine göre bu kemiğin kalınlığı değişebilir. Hatta bazen bu kemik yapı tamamen defektif olup orta kulak ve juguler bulbus, birbirinden sadece fibröz doku ve mukoza ile ayrılabilir (17).

Superior duvarı, orta kulak boşluğunu orta kranial fossadan ayıran tegmen timpani yapar. Tegmen timpaniyi temporal kemiğin petröz ve skuamöz parçası oluşturur. Petröskuamöz sütür hattı erişkin yaşa kadar kapanmadığı için bu sütür hattı enfeksiyonların orta kranial fossaya giriş yolu olabilir (17).

Anterior duvarın superiorunda hava hücreleri ve epitimpanik sinüs bulunur. Inferiorunda kemik duvar karotis arter ile orta kulağı birbirinden ayırır. Anterior duvarın orta kısmı ise östaki tüpü ile devam edip nazofarenkse bağlanır (17).

Medial duvarı iç kulağı orta kulak boşluğundan ayırır. Medial duvarın ortasında büyük bir kısmını kaplayan, en göze çarpan yapı kokleanın bazal kıvrımının orta kulağa izdüşümü olan promontoriumdur. Promontorium posteriorunda iç kulağın vestibülüne açılan böbrek şekilli oval pencere bulunur. Medial duvarda oval pencere nişi denen bir çıkıntı içinde yerleşmiştir. Yuvarlak pencere oval pencerenin biraz posteroinferiorunda yer alır. Aralarında promontoriumun uzantısı olan subiculum bulunur. Promontoriumun hemen üzerinde anteriordan posteriora doğru bir seyir gösteren, fasyal kanal bulunur. Fasyal kanal superior kısmında epitimpanumun mediyal duvarı başlar. Epitimpanum posteriorunda lateral semisirküler kanalın yaptığı çıkıntı gözlenir (18).

Posterior duvar üst kısmında mastoid antrumuna açılan aditus ad antrum adı verilen düzensiz bir açıklık bulunur. Aditus altında inkusun oturduğu fossa inkudis adı verilen bir boşluk bulunur. Fossa inkudisin hemen altında ise stapes kasının içinde bulunduğu kemik yapı yer alır. Yine posterior duvarda medialinde fasyal sinir ve piramidal eminens, lateralinde ise timpanik anulusun bulunduğu fasyal reses olarak adlandırılan bir boşluk bulunur. Posterior duvarda bulunan orta kulakta cerrahi olarak ulaşılabilecek en zor alanlardan biri olan sinüs timpani medialinde oval ve yuvarlak pencerenin yer aldığı orta kulak medial duvarı ile, lateralinde ise fasyal sinir ile sınırlandırılmıştır (18).

Orta kulak boşluğu epitimpanik, mesotimpanik ve hipotimpanik bölgelere ayrılır. Hipotimpanik parçası östaki tüpü açıklığı ile yuvarlak pencere nişinin inferioruna kadar uzanan bölümüdür. Orta kulağın mesotimpanik kısmı inferiorunda yuvarlak pencere nişi, superiorunda fasyal kanal horizontal parçası ile sınırlanmıştır. Bu bölge oval ve yuvarlak pencere, stapes, musculus stapedius ve tensor timpani kasının kanalını içerir. Epitimpanum orta kulağın üst kısmı olup superiorunda tegmen timpani olarak adlandırılan orta kulak kemik çatısı tarafından sınırlandırılır. Epitimpanum medial duvarında lateral ve superior semisirküler kanal ampullaları ve fasyal kanalın epitimpanik parçasının yapmış olduğu kemik çıkıntılar bulunur. Yine epitimpanik alanın çoğunu malleusun baş ve boynu, inkusun kısa ve uzun parçası işgal eder. Epitimpanik boşluk posteriorunda aditus et antrum adı verilen bir açıklık ile mastoid kavite ile bağlantı kurar (19).

Orta kulaktaki en önemli yapılardan biri şüphesiz fasyal sinirdir. İnternal akustik kanal ile temporal kemiğe girer. Genikulat gangliona kadar olan kısmı labirentin parçasıdır. Genikulat ganglionda keskin bir dönüş yaparak horizontal olarak posteriora doğru ilerler, bu segment timpanik segmenti oluşturur. Oval pencere yakınında ikinci dönüşünü yaparak mastoid kemik içinde vertikal olarak laterale doğru devam eden kısmı da mastoid segmenti oluşturur. Stilomastoid forameninden temporal kemiği terk eder. Temporal kemik içinde 3 dal verir, bunlar; genikulat gangliyon seviyesinde n.petrosus majör, stapes kasına giden n.stapedius ve son olarak ta mastoid segmentte verdiği zarın altından ilerleyip malleus ve inkus arasından geçerek petrotimpanik fissürden orta kulağı terk eden korda timpani dalıdır (18).

1.1.2.2 İç Kulak Anatomisi

Temporal kemiğin petröz parçası işitme ve denge fonksiyonlarından sorumlu duyu yapılarını barındıran labirenti taşır (19). İç kulak kemik labirent ve membranöz labirentten oluşur (20). Kemik labirent endolenf içeren epitel bir astar ile kaplı birbiri ile bağlantılı tüp ve boşluklardan oluşan membranöz labirenti içerir (19).

Kemik labirent

Kemik labirentin, orta kulağın medial duvarı ile internal akustik kanalın arasına yerleşen orta kulağa komşu kısmı vestibülü oluşturur. Vestibülün medial duvarın posteriorundaki delik vestibüler akuaduktusun başlangıcıdır. Vestibüler akuaduktus petröz kemiğin posterior yüzüne doğru seyrederek dura altında sonlanan endolenfatik keseyi oluşturur. Vestibül lateral duvarında ise oval pencere ile orta kulakla bağlantılıdır (20).

Kemik kanal içerisinde üç tane semisirküler kanal (SSK) mevcuttur. Bu kanallar petröz kemiğin uzun aksına transverse olarak bulunan anterior SSK, petröz kemiğin posterior yüzüne paralel yerleşen posterior SSK ve bu iki kanal arasında horizontal yerleşim gösteren lateral SSK'dır (20).

SSK'ın şişkin olan uçlarına ampulla ossea, düz olan uçlarına ise krus simpleks denir. Anterior ve posterior SSK'lar birbirine dik olarak yerleşmiş olup kanalların ortak bacağı ortak krus adını alır (20).

Kemik koklea, vestibülün anteriorunda yerleşim gösterir. Koklea erişkin bir insanda modiolus denilen spongiöz kemikten yapılmış bir eksen etrafında 2,5 dönüşlük bir sarmal yapar. Kemik labirent içinde perilenf denilen bir sıvı vardır, membranöz labirentte bu sıvı içine yerleşmiştir (20).

Membranöz labirent

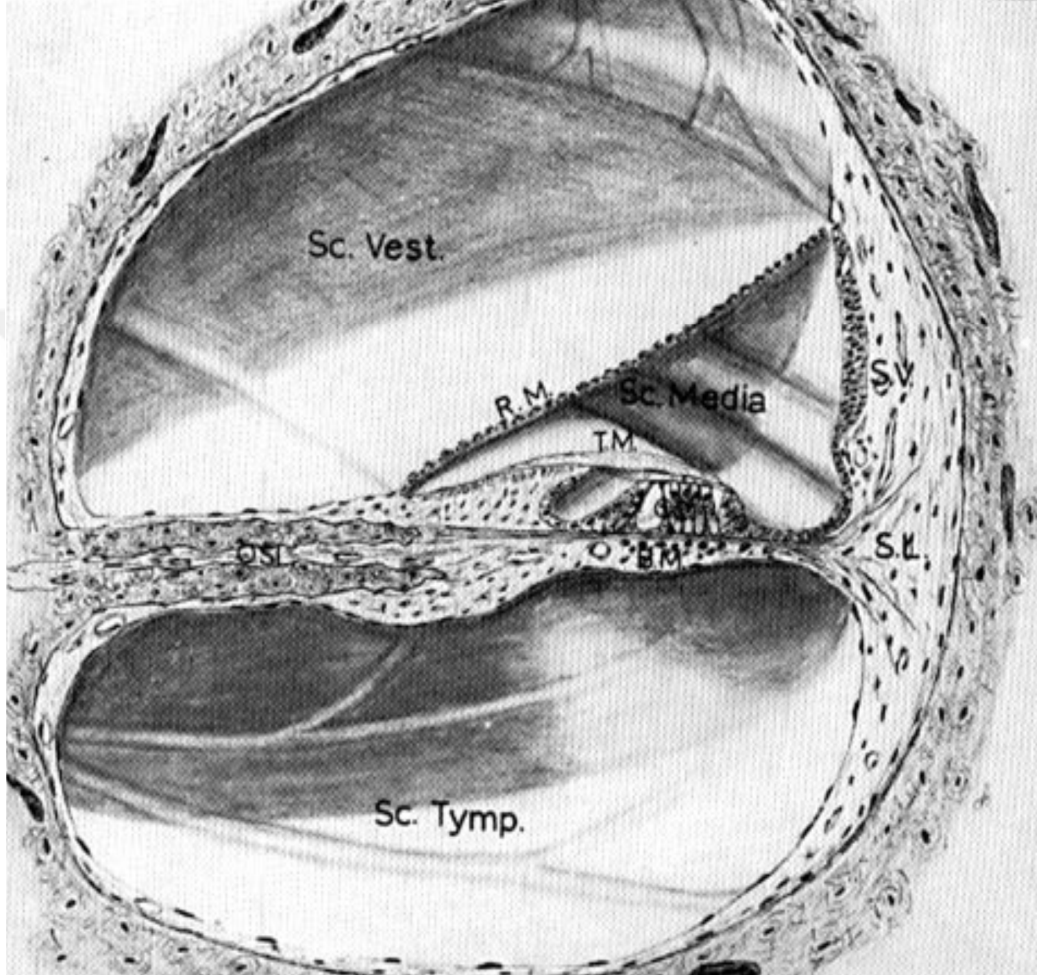
Membranöz labirent birbiri ile bağlantılı üç bölgeye ayrılır: Vestibüler labirent veya pars superior, koklea ve sakkül veya pars inferior, endolenfatik duktus ve kesedir (19).

Vestibül iç duvarında önde sakkulus, üst kısımda ise de utrikulus yerleşmiştir. Utrikulus üzerinde semisirküler kanallar ve utrikulusu sakkulusa bağlayan duktus utrikulosakkularis bulunur. Sakkulus üzerinde ise utrikulusa bağlayan duktus utrikulosakkularis ile duktus koklearise bağlayan duktus reuniense bulunur. Utrikulus ve sakkulusda, makula utrikuli ve makula sakküli adı verilen denge duyusu ile ilgili duysal ve destek hücrelerini içeren yapılar mevcuttur (20).

Kemik semisirküler kanalların içinde aynı isimli membranöz semisirküler duktuslar bulunur. Şişkin olan kısımları ampulla ismini alır. Ampullada krista ampullaris adı verilen kısımda denge duyusunu algılayacak özel hücreler ve destek hücreleri mevcuttur. Membranöz semisirküler duktuslar utrikulusun posterioruna açılırlar. Endolenfatik duktus vestibüler akuaduktusun içinde bulunur ve utrikulus ve sakkulusa açılan iki kanala ayrılır (20).

Labirentin işitme işitme ile ilgili kısmı olan koklear kanal yaklaşık 35 mm uzunluğundadır. Bir koklea kesitinde üç kompartman görülür (Şekil 1). Bu kompartmanlardan biri olan skala media veya koklear duktus üçgen şeklinde görülür. Bu üçgenin horizontal kenarını baziller membran, süperior kenarını Reissner membranı, vertikal kenarını ise spiral ligaman ve stria vaskülaris oluşturur. Koklear kanal endolenf ile dolu iken diğer iki duktus, skala vestibülü ve skala timpani, perilenf ile doludur. Bu iki skaladaki perilenf koklea apeksinde helikotrema da karışır. Koklear kanal yuvarlak pencere membranı yanında kör bir poş olarak biter. Skala vestibüldeki perilenf ise stapes tabanı altında vestibülü doldurur (19).

Perilenf spiral ligamandaki vasküler ağdan primer olarak üretilir. Koklear akuaduktus aracılığıyla perilenf aynı zamanda subaraknoid boşluk ile bağlantı kurup serebrospinal sıvı ve perilenf arasında sıvı değişimine izin verir (19).



Şekil 1. Koklea kesiti (19)

Sc.Vest.= Scala vestibuli; R.M.= Reissner's membrane; Sc. Media = Scala media; T.M.= Tectorial membrane; O.C.= Organ of Corti; B.M.= Basilar membrane; S.V.= Stria vascularis; S.L.= Spiral ligament; O.S.L.= Osseous spiral lamina; Sc. Tymp.= Scala tympani.

1.1.3 Orta Kulak ve İç Kulak Histolojisi

1.1.3.1 Orta Kulak Histolojisi

Orta kulak ve mastoid hava hücrelerinin mukoza epiteli silyalı tek katlı küboidal epiteldir. Epitel içinde goblet hücreleri bulunur. Epitel östaki tüpüne doğru yalancı çok katlı kolumnar epitele doğru değişmeye başlar. Mastoid bölge epitelinde silya sayısı azalır ve mukoza küboidal epitele dönüşür. Normal orta kulak mukozasında immün hücre ve gland yapıları bulunmaz. Orta kulak mukozası ile temporal kemik arasında gevşek bağ dokusu mevcuttur (21).

Orta kulak mukozası yuvarlak pencere membranına geldiğinde değişir. Yuvarlak pencere dış tarafında solunum epiteli bulunur, bunun altındaki bağ dokusu altında da skala timpaniye komşu bir epitel dokusu daha bulunur. Bu yapı enflamatuvar değişikliklere çok açıktır (21).

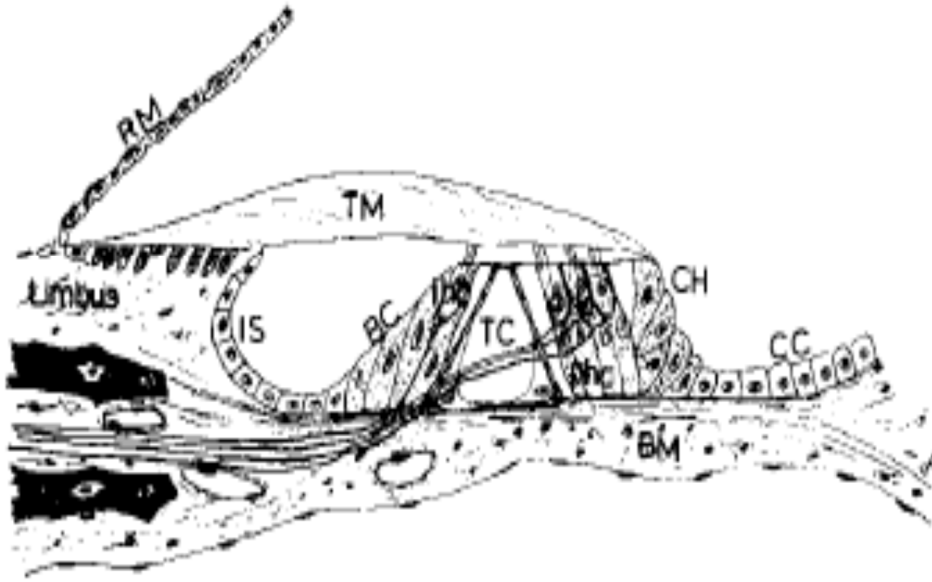
Kulak zarının lateralinde dış kulak yolu epitelinin devamı olan çok katlı yassı epitel, medialinde orta kulak mukozasının devamı olan solunum epiteli, iki katman arasında da bağ dokusu bulunur (21).

1.1.3.2 İç Kulak Histolojisi

Korti organı (Şekil 2) üzerinde iç saçlı hücreleri, dış saçlı hücreleri ve destek hücrelerini içeren baziller membran ile saçlı hücrelerin silyalarının içine protrüde olduğu tektorial membrandan oluşan kompleks bir duyu organıdır. Saçlı hücrelerin apikal kısımları sterosilyalar ile kutikular plate protrüde olup sabitlenir (19).

İç saçlı hücrelerinin sterosilyaları tektorial membran inferiorunda endolenfatik boşlukta serbest bulunurken dış saçlı hücrelerin sterosilyaları tektorial membran ile bağlantı yapar. Bu hücreler farklı morfolojilere sahiptirler. İç saçlı hücreler daha gevşek şekilli, destek hücreleri tarafından sıkıca çevrili ve doğrusal bir biçimde sıralanmış sterosilyaları olan hücrelerken dış saçlı hücreleri sütun şeklinde, korti organının perilenfi içine serbestçe uzanan, destek hücreleri ile tamamen çevrili olmayan hücrelerdir. İç saçlı hücreleri interfalangial hücreler ile desteklenirken dış saçlı hücreler Deiters ve Hensen hücreleri ile desteklenir (19).

Tektorial membran medialde limbusta sabitlenir, lateralde Hensen hücrelerine bitişik durur. Basiller ve tektorial membran oval pencereden iletilen ses enerjisi ile oluşan dalga ile vertikal olarak yer değiştirirler. Bu iki yapının dayanak noktaları ayrı olduğu için onlar uyarıldıklarında horizontal olarak kayıp tektorial membran ile kutikular plate arasında bir kesme-makaslama hareketi olur. Sonuç olarak stereosilyaların hareketi, saçlı hücrelerde elektriksel bir olay başlatır (19).



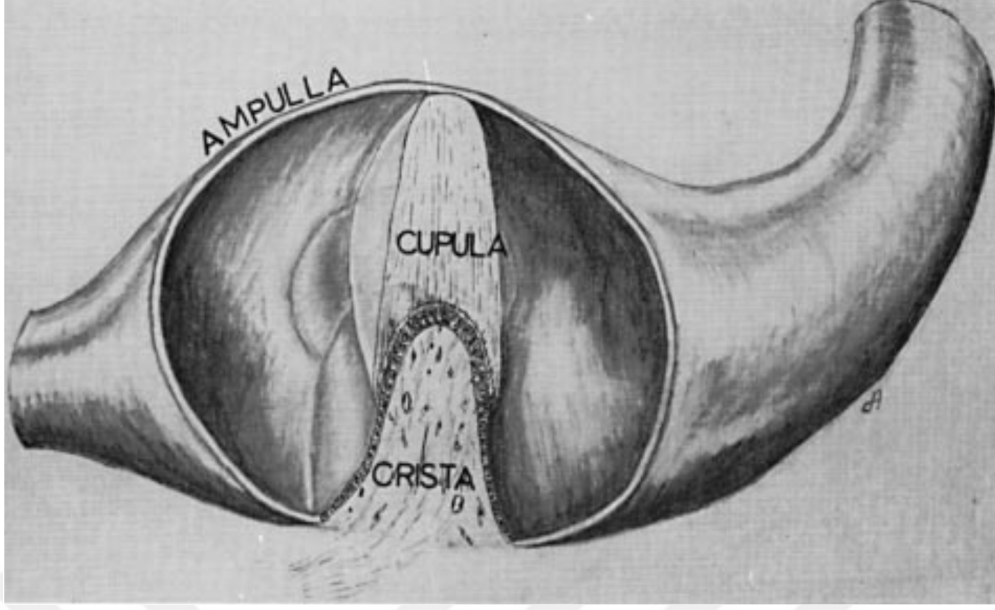
Şekil 2. Korti organı (19)

RM = Reissner's membrane; TM = Tectorial membrane; IS = Inner sulcus; BC = Border cells; ihc = Inner hair cells; TC = Tunnel of Corti; ohc = Outer hair cells; phc = Phalangeal cells; CH = Cells of Hensen; CC = Cells of Claudius; BM = Basilar membrane.

Korti organı 12.000'i dış saçlı hücre, 3.500 kadarı da iç saçlı hücre olan yaklaşık 15.500 saçlı hücre içerir. Saçlı hücreler afferent ve efferent sinirler ile kompleks fakat düzenli olarak innerve olurlar. İşitsel duyu organında afferent nöronlar, kemik modiulusun Rosenthal kanalında lokalize olan spiral ganglion hücreleri olarak bilinen bipolar nöronlardır. Yaklaşık 30.000 spiral ganglion hücresi insan korti organını innerve eder. Spiral ganglion hücrelerinin %95'i tip I nöron olup bunlar geniş, miyelinli ve bir iç saçlı hücrede direkt olarak ayrı bir dentrit oluşturur. Yaklaşık olarak 10 ila 20 kadar tip I spiral ganglion hücresi bir iç saçlı hücreyi innerve eder. Bunlar korti organının uyarılmasında majör afferent girdileri oluşturur. Spiral gangliondaki geri kalan %5 afferent nöronlar daha küçük, miyelinize olmayan, tip II ganglion hücreleridir (19).

Vestibüler sistemin duyu organları krista ve maküla olmak üzere iki tipdir. Bu duyu organları nöral epitelde destek hücreleri ile desteklenen tip I ve tip II saçlı hücreleri içerir. Tip I saçlı hücreleri bir veya iki geniş çaplı afferent nöronun sonlandığı şişe görünümlü hücrelerdir. Tip II saçlı hücreler afferent ve efferent sistemin her ikisinden de sonlanmalar alan, silindirik şekilli hücrelerdir. Afferent nöronlar miyelinlidir fakat tip I saçlı hücreleri innerve edenler ile kıyaslandığında küçüktürler (19).

Krista her bir membranöz kanalın ampuller ucunu çaprazlayan nöroepitelyal hücrelerin tepe kısmıdır (Şekil 3). Ampulla açısal hızlanma ve yavaşlamayı algılayan duyu organını içerir. Krista ampullarisde tip I saçlı hücreler kristanın tepesine yakın, tip II saçlı hücreler ise kristanın eğimli kısımları yakınında yerleşmişlerdir (19).

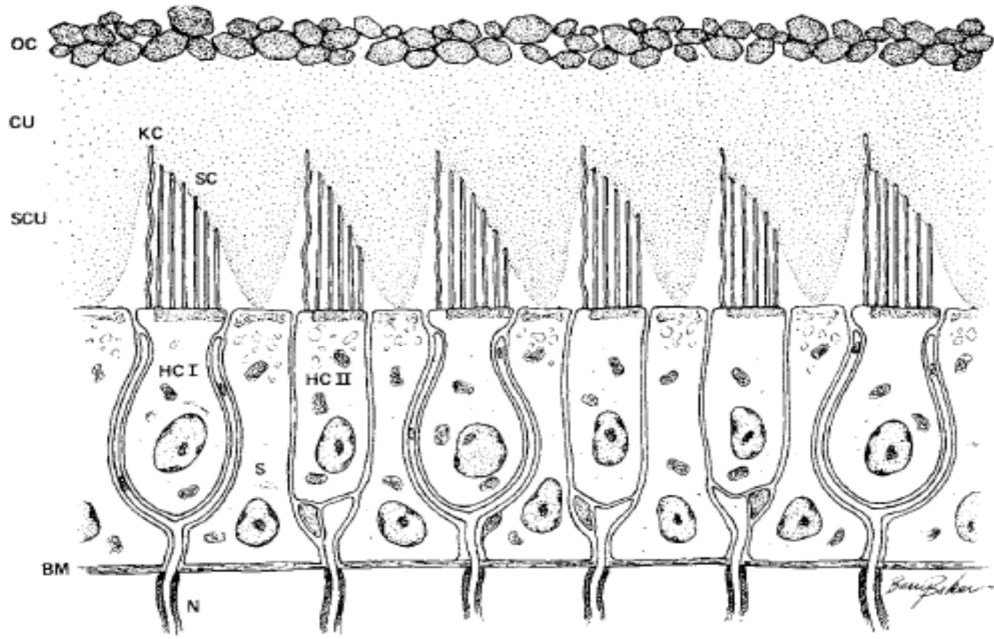


Şekil 3. Semisirküler kanal ampullasından geçen kesit (19)

Semisirküler kanal kristalarındaki saçlı hücrelerin silyalarının katkısıyla tek bir yöne yönelmiş olması dikkat çekicidir. Vestibüler saçlı hücrelerin her birinin silya demetleri 100-150 sterosilya ve sterosilyaların bir ucunda bulunan bir kinosilyum içerir. Horizontal kanalda her saç hücresinin kinosilyumu kristanın utriküler tarafında yer alır. Vertikal kanallardaki kristada ise kinosilyum, nonampuller tarafa doğru veya utrikülden uzakta yer alır. Kristanın üst kısmında oturan ve ampuller duvarın çatısına ulaşan jelatinöz parça kupula olarak adlandırılır. Kupulanın yer değiştirmesi saçlı hücreler boyunca onlarla temas eden nöronlarda aksiyon potansiyelini başlatır. Her bir labirentteki semisirküler kanallar uzaydaki üç düzlem doğrultusunda yönelmiş olup, lateral kanal horizontal planda açısız ivmelenmeden sorumlu iken diğer iki kanalda uzaydaki her iki vertikal planda hareketten sorumludur (19).

Makula striola adı verilen bir hat ile yaklaşık ikiye ayrılan yatay şekilli duyu organıdır. Striola makulayı karşıt polarizasyonun olduğu silli saçlı hücreleri ikiye yarıya ayırır. Utrikül makulasında saçlı hücreler striolaya doğru yönelirken sakkülde saçlı hücreler strioladan karşı tarafa yönelir. Tip I hücreler striolaya daha yakın hücreler iken, tip II hücreler striolaya daha uzak yerleşimlidirler (19).

Makula duyu organındaki saçlı hücrelerin silyaları jelatinöz bir örtü içindeki kalsiyum karbonat kristallerinden oluşan otokonyaların olduğu otolitik bir membran ile örtülmüştür (Şekil 4). Yer çekimi etkisine bağlı otokonyal membranın hareketiyle saçlı hücrelerin silyaları yer değiştirir ve buna bağlı olarak afferent sinir girişlerinde aktivite meydana getirir (19).



Şekil 4. Makulanın kesitsel görünümü (19)

The gelatinous substance is divided into cupular (CU) and subcupular (SCU) layers. There are two types of hairs: kinocilia, labeled KC (one per hair cell), and stereocilia, labeled SC (many per hair cell). OC = otoconia; HC I = type I hair cell; HC II = type II hair cell; N = nerve fiber; BM = basement membrane; S = supporting cell.

1.1.4 İşitme Fizyolojisi

Aurikulanın topladığı ses enerjisinin, kulağın çeşitli bölümlerinde değişikliklere uğradıktan sonra aksiyon potansiyelleri şeklinde beyine iletilip burda ses olarak algılanması olayına işitme denir. İşitme organı fonksiyonel açıdan iletim aygıtı ve algı aygıtı olarak iki kısımda incelenir. İletim aygıtı dış kulak ve orta kulaktan oluşurken algı aygıtı ise iç kulak, işitme siniri ve santral bağlantıları ile işitme merkezinden oluşur (22).

İşitme fonksiyonu dış kulak yoluna ses dalgalarının ulaşması ile başlar. Dış kulak yolu ses dalgalarını sıkıştırır ve kulak zarına iletir. Bu sisteme hava yolu denilir. Buna karşılık titreşimler kafa kemikleri ile de iç kulağa ulaştırılabilmektedir, bu sisteme de kemik yolu denilmektedir. Normal bir kulakta hava yolu ile işitme, kemik yolu ile olandan ortalama iki kat daha fazladır (21).

İşitmenin olması için ilk olarak mekanik bir olay olan atmosferdeki ses dalgalarının Corti organına iletilmesi gerekir (iletim, kondüksiyon). İkinci olarak Corti organında biyokimyasal olaylarla ses enerjisi elektrik enerjisine dönüştürülür (dönüşüm, transdüksiyon). Üçüncü olarak iç ve dış tüylü hücrelerde oluşan elektrik akımı ilişkili oldukları nöronları uyarır. Son olarak ta işitme merkezine ulaştırılan bu sinir iletileri burda birleştirilir ve çözümlenir (23).

1.1.4.1 Dış Kulak Yolu Fizyolojisi

Huni şeklindeki kulak kepçesi ses dalgalarını toplayarak kulak zarını titreştirmek üzere dış kulak yoluna iletir. Kulak kepçesi sesin lokalizasyonunda yardımcı olur ve sesleri amplifiye eder. Dış kulak yolu sesin 2000-5500 Hz frekans aralığı için bir rezonatör gibi görev görür (24).

1.1.4.2 Orta Kulak Fizyolojisi

Kulak zarının titreşmesi ile orta kulağa iletilen ses dalgaları kemikçik zincir aracılığıyla oval pencereye iletilir. Orta kulak kendisine gelen akustik enerjiyi hava dolu bir ortamdan sıvı dolu bir ortama iletir. Bu iki ortam arasındaki fiziksel direnç-uyum sistemi şu şekilde sağlanır:

- a. Kulak zarı yüzey alanının etkisi: Erişkin bir kulak zarının etkin olarak titreşen kısmı 55 mm^2 iken stapes tabanının alanı $3,2 \text{ mm}^2$ 'dir. Bu yüzey farkına bağlı olarak ses enerjisinde kulak zarının titreşen yüzeyinin stapes tabanına oranı ölçüsünde ($55/3,3 = \text{yaklaşık } 17 \text{ kat}$) artış olacaktır .
- b. Kemikçik zincir kaldıraç etkisi: Kulak zarının titreşmesiyle malleusun anterior prosesi inkusun kısa prosesi üzerinde dikey bir eksenle rotasyon yapar.

Malleus kolunun inkusun uzun prosesinden 1,3 kat daha uzun olması nedeniyle kaldıraç görevi görüp, stapes tabanına 1,3 kat daha fazla bir güç iletilmesini sağlamaktadır. Sonuç olarak orta kulak kendisine gelen ses enerjisini, kulak zarının yüzey alanı etkisi (17) x kaldıraç etkisi (1,3) =22 kat arttırmaktadır. Bu artış gelen sesin şiddetinde yaklaşık 25 dB'lik bir kazancın oluşmasını sağlamaktadır.

- c. Dış ve orta kulağın kendi doğal rezonans frekansı (500-3000 Hz).
- d. Oval pencere-yuvarlak pencere arasındaki faz farkı: Kemikçik zincir akustik enerjiyi oval pencereye iletir. Oval pencerede oluşan titreşim, kokleadaki skala vestibüli ve skala timpanide bir dalga hareketi oluşturur ve bu yuvarlak pencereye kadar iletilir. Bu dalga hareketinin her iki pencere arasındaki faz farkı yaklaşık 4 dB'lik küçük bir kazanç sağlamaktadır (24).

1.1.4.3 İç Kulak Fizyolojisi

Mekanik hareket enerjisi halinde oval pencereye ulaşan ses dalgaları kokleada hidrolik enerjiye, sonrasında da tüy hücreleri tarafından biyoelektrik enerjiye dönüştürülür. Stapes tabanının oval pencereyi hareket ettirmesi sonucunda kokleada ilerleyen bir dalga (Bekesy'in ilerleyen dalga teorisi) oluşur. Koklea boyunca ilerleyen bu dalga basillar membran ve tektoriyal membranda hareketlenmeye yol açar. Bu iki membran arasında çapraz yönde hareket oluşup tüy hücrelerinin sterosilyaları bükülmektedir. Bu bükülme tüy hücrelerini depolarize ederek, afferent bir nöral elektrik stimulusun oluşmasını sağlamaktadır (24).

Kokleadaki mekanik hareketli dalga organizmanın frekans seçiciliğinin ve seslere duyalılığımızın temelini oluşturur. Koklear ilerleyen dalga teorisi ilk olarak Bekesy tarafından tanımlanmıştır. Bekesy yüksek frekansların koklea tabanının yakınında bir tepe dalgası üretirken buna karşılık düşük frekansların tepe noktasına kadar uzanan bir dalga ürettiğini göstermiştir (25).

Corti organının iç ve dış tüylü hücreleri mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüşümünde majör rol oynar. Tüylü hücrelerin sterosilyalarının tepesinde spesifik olmayan iyon kanalları mevcuttur. Bazı membran hareketleri ile sterosilyalar hareket eder ve iyon kanalları hareketin yönüne göre açılır veya kapanırlar (26, 27).

Endolenfde +80 mV'luk bir endolenfatik potansiyel vardır. Buna karşılık dış tüylü hücrelerin içinde -70mV, iç tüylü hücrelerin içinde ise -45mV'luk negatif elektrik yükü bulunur. Bu fark nedeni ile hücre içine K^+ iyonu akımı ortaya çıkar ve oluşan elektriksel potansiyele bağlı bir takım kimyasal transmitterler salınır. Hücreler bu nörotransmitterler aracılığıyla kendileri ile ilişkili olan afferent sinir liflerine elektriksel potansiyelleri aktarmış olur (2).

Sinir lifleri ilgili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtır. Karakteristik frekansı ve non-lineer özellikleri aynen sinir liflerinde de görülür. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur (26, 27).

Tek tek gelen sinir iletimleri, işitme merkezinde birleştirilerek çözülür ve sesin karakteri, anlamı anlaşılır hale getirilir. Spiral gangliondaki sinir hücrelerinin aksonları nervus koklearis adını alarak postaki koklear nükleuslara ulaşırlar. Koklear nükleuslar, ventral ve dorsal olmak üzere iki gruptur. Düşük frekanslı seslerle oluşan uyarı ventral nükleusta, yüksek frekanslı seslerle oluşan uyarı dorsal nükleusta sonlanır. Bu liflerin çoğu beyin sapının karşı tarafına geçerek superior olivar komplekse katılırlar. Lifler buradan lateral lemnisküs ve inferior kollikulusa giderler. Inferior kollikulustan çıkan lifler medial genikül nükleus aracılığı ile temporal loptaki Sylvian fissürüne yerleşmiş işitme merkezine gelirler (21, 28).

1.1.5 Ototoksisitenin Odyolojik Monitorizasyonu

Bazı ilaçlar veya kimyasal maddelerin alımı sonrası iç kulak yapılarında meydana gelen hasar ototoksisite olarak adlandırılır. İç kulak yapılarında meydana gelen toksisite koklea, vestibül veya her iki yapıyı da ilgilendirebilir (1).

Klinik olarak, ototoksisite için odyolojik izleme genellikle iki amaçtan biri için yapılır. En yaygın amaç konuşma frekans aralığında işitme kaybı gelişmeden, iletişim bozulmadan önce ototoksik değişiklikleri saptamaktır. İkinci amaç ise bazı kanser tedavilerinde olduğu gibi tedavi rejiminin güvenli bir şekilde değiştirilemediği durumlarda, işitme kaybı meydana gelirse bile değişiklikleri izlemektir. İzlemenin amacı işitme kaybı geliştikçe iletişimin sürdürülmesinde hasta ve aileye danışmanlık, iletişim stratejileri ve güçlendirme, yardımcı dinleme cihazları gibi konularda yardımcı olmaktır (29).

Ototoksisite için odyolojik izlem çok aktif bir araştırma alanıdır. Çeşitli klinik ve araştırma merkezleri, çeşitli hasta popülasyonları için farklı izleme ve analiz tekniklerini karşılaştırmaktadır (29).Günümüzde ototoksisitenin değerlendirilmesinde odyolojik yöntemlerin sayısı artmış olmasına rağmen bunların duyarlılık ve özgüllükleri net bir şekilde ortaya konamamıştır. Elimizde uygulayabileceğimiz standart bir prosedür yoktur. Ototoksik ilaç kullanılması durumunda ve yüksek risk grubunda olan hastaların ilaç kullanmadan önce, konvansiyonel odyometri, yüksek frekans odyometri, otoakustik emisyon, beyin sapı yanıtları (ABR) ile değerlendirilerek işitme seviyeleri tespit edilmelidir (2).

1.1.5.1 Otoakustik Emisyonlar

David Kemp 1968 yılında sağlıklı iç kulağın ürettiği, kulak zarının önüne yerleştirilen çok hassas mikrofonlar ile kaydedilebilen, çok düşük seviyeli seslerin olduğunu göstermiştir. Bu spontan seslerin aynı zamanda uyarılabildiğini de ortaya koymuştur. Kemp bu düşük seviyeli akustik sinyallerin kokleanın dış saçlı hücrelerince üretildiğini ve sağlıklı bir iç kulağın nonlineer işlemlerinin sonucu olduğunu ortaya atmıştır.

Takip eden yıllarda bu teoriyi destekleyen çalışmalar çoğalmıştır. Otoakustik emisyonlar (OAE) tipik olarak hafif dereceden daha ileri seviyede işitme kaybı olan kulaklardan elde edilemezler (30).

Otoakustik emisyon kaydı yapan bir sistemde hastayla teması sağlayan prob sistemi bulunmaktadır. Dış kulak kanalına yerleştirilen bu probun içerisinde akustik uyarıcı çıkışı veren hoparlörün dışında çok dışuk şiddetteki OAE'ları kaydedecek duyarlılıkta minyatür bir mikrofona yer alır. Sinyal jeneratörü tarafından üretilen uyarıcılar hoparlörden dış kulak kanalına iletilir. Orta kulak, kemikçikler, koklea ve sağlıklı dış tüylü hücrelere erişen uyarıcının etkisiyle dış tüylü hücrelerden açığa çıkan ses enerjisi, orta kulak ve dış kulak yoluyla gerisin geriye iletilerek dış kulak kanalındaki mikrofondan kaydedilir. Kullanılan cihaza göre değişmekle birlikte test edilen frekans bandındaki sinyal gürültü oranı 3 dB sound pressure level (SPL) üzerinde olduğunda o frekans bandında OAE yanıtı pozitif olarak kaydedilir. Bir kulakta en az üç frekans bandında pozitif yanıt durumunda OAE test sonucu pozitif olarak kabul edilir (32).

İyi bir kayıt için prob dış kulak kanalına uygun şekilde yerleştrilmelidir. Ortamdan kaynaklanan gürültü, solunum, esneme, çiğneme sesleri ile dolaşım sistemine ait sesler genellikle 500 Hz frekansın altındaki seslerdir ve dışuk frekanslardaki emisyon kayıtlarını kısmen engelleyebilir (32).

OAE'lar ortaya çıkış yollarına göre iki sınıfa ayrılırlar; birincisi akustik bir uyarıcı olmaksızın beliren spontan OAE'lar, ikincisi ise akustik bir uyarıcıyla ortaya çıkan uyarılmış OAE'lardır (32).

1.1.5.1.1 Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE)

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE) dışarıdan herhangi bir uyarı verilmeksizin dış kulak kanalından kaydedilebilen düşük seviyeli akustik sinyallerdir. Spontan otoakustik emisyonlar normal işiten kulakların ancak %50'si ile %70'inde kaydedilebilirler. Bazı olgularda amplifikasyon veya özel kayıt tekniklerine gerek kalmaksızın ölçülebilecek kadar yüksektir. Spontan otoakustik emisyonların gerek amplitüd gerekse frekans özellikleri kayıtlar arasında belirgin farklılıklar gösterir, bu nedenle de klinik kullanımları kısıtlıdır. Spontan otoakustik emisyonların varlığı dış saçlı hücrelerin intakt olduğu yönünde değerlendirilebilir ancak SOAE'ların elde edilememesi klinik olarak önemli bir bulgu değildir (30).

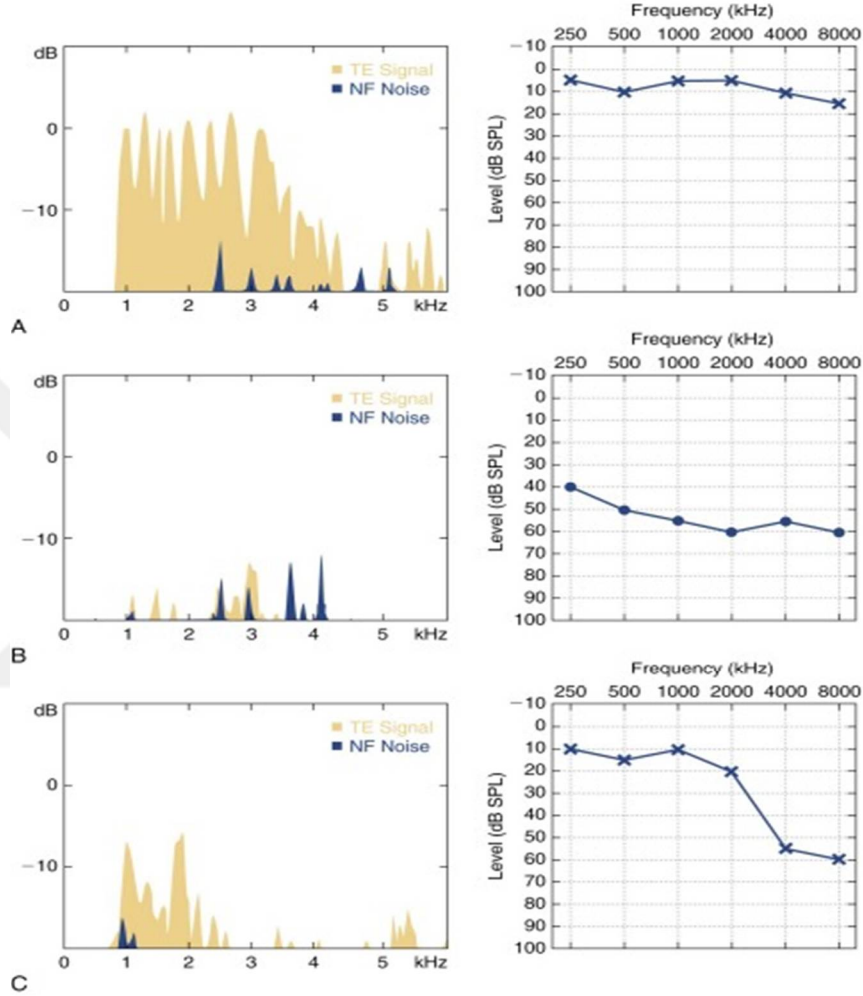
1.1.5.1.2 Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

Uyarılmış OAE'lar akustik bir uyaran sunumunun ardından ortaya çıkarlar. Farklı uyaran tiplerine göre çeşitli türlerde uyarılmış OAE'lar bulunmakatadır. Bunlar anlık uyarılmış otoakustik emisyonlar (TOAE), distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE) ve uyaran frekansı OAE'lardır (32).

Transient Otoakustik Emisyonlar (TOAE): Transient otoakustik emisyonlar temel bir akustik uyarının verilmesinin ardından gürültü seviyesinin azaltılması için averajlama tekniklerinin kullanıldığı dış kulak yolundan kaydedilen düşük seviyeli akustik sinyallerdir. Normal bir koklede kendisi de geniş bantlı bir cevap olan TEOAE'lar, tipik olarak yaklaşık 80 dB SPL şiddetinde geniş bantlı bir stimülüs olan klik uyaran verilerek kokleanın geniş bir bölümünün uyarılması sonucunda oluşur. Transient otoakustik emisyonların zamana göre dalga formasyonu, uyarının verilmesini takiben yaklaşık 20 msn içerisinde izlenmeye başlar ve yüksek frekanslı komponentleri düşük frekanslı komponentlerine göre daha kısa latanslı frekans grupları şeklindedir (30).

Transient otoakustik emisyonlar tipik olarak frekans dağılımına göre analiz edilir. Sinyal gürültü oranının 3 veya 6 dB SPL' den fazla olması, tekrarlanabilme oranının %90'dan yüksek olması, spesifik bir frekans bandında cevap alınıp alınmamasının tespiti için en sık kullanılan kriterlerdir.

Genel olarak orta kulağın normal olduğu durumlarda TEOAE'lerin varlığı, odyometrik eşiklerin normal ve normale yakın olduğunu gösterir. Transient otoakustik emisyonlar (Şekil 5) genel olarak odyometrik eşik 25-30 dB'den yüksek olduğu kulaklardan elde edilemezler (30).



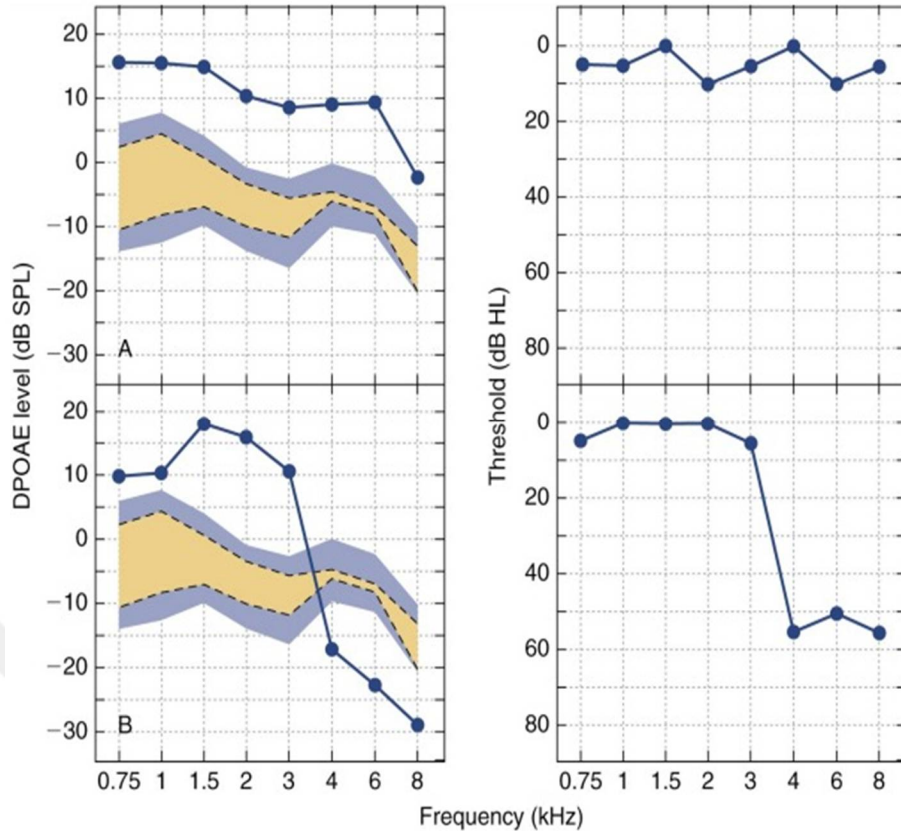
Şekil 5. Üç farklı işitme düzeyli bireyden kaydedilen odyogramlar ve TEOAE'ler

Şekil A normal işiten bir kişiden elde edilen sonuçları göstermektedir; TEOAE'ler 1000 ila 4000 Hz arasında değişen frekanslar için sağlamdır. Şekil B ve C ise sensorinöral işitme kaybı olan bireylerin sonuçlarını gösterir. B'de nispeten düz, orta derecede sensörinöral işitme kaybı mevcut ve ölçülebilir TEOAE'ye sahip değildir. C'de 2000 Hz'den küçük frekanslar için normal işitme ve 3000 Hz ila 8000 Hz arasındaki odyometrik frekanslar için orta düzeyde bir sensörinöral işitme kaybı olan sonuçları göstermektedir (31).

Distorsiyon Otoakustik Emisyonlar (DPOAE): Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE) işitmesi normal olan bir olguda, iki farklı frekanstaki saf sesin kulağa verilmesiyle kaydedilir. Kulak yoluna yerleştirilen mikrofona iki temel saf sesin yanında bir seri diğer frekanslara ait sinyalleri de kaydeder. Bu sinyaller distorsiyon ürünleri (distortion product) olarak isimlendirilir. Distorsiyon ürünlerinin bulunması normal kokleanın nonlineer özelliğinin kanıtı olarak değerlendirilir (30).

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar klinikte farklı frekanslardaki bir çift saf sesin (F1 ve F2) sırasıyla 65 ve 55 dB SPL şiddetlerinde (L1 ve L2) verilmesiyle kaydedilir. Saf ses frekanslarının oranı ($F2/F1$) 1.2/1 olarak ayarlanır. İşitme fonksiyonunun incelenmesi için en sık kullanılan distorsiyon ürünü $2F1-F2$ formülü ile edilir. Uyarıcı frekansları sistematik olarak değiştirilerek 1000 Hz ve 8000 Hz aralığında geniş bir alandaki DPOAE'lar kaydedilir. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonların bulunup bulunmadığına öngörülen gürültü zeminine nispetle, kulak kanalından kaydedilen DPOAE frekansındaki ($2F1-F2$) dalga amplitüdlerinin ölçülmesiyle karar verilir. Cevapların anlamlı olup olmadığına karar verilirken DPOAE dalga büyüklüğünün gürültüye olan oranına bakılır ve tipik olarak 3-6 dB aralığında olması gerekmektedir (30).

Orta kulak fonksiyonlarının normal olduğu bir kulakta klinik olarak anlamlı DPOAE'lerin bulunmaması, odyometrik işitme eşiğinin 30-35 dB'in üzerinde olduğunu gösterir (Şekil 6) (30).



Şekil 6. Farklı işitme düzeyine sahip iki bireyin DPOAE ve odyometrik eşikleri arasındaki ilişki gösterilmiştir.

A normal işiten bir olgudur ve test frekanslarının her biri için -5 ila 15 dB SPL arasında değişen amplitüdler elde edilmiştir. Amplitüdler şekil üzerinde gölgeli alan şeklinde gösterilen normatif aralık ile karşılaştırılmıştır. Gölgeli alan üzerindeki yanıtlar normal işitmeyi, altta kalan alan ise işitme kaybını göstermektedir. B’de 3000 Hz’e kadar normal işitme, 4000-8000 Hz arasında yüksek frekanslı işitme kaybını göstermektedir (31).

Uyarılmış otoakustik emisyonların ortaya çıkarılması için çeşitli uyaranlar kullanılmış olmakla birlikte klik ve ton burst uyaranlar özellikle tercih edilen iki temel uyaran olarak kabul edilir. Ton burst uyaranın avantajı spesifik bir frekans aralığında otoakustik emisyon yanıtı elde edilmesi olanağını sağlamasıdır. Oysa tek bir testte geniş bir frekans bandından kaynaklanan koklear yanıtların kesintisiz olarak kaydedilmesi olanağını sunduğu için klik uyaranın klinikteki kullanımı daha fazla ön plandadır (32).

Transient otoakustik emisyon ve DPOAE'un her ikisi de konvansiyonel frekans aralıklarında işitme eşikleri değişmeden önce değişseler de, DPOAE'nin işitme kaybını TOAE'den daha önce gösterdiği görülmektedir. Bu avantajı muhtemelen DPOAE'nin kokleanın ilk etkilenen frekansları olan daha yüksek frekanslarda ölçülebilir olmasından kaynaklanır. Dahası DPOAE'lerin sıklıkla TOAE'den daha ileri sensörinöral tip işitme kayıplarında bile ölçülebilmesi daha fazla hastayı OAE ile izlemeye uygun hale getirir (29).

Uyaran Frekansı Otoakustik Emisyonlar: Uyaran frekansı OAE tekniğinde uyaran olarak kesintisiz saf sesler kullanılır. Bu tip OAE'lerin frekansa spesifikliği yüksek olmasına rağmen kayıt sisteminde özelliği yüksek donanım gerektirmesi ve uyaran ile yanıtın zaman bağlamında birbirine yakınlığı dolayısıyla kliniklerde kullanımını yaygınlaştırmamıştır (32).

1.1.5.2 İşitsel Beyin Sapı Yanıtları

İşitsel uyarılmış yanıtlar sese karşı oluşan yanıtın elektrofizyolojik yöntemler ile kaydedilmesidir. Uygun test teknikleri ile kokleadan kortekse kadar işitme sisteminin tüm seviyelerindeki uyarılmayı klinik olarak kaydetmek mümkündür. Bu amaçla ABR (Auditory Brainstem Response) testi kliniklerde en sık kullanılan elektrofizyolojik test yöntemidir. ABR testinde test edilen kişinin alınına ve kulak çevresine yapıştırılan elektrotlar aracılığıyla sıklıkla kısa süreli bir akustik uyaran (klik veya ton burst) ile ortaya çıkan elektriksel potansiyeller kaydedilmektedir. ABR'de amplitüd bakımından kendisinden 100 kat daha büyük amplitüdde olan elektroensefalografik aktivitenin içinde, bilgisayar destekli cihazlar aracılığıyla, binlerce ses uyarısına karşı ortaya çıkan yanıtları ortalama ABR dalga formlarına dönüştürülmektedir (33).

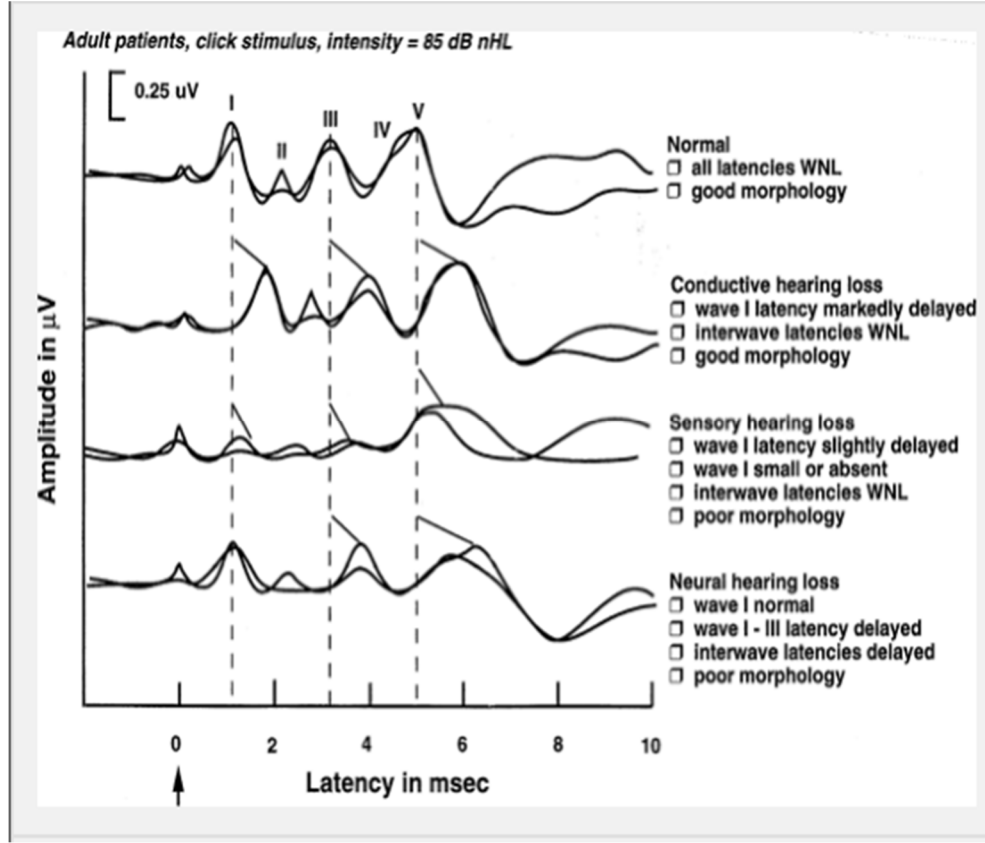
Araştırmalar ABR dalgalarının koklear sinir ile kaudal ve rostral beyin sapındaki işitsel yollardan kaynaklandığını göstermiştir (32).

İşitsel Beyin sapı yanıtında (ABR) 10 ms'de ortaya çıkan yedi pozitif verteks dalgası bulunmaktadır. Özellikle ilk beş dalga (Şekil 7) klinikte yaygın dikkat ve kullanım alanı bulmuştur (31).

I. dalga koklear sinirin kokleaya yakın kısmından kaynaklanan nöron kaynaklı uyarılmış aksiyon potansiyellerinin senkronizasyonundan oluşmaktadır. II. dalga koklear sinirin beyin sapına yakın kısmından kaynaklanır. Diğer tüm ABR dalgaları ise beyin sapındaki bir çok işitsel yapıdan kaynaklanmaktadır. III. dalga genel olarak koklear nükleus, trapezoid cisim ve süperior oliver kompleksi içeren ponsun kaudal kısmının uyarılmasıyla ortaya çıkar. ABR'nin rostral bileşeni ve en belirgin dalgası ise V. dalgadır. Büyük olasılıkla uyarılan kulağın kontralateralindeki lateral leminisküsün inferior kollikulusa yakın kısmından ortaya çıktığı düşünülmektedir (33).

ABR dalga formları analiz edilirken dalgaların güvenilir olup olmadığı analiz edilmelidir. Bu amaçla aynı şiddette en az iki dalga formu kaydedilir. Yanıtlarda dalga latansları birbirini doğrulamıyorsa test protokolü tekrar gözden geçirilir. Elde edilen yanıtların tekrarlanabilirliği doğrulandıktan sonra her dalga için mutlak latanslar ve dalgalar arası aralıklar milisaniye biriminde hesaplanır. Her iki kulak simetri açısından değerlendirilerek iki kulak arası V. dalga latansları farkının 0,4 ms'yi aşıp aşmadığına bakılır. Yine test edilen hastadan elde edilen latans değerleri, hastayla aynı yaş grubundaki normal işitenlerden elde edilen değerler ile karşılaştırılır (33).

Maksimum uyarı sıklığında ortaya net olarak çıkan I. dalganın latans değerinde gecikme iletim veya mikst tip işitme kayıplarında görülür. Eğer I. dalga küçük ve zayıf ancak dalgalar arası latans değerleri normal sınırlardaysa (I-V. dalga latansı $< 4,6$ ms) tiz frekanslarda sensöriyal işitme kaybı beklenir. Dalgalar arası uzamış latans değerleri retrokoklear bir patolojiyi yansıtır. Eğer erken dalgalar (I-III. dalga) arası latans uzamış ise ($> 2,4$ ms) posterior fossa bölgesinde koklear sinir veya alt beyin sapını etkileyen patolojileri düşünmek gerekir. III-V. dalgalar arası latansın uzaması ($> 2,45$ ms) ise intrakranial beyin sapındaki işitsel işlevde patolojiyi işaret eder (33).



Şekil 7. ABR testinde çeşitli işitsel patolojileri gösteren dalga latans ve morfolojileri (33)

İşitsel beyin sapı yanıtları konusunda yapılan çalışmalar yüksek şiddetteki akustik uyarana cevaben oluşan dalga formlarının koklear ve retrokoklear işlev hakkında ayırım yapmada bilgi verdiğini ortaya koymuştur. İşitsel beyin sapı yanıtları ayrıca vestibüler schwannoma rezeksiyonu gibi cerrahi operasyonlar sırasında koklear sinir ve işitsel beyin sapı yapılarının elektrofizyolojik monitorizasyonunda kullanılabilir. Yine ABR günümüzde bebek ve küçük çocukların, özellikle işitme taramalardan kalan ve riskli bebeklerin, işitme duyarlılığının değerlendirilmesinde çok değerli bir odyolojik test yöntemidir. Ayrıca doğumdan sonraki aylar içerisinde infantların işitme eşiklerinin ton burst gibi frekansa özgü sinyaller ile beliren ABR dalgalarının değerlendirilmesiyle işitme cihazlarının ayarlanması da mümkün olabilmektedir (33).

1.1.5.3 Akustik İmmitans Ölçümleri

Objektif bir test olan akustik immitansmetri dış kulak yoluna akustik uyarın verilerek kulak zarının katılığının ölçölmesiyle orta kulak fonksiyonunu değlerlendirmede kullanılır. Dış kulak yolundan kulak zarı ve orta kulağa gelen akustik enerjiye orta kulak bir direnç gösterir ve bu dirence akustik empedans adı verilir. Akustik empedansın tam tersi olan akustik kompliyans ise kulak zarı ve orta kulağın akustik enerjiye gösterdiği geçirgenliktir. Hem direncin hem de geçirgenliğin her ikisinde uygulandığı cihazlarda akustik immitansmetri teriminin kullanılması daha uygun olur (34).

Timpanometri orta kulak empedansının dinamik olarak kaydedilmesidir. Orta kulağın işlevi ve timpan membranın bütünlüğünü ölçmek için kullanılabilen bir testtir. Uygulanması sırasında dış kulak yolundaki hava basıncı sistematik olarak arttırılıp azaltılır. Orta kulağın kompliyansı immitansın dominant komponentidir ve timpanogramdaki dikey ekseni oluşturur (33).

Temel olarak üç timpanogram tipi tanımlanmıştır; tip A, B, C. Normal yani tip A timpanogramın tepe noktası olup 0 ila -100 daPa (decaPascal) aralığındadır. Tip B timpanogramda herhangi bir tepe bulunmayıp düz bir eğri şeklindedir. Sıklıkla orta kulak sıvılarında ortaya çıkar. Yine timpanik membran perforasyonlarında da tip B timpanograma benzer düz bir eğri elde edilir. Tip C timpanogramda ise tip A gibi tepe noktası mevcuttur fakat tepe noktası -100daPa'ı aşmaktadır. Bu tarz timpanogram ise genellikle tuba östaki disfonksiyonlarında, orta kulağın yetersiz ventilasyonlarında görülür (33).

1.1.6 Guinea Pig Temporal Kemik Anatomisi

Guinea pigler otolojik araştırmalarda insan kulağına anatomik benzerliklerinden dolayı sıklıkla kullanılırlar. Guinea pig temporal kemikleri, koklea ve komponentleri, inkudomalleolar kemik kompleksi ve stapes gibi birkaç istisna dışında insan temporal kemiklerine benzerdir (35).

Guinea pig kulaklarına cerrahi yaklaşım için geleneksel olarak superior ve inferior olmak üzere iki cerrahi yaklaşım mevcuttur. Her iki yöntemde uygun olan mikroskop altında timpanik membran bütünlüğünü koruyarak yaklaşmaktır. Superior yaklaşım yuvarlak ve oval pencere, epitimpanik boşluk ve çevre yapıları daha iyi gösterirken inferior yaklaşım koklea ve östaki kanalının daha iyi görülmesine olanak sağlar (35).

Guinea pig temporal kemiği kafatasının postero inferior kısmında bulunur. Temporal kemiği kaudalde oksipital kemik, dorsalde parietal kemik ve rostral olarak da frontal, palatin, sfenoid, maksilla ve ethmoid kemikler ile komşudur. Adult guinea pig temporal kemikleri skuamöz, petröz, timpanik ve mastoid parça olmak üzere dört kısımdan oluşur (36).

Timpanik parça üç ayrı kısımdan oluşur; timpanik halka, timpanik bulla ve dorsal bulla. Timpanik halka timpanik bullanın lateral duvarına dik bir açi ile giren, dış kulak kanalı duvarını oluşturan düzenli bir silindir şeklindedir. Timpanik bulla kobay temporal kemiğinin hava alanını sınırlayan oluşumdur. Trapezoid görünümde ve oldukça ince kemikli duvarları mevcuttur. Timpanik halka üzerinde ise ek bir hava hücresi olan dorsal bulla yer alır (36).

İnsan temporal kemiği petröz parçasına benzer olan labirentin kemik kapsülü içeren guinea pig temporal kemik petröz parçası anterior ve posterior kranial fossa yanında yer alan piramid şekilli bir yapıdır. Kemik labirent koklea, vestibül ve üç semisirküler kanaldan oluşur. Timpanik kavite medial duvarında yer alan kokleanın kalın bir kemik kılıf yoktur. Koklea santral olarak yerleşmiş spiral lamina ve etrafında 3,5-3,75 dönüş yapan modiulusdan oluşur (36).

Guinea pig orta kulağı inferiorda timpanik bulla (ventral bulla) ve superiorda dorsal bulla (dorsal timpanik bulla) olarak iki boşluğa ayrılır. Kemikçikler ve fasyal kanal arasında, dorsal ve ventral bulla arasında hava değişimini sağlayan, dar bir boşluk bulunur. Dorsal bulla insandaki epitimpanik reses ile benzerdir. Dorsal bullanın inferior duvarında anterior ve lateral semisirküler kanalların ampullar segmentlerinin çıkıntıları görülür (36).

Timpanik kaviteyi oluşturan zayıf duvarlar orta kulağın ventral bullasını çevreler. Bu duvarlar iç kulak yapılarını içeren medial duvarı hariç düz bir görünümündedir. Medial duvarında insandaki promontoriyuma benzer şekilde kokleanın bazal törnü bulunur. Kokleanın diğer üç törnü timpanik kaviteye doğru uzanır fakat diğer orta kulak yapıları ile bir bağlantısı bulunmaz. Kokleanın bazal törnünün elavasyonu ile bulla medial duvarında iç kulağa açılan derin ve dar oval ve yuvarlak pencere nişleri görülür (36).

Timpanik kavitenin posteriorunda farklı boyutlarda birkaç adet girinti görülür. Fasyal kanalın terminal kısmının medialini, lateral semisirküler kanalın da superior ve posterior kısmını yapan, postero-superiordaki büyük girinti mastoid bulla diye adlandırılır. Antero-inferiordaki girinti de labirentin bulla diye adlandırılır (36).

Malleus ve inkus tek bir yapı şeklindedir ve inkudomalleolar kompleks diye adlandırılır. Malleus kolu timpanik membrana lateral çıkıntısı ile yapışır. İnkus ise uzun kolu ile ligamentöz bir yapı ile stapeze bağlanır. Stapes bir footplate ve iki bacadan oluşur. Stapesin iki bacağı arasında erken embriyonel gelişimde görülen stapediaal arterin kalıntısı olan bir bağ doku görülebilir (36).

Sonuç olarak guinea pig temporal kemik anatomisi insan temporal kemiği ile birçok benzer özellikler göstermesine rağmen bazı farklılıkları da mevcuttur (37). Bunları özetlersek:

1. Timpanik membranda insandakinden farklı olarak lifli bir tabaka bulunmayıp, annulusa yakın yardımcı bölümler dışında kollajen fibrillerine hemen hemen hiç rastlanmamıştır. Kobay timpanik membranlarında pars flaccida yoktur.

2. Kulak zarı ve timpanik halkanın boyutları temporal kemiğin boyutlarına oranla insandakinden daha büyüktür.
3. Havalı hücre sisteminde trabeküllere ayrılmış multipl hücreler yerine daha basit bir hücre sistemi bulunur.
4. Timpanik kavite epitimpanyum ve geniş bir kavite olan bulla olmak üzere iki kaviteye ayrılır.
5. İnternal akustik kanal bulunmaz.
6. Malleus ve inkus füzyon yapmış, inkudomalleolar kompleks halinde bulunur.
7. İnsanlardakinden farklı olarak yuvarlak pencere horizontal bir planda bulunur. Bu plan vertikal planda yer alan oval pencereye diktir.
8. Koklea orta kulaktaki yerleşimi ve 3,5 turn sayısı ile farklılık gösterir.

1.1.7 Picibanil (OK-432)

OK-432 (Picibanil, Chugai Pharmaceutical Co. Ltd. Tokyo, Japonya) *Streptococcus pyogenes* (A grubu) Su suşunun benzilpenisilin ve ısı ile işleme tabi tutularak hazırlanan dondurularak kurutulmuş bir biyolojik üründür. Bu ilaç Okamoto ve Koshimura'nın yaptığı *Streptokok* çalışmaları üzerine geliştirilmiştir (38, 39).

Penisilin varlığında 37 °C' de 20 dakika ve 45 °C' de 30 dakika ısıtıldığında Su suşunun antitümör etkinliği artar ve toksinin üretme kapasitesini ortadan kaldırır. Dondurularak kurutulmadan önceki aşamada ürün, PC-B-45 (veya OK-431) olarak adlandırılır. OK-432 izolasyon, ekstraksiyon veya saflaştırma gibi başka tedavilere tabi tutulmadığından bakteri hücreleri bozulmadan kalır. Bununla birlikte, proliferatif etkinlik kaybolur ve insanlara uygulandığında *Streptokok* enfeksiyonu meydana gelmez (40, 41).

Klinische Einheit (KE), OK-432 dozu için bir ölçü birimi olarak kullanılır ve 1 KE yaklaşık 1×10^8 hücre içeren 0,1 mg kurutulup dondurulmuş *Streptokok*'a karşılık gelir. OK-432 sistemik (intramüsküler, subkutan veya intradermal) uygulanabildiği gibi spesifik kanserlerde intratümöral veya intraserözal da uygulanabilir (42).

OK-432 malign hastalıkların tedavisinde immün tedavi ajanı olarak intraperitoneal ve intratorasik dahi toksisite görülmeden kullanılmıştır (10). Sklerozan etkisinden dolayı bir kullanım alanı da, ilk kez Ogita ve arkadaşları tarafından 1987 yılında bildirilen, lenfanjiomların tedavisi olmuştur (11, 12).



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Denekler

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen ağırlıkları 500-700 gr arasında değişen 40 erişkin erkek cinsi guinea pig üzerinde, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurul'u (2016/89 protokol nolu) onayı alınarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) TF.17.16 nolu proje kapsamında elde edilmiştir. Guinea pigler % 40- 50 nem oranında, 19-22 °C ısı koşullarında pelet yem, taze sebze ve meyve ile beslenerek barındırılmıştır.

Guinea pigler rastgele seçilerek beşerli sekiz gruba ayrıldı. Uygulama şekline göre oluşturulan gruplar aşağıdaki gibi düzenlendi.

Grup IA (Çalışma grubu): Deneklere bir kez intratimpanik OK-432 enjeksiyonu uygulanıp bir hafta sonra sakrifiye edildi.

Grup IB (Kontrol grubu): Deneklere bir kez intratimpanik serum fizyolojik enjeksiyonu uygulanıp bir hafta sonra sakrifiye edildi.

Grup IIA (Çalışma grubu): Deneklere bir kez intratimpanik OK-432 enjeksiyonu uygulanıp bir ay sonra sakrifiye edildi.

Grup IIB (Kontrol grubu): Deneklere bir kez intratimpanik serum fizyolojik enjeksiyonu uygulanıp bir ay sonra sakrifiye edildi.

Grup IIIA (Çalışma grubu): Deneklere iki gün ara ile üç kez intratimpanik OK-432 enjeksiyonu uygulanıp bir hafta sonra sakrifiye edildi.

Grup IIIB (Kontrol grubu): Deneklere iki gün ara ile üç kez intratimpanik serum fizyolojik enjeksiyonu uygulanıp bir hafta sonra sakrifiye edildi.

Grup IVA (Çalışma grubu): Deneklere iki gün ara ile üç kez intratimpanik OK-432 enjeksiyonu uygulanıp bir ay sonra sakrifiye edildi.

Grup IVB (Kontrol grubu): Deneklere iki gün ara ile üç kez intratimpanik serum fizyolojik enjeksiyonu uygulanıp bir ay sonra sakrifiye edildi.

2.2 İşlem

Çalışmada kullanılan deneklere intramusküler yolla verilen 5mg/kg xylazine hidroklorür (Rhompun ampul; Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar ampul; Pfizer, İstanbul, Türkiye) kombinasyonu ile anestezi sağlanıp intratimpanik enjeksiyonları ile enjeksiyon öncesi ve sonrası elektrofizyolojik testleri yapıldı.

Anestezisi sağlanan 40 deneğin kulakları mikroskop altında muayene edilerek dış kulak yollarında debris veya buşon varsa temizlendi. Tüm kobaylarda normal timpanik membran saptandı. Tüm deneklerin kulaklarında intratimpanik enjeksiyon öncesi DPOAE ve ABR testleri ile normal işitme düzeyleri saptandı.

Çalışma gruplarındaki hayvanların her iki kulağına da intratimpanik 0.1 ml OK-432 (Picibanil, 1KE; Chugai Pharmaceutical Co, Tokyo, Japan) (Şekil 8) enjeksiyonu, kontrol gruplarının da her iki kulağına 0.1 ml serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonlar insülin enjektörü pistonu ucuna 28 gauge dental iğne takılıp timpanik membran arka alt kadranlarına yapıldı. Enjeksiyon işlemi sonrası denekler yüz üstü yatar şekilde baş düz olarak tutuldu.



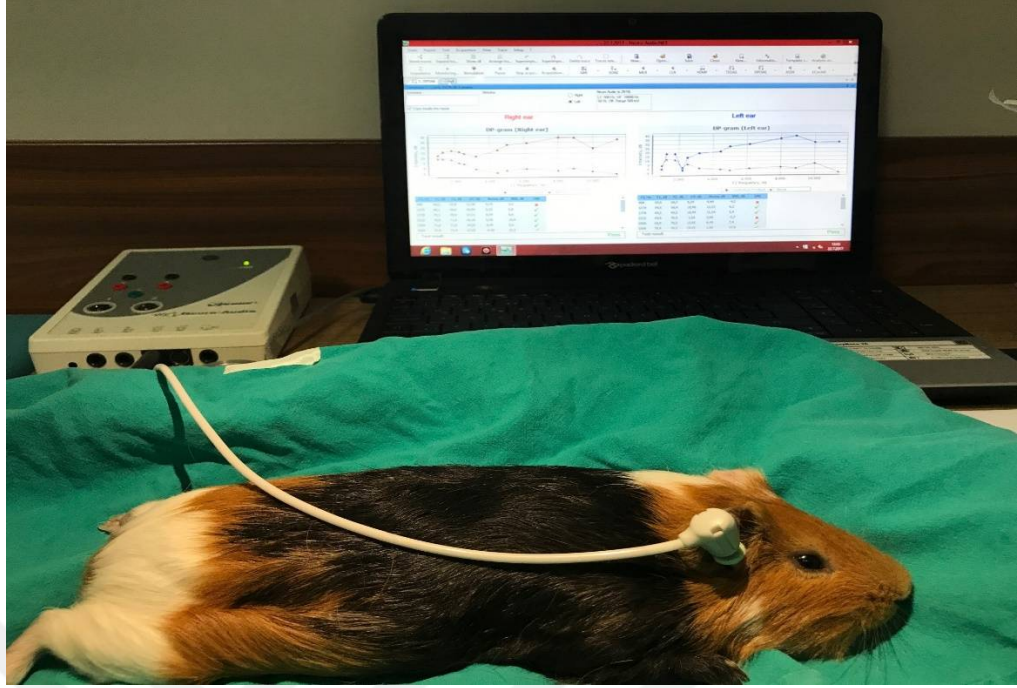
Şekil 8. OK-432 (Picibanil 1 KE)

Çalışma ve kontrol grubu dört gruba ayrılıp grupların yarısına bir enjeksiyon, diğer yarısına da iki gün ara ile üç enjeksiyon yapıldı. Deneklerin sakrifiye edilmeden önceki otomikroskopik muayenelerinde grup IIIA ve grup IIIB'den bir deneye ait bir kulakta zar intakt olmadığı için o taraf kulaklar çalışma dışı bırakıldı. Yine grup IIB ve IVB'den bir denek çalışma sırasında bilinmeyen bir nedenden telef olduğu için çalışmaya 38 denek ile devam edildi.

2.3 Elektrofizyolojik Testler

Denekler birinci hafta ve birinci aylarında sakrifiye edilmeden önce anestezi altında kulaklarından DPOAE ve cilt altı iğne elektrotlarla ABR ölçümleri yapıldı.

Otoakustik emisyon ölçümü Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nın Neurosoft Neuro-Audio markalı otoakustik emisyon cihazının DPOAE modu kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçümler sessiz bir odada yapıldı. Otoakustik emisyon cihazının probu üzerine yaklaşık 1cm'lik denek dış kulak yoluna uygun bir plastik tüp adaptör takılarak kobay dış kulak yoluna yerleştirildi. Cihazın prob göstergesi ve uyaran dalga formu uygun konfügrasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görülüp kayda başlandı (Şekil 9).

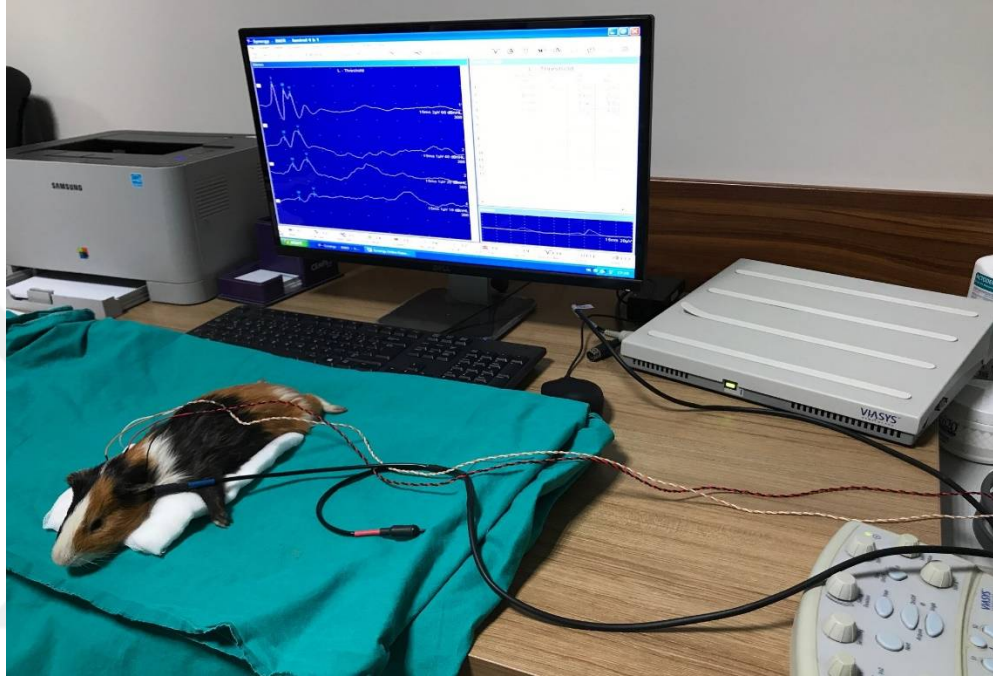


Şekil 9. Bir deneye ait DPOAE ölçümü görüntüsü

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar $2F_1-F_2$ formülü ile elde edildi. F_2 ve F_1 frekansları arasındaki oran 1.22 olacak şekilde tutuldu. Uyarın şiddeti F_1 frekansı L_1 , F_2 frekansı L_2 olarak alındığında L_1-L_2 10 dB SPL civarında tutuldu. DPOAE'ler dış kulak kanalındaki mikrofon aracılığıyla F_1 ve F_2 'nin geometrik ortalamalarında 988, 1270, 1778, 2222, 2500, 3200, 4444, 5000, 6154, 8000, 8889, 10000, 11429 Hz frekanslarda kaydedildi. Bu frekanslarda oluşan sinyal gürültü oranları (SNR) değerlendirildi. DPOAE cevaplarını değerlendirmede SNR oranlarının DPOAE amplitüdlerine göre daha güvenilir olmasından dolayı çalışmamızda grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada, enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR ortalama değerleri hesaplandı.

İşitsel beyin sapı yanıtları ölçümleri Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Viasys Healthcare MedelecSnergy marka cihazı ile anestezi altında yapıldı. Deneklerin dış kulak yoluna uygun yaklaşık 1cm'lik plastik tüp adaptör, cihazın kanal içi kulaklıklarının ses tüplerine bağlandı.

Cilt altı gümüş iğne elektrotlarının negatif olanı test edilen kulağın mastoidine, pozitif olanı alına, topraklama olanı da karşı kulağın mastoid bölgesine yerleştirildi. Elektrotların uygun yerleştirilip yerleştirilmediği cihazın elektrot testi ile kontrol edildi (Şekil 10).



Şekil 10. Bir deneğe ait ABR kayıt görüntüsü

Testte saniyede 10 klik uyaran verilip 300 cevabın ortalaması alındı. 60 dB HL (hearing level) 'den başlanıp 20'şer dB azaltılıp, eşiğe yaklaşılmca 10 dB'lik şiddet azaltımı tercih edilerek eşikler saptandı. 10 dB HL'de normal ABR konfigrasyonu görüldüğünde bu normal işitme olarak değerlendirildi. Grupların enjeksiyon öncesi ve sakrifiye edilmeden önceki ABR işitme eşikleri bulunup ortalamaları alındı.

2.4 Diseksiyon

Enjeksiyonlar yapıldıktan sonra DPOAE ve ABR testleri sonrasında denekler yüksek doz thiopental sodium (Pentothal Sodium flakon; Abbott, London,England) enjeksiyonundan sonra Ulusal Araştırma Konseyi Laboratuvar Hayvan Kaynakları Enstitüsü Rehberi'ne uygun şekilde sakrifiye edildi. Deneklerin bilateral temporal kemikleri hızlı bir şekilde eksize edildi. Öncelikle guine piglerin başı vücudundan ayrıldıktan sonra oksipital bölgeye horizontal bir insizyon yapıp cilt cilt altı anteriora doğru eleve edildi. Aurikulası laterale çekilip kıkırdak dış kulak yolu temporal kemikten keskin diseksiyon ile ayrıldı (Şekil 11). Kafatası orta hatta sagittal bir insizyon ile iki yarıya ayrıldıktan sonra bilateral temporal kemikler oksipital, parietal, frontal, palatin, ethmoid, sfenoid kemik ve VIII. sinir ile bağlantıları kesilip disseke edildi. Temporal kemik üzerinde subperiostal planda çalışılıp kas dokuları uzaklaştırıldı. Temporal kemik diseksiyonları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvanları Birimi'nde yapıldı.



Şekil 11. Bir deneğe ait makroskobik diseksiyon görüntüsü (Baş vücuttan ayrılmış, dış kulak kanalı keskin diseksiyon yapılarak cilt ile beraber anteriora eleve edilmiştir bu görüntüde).

Mikrodiseksiyonlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Diseksiyon Laboratuvarında mikroskop altında yapıldı (Şekil 12). Timpanik halka korunarak inferiorundan timpanik bulla uzun eksenine paralel bir insizyon ile timpanik kaviteye ulaşıldı ve temporal kemik bu plandan iki yarıma ayrıldı (Şekil 13). Orta kulak yapıları ve koklea ayrı şekilde çıkarıldı. Işık mikroskopisi ile inceleme planlanan orta kulak yapıları %10 formalin çözeltisine, elektron mikroskopisi ile incelenmesi planlanan koklealar da % 2,5 gluteraldehit çözeltisine konuldu.



Şekil 12. Mikroskop altında diseksiyon



Şekil 13. Bir deneğe ait temporal kemğin timpanik bulla uzun eksenine paralel şekilde iki yarıma ayrılmış, ışık mikroskopik görüntüsü (boyasız, X10)

2.5 Histopatolojik İncelemeler

Çıkarılan orta kulak bölümü %10'luk tamponlu nötral formaldehit içinde 72 saat oda sıcaklığında tespit edildi. Ardından De Castro solusyonunda oda sıcaklığında 2 hafta dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon tamamlandığında histolojik incelemeler için doku takip cihazında (Leica TP 1020) rutin doku takipi yapıldıktan sonra parafine gömülerek bloklar oluşturuldu. Alınan kesitler (5 µm) hematoksileneosin (H.E) ile boyandı ve ardından digital kamera (Leica DC490, Wetzlar-Germany) bağlı ışık mikroskopu (Leica 6000B) ve LASX programı ile incelendi ve değerlendirildi. Işık mikroskopisi incelemeleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Her örnek damarlanmada artışı, hücre infiltrasyonu, fibrozis açısından skorlanıp, değişiklikler yok (0), hafif (1), orta (2) veya şiddetli (3) olarak derecelendirildi.

2.6 Ultrastrüktürel Değerlendirme

Çıkarılan iç kulak fosfat tamponlu %2 lik gluteraldehit içinde 4 saat oda sıcaklığında tespit edildi. Ardından 0,1 M fosfat tampon ile yıkandı ve De Castro solusyonunda oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. Kohleanın kemik labirenti yeterli yumuşaklığa ulaştığında dokular fosfat tampon ile yıkandı, 1 saat gluteraldehit içine koyuldu ve ardından 0,1 M fosfat tampon içindeki %1 osmiyum tetroksit ile 1 saat post-fiksasyon gerçekleştirildi. Dehidratasyon için artan dereceli etanol serisinden geçirildi, propilen oksit ile muamele edildi ve Araldite/Epon812 (Cat no: 13940, EMS, Hatfield, PA, USA) kullanılarak gömme yapıldı.

Kesitler (2 µm), metilen mavisi-azure II ile boyandı ve DC490 dijital kameraya sahip ışık mikroskopu (Leica) ile incelendi. İnce kesitler Leica ultracut R ile alındı, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı (Leica EM AC20). Kesitler JEOL-JEM 1400 elektron mikroskobu ile incelendi ve CCD kamera (Gatan Inc. Pleasanton, CA, USA) ile fotoğraflandı. Fotoğraflar kokleanın bazal dönüşünün olduğu yerden alındı. Elektron mikroskobisi incelemeleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Örneklerdeki histopatolojik değişiklikler, korti organında hücre infiltrasyonu, korti dejenerasyonu, stria vasculariste ödem ve hücre dejenerasyonu açısından değerlendirildi. Bu değişiklikler yok (0), hafif (1), orta (2) veya şiddetli (3) olarak derecelendirildi.

2.7 İstatiksel İnceleme

Çalışmadan elde edilen verilerin istatiksel analizi IBM SPSS Statistics (Version 23) programı ile yapıldı. Non parametrik niceliksel verilerin grup içi karşılaştırmalarında Wilcoxon işaretli sıralar testi, gruplar arası karşılaştırmalarında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

ELEKTROFİZYOLOJİK BULGULAR

Çalışmamızda 38 kobayın sağlam 74 kulağının elektrofizyolojik test sonuçları değerlendirildi. Çalışma gruplarında intratimpanik Picibanil enjeksiyonu öncesi ve sonrası; kontrol gruplarında ise intratimpanik serum fizyolojik enjeksiyonu öncesi ve sonrası, toplamda iki defa, DPOAE ve ABR testleri yapıldı. ABR testinde eşik belirlenirken, DPOAE testinde 4444, 6154, 8889, 11429 Hz frekanslarındaki SNR oranları değerlendirildi.

Grup 1A (Çalışma grubu)

Bir kez Picibanil enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan bir hafta sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 10 kulağın ABR ölçümlerinde, işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

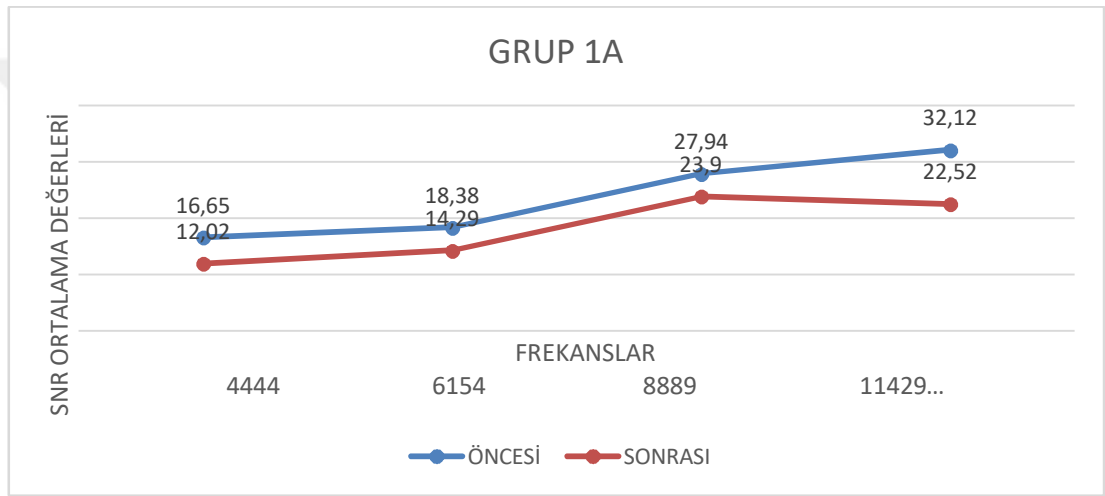
Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri minimum (min):15,10 , maksimum(max):18 olup ortalaması $16,65 \pm 1,12$ ’ dir. Enjeksiyon sonrası min:7,9 , max:15,20 , ortalaması ise $12,02 \pm 2,34$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

6154 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:16,40 , max:20,50 olup ortalaması $18,38 \pm 1,30$ ’dur. Enjeksiyon sonrası min:10,80 , max:16,50 , ortalaması ise $14,29 \pm 1,76$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

8889 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:25,50 , max:30,50 olup ortalaması $17,94 \pm 1,58$ ’dir. Enjeksiyon sonrası min:18,10 , max:26,80 , ortalaması ise $23,90 \pm 2,71$ olarak bulunmuştur.

Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,011$).

11429 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:29 , max:35,10 olup ortalaması $32,12 \pm 2,27$ dir. Enjeksiyon sonrası min:15,70 , max:27,40 , ortalaması ise $22,52 \pm 3,78$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).



Şekil 14. İntratimpanik Picibanil tek enjeksiyonu öncesi ve bir hafta sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.

Grup 1B (Kontrol grubu)

Bir kez serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan1 hafta sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 10 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:15,20 , max:18,1 olup ortalaması $16,89 \pm 1,09$ 'dur. Enjeksiyon sonrası min:15 , max:18 , ortalaması ise $16,82 \pm 0,99$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,53$).

6154 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:15 , max:20 olup ortalaması $17,75 \pm 1,51$ 'dir. Enjeksiyon sonrası min:17,40 , max:21,30 , ortalaması ise $17,82 \pm 1,83$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,67$).

8889 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min: 24,20 , max:29,9 olup ortalaması $27,56 \pm 1,71$ 'dir. Enjeksiyon sonrası min:23,20 , max:29,10 , ortalaması ise $27,28 \pm 2,13$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,18$).

11429 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:28 , max:34,20 olup ortalaması $31,6 \pm 1,94$ ' dir. Enjeksiyon sonrası min:30,70 , max:35,40 , ortalaması ise $32,11 \pm 1,38$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,47$).

Grup 2A (Çalışma grubu)

Bir kez Picibanil enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan 1 ay sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 10 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

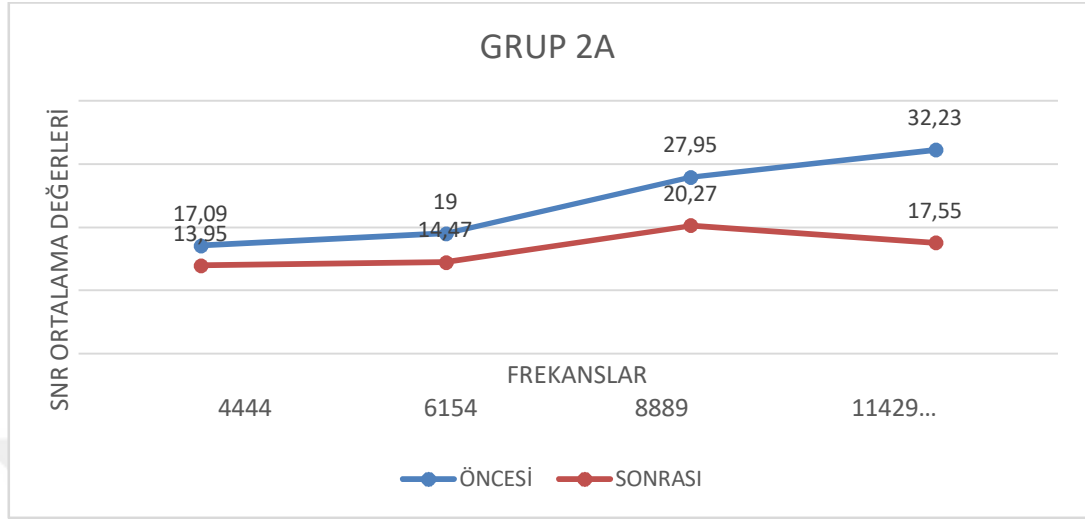
Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:15,10 , max:19,40 olup ortalaması $17,09 \pm 1,32$ ' dir. Enjeksiyon sonrası min:6, max:18, ortalaması ise $13,95 \pm 4,30$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,012$).

6154 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:16,6 , max:25,6 olup ortalaması $19 \pm 2,51$ 'dir. Enjeksiyon sonrası min:6, max:18, ortalaması ise $14,47 \pm 3,60$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

8889 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:25,5 , max:33 olup ortalaması $27,95 \pm 2,17$ ' dir. Enjeksiyon sonrası min:6,8 , max:25 , ortalaması ise $20,27 \pm 5,72$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,011$).

11429 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:28 , max:35,3 olup ortalaması $32,23 \pm 2,25$ ' dir. Enjeksiyon sonrası min:6,40 , max:24,80 , ortalaması ise $17,55 \pm 6,97$ olarak bulunmuştur.

Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).



Şekil 15. İntratimpanik Picibanil tek enjeksiyonu öncesi ve bir ay sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.

Grup 2B (Kontrol grubu)

Bir kez serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan bir ay sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 8 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:14,30 , max:18,10 olup ortalaması $16,76 \pm 1,46$ ’ dur. Enjeksiyon sonrası min:14 , max:21,7 ortalaması ise $17,20 \pm 1,49$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,85$).

6154 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:15,9 , max: 20,1 olup ortalaması $17,99 \pm 1,49$ ’ dur. Enjeksiyon sonrası min:14,20 , max:24,40 , ortalaması ise $17,99 \pm 3,55$ olarak bulunmuştur.

Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,68$).

8889 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:25,50 , max:30,10 olup ortalaması $27,87 \pm 1,32$ ’ dir. Enjeksiyon sonrası min:24,90 , max:34,20 , ortalaması ise $28,10 \pm 2,75$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,68$).

11429 Hz frekansında enjeksiyon öncesi SNR değerleri min:28 , max:35,80 olup ortalaması $32,29 \pm 2,45$ ’ dir. Enjeksiyon sonrası min:29,30 , max:35 , ortalaması ise $32,33 \pm 2,01$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyon öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,34$).

Grup 3A (Çalışma grubu)

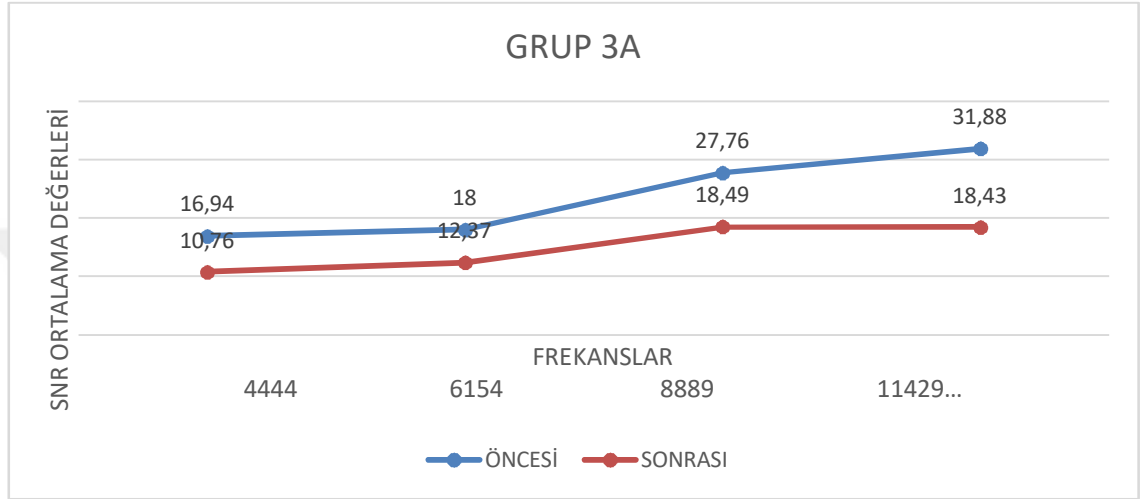
Üç kez Picibanil enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan bir hafta sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 9 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:15,10 , max:18,70 olup ortalaması $16,94 \pm 1,11$ ’ dir. Enjeksiyon sonrası min:7,9 , max:13,9, ortalaması ise $10,76 \pm 2,08$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

6154 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:16,30 , max:20 olup ortalaması $18 \pm 1,25$ ’ dir. Enjeksiyonlar sonrası min:8,30 , max:14,80 , ortalaması ise $12,37 \pm 2,22$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

8889 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:25,50 , max:29,30 olup ortalaması $27,76 \pm 1,29$ ’ dur. Enjeksiyonlar sonrası min:9,80 , max:24,10 , ortalaması ise $18,49 \pm 5,64$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

11429 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:29, max:35,10 olup ortalaması $31,88 \pm 2,19$ ’ dur. Enjeksiyonlar sonrası min:9,30 , max:24,40 , ortalaması ise $18,43 \pm 5,19$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).



Şekil 16. İntratimpanik Picibanil 3 kez enjeksiyonu öncesi ve bir hafta sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.

Grup 3B (Kontrol grubu)

Üç kez serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan bir hafta sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 9 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:15,50 , max:18,90 olup ortalaması $16,96 \pm 1,12$ ’ dir. Enjeksiyonlar sonrası min:16, max:19,30 , ortalaması ise $17 \pm 1,07$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,87$).

6154 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:16 , max:20 olup ortalaması $17,93 \pm 1,21$ ’dir. Enjeksiyonlar sonrası min:16,40 , max:21, ortalaması ise $18,01 \pm 1,43$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,67$).

8889 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:25,30 , max:29,60 olup ortalaması $27,51 \pm 1,31$ ’ dir. Enjeksiyonlar sonrası min:25, max:30, ortalaması ise $27,63 \pm 1,57$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,51$).

11429 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:28, max:35,10 olup ortalaması $31,49 \pm 2,13$ ’ dür. Enjeksiyonlar sonrası min:27,80 , max:25,80 , ortalaması ise $31,23 \pm 2,47$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,71$).

Grup 4A (Çalışma grubu)

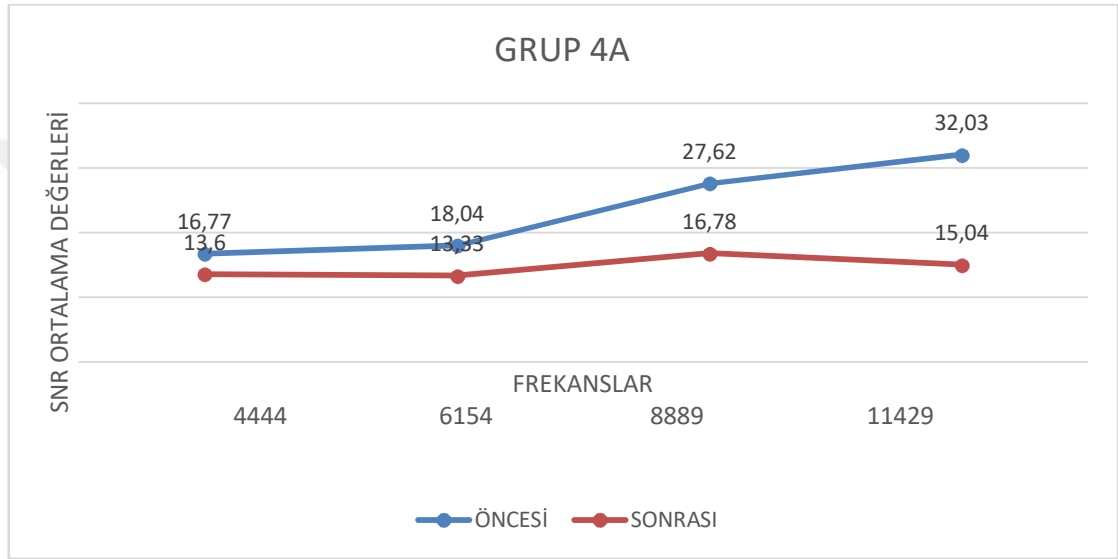
Üç kez Picibanil enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan bir ay sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 10 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:15,20 , max:18,10 olup ortalaması $16,77 \pm 1,06$ ’ dır. Enjeksiyon sonrası min:8,90 , max:15,40 , ortalaması ise $13,06 \pm 2,24$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

6154 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:16,40 , max:20 olup ortalaması $18,04 \pm 1,23$ ’ dür. Enjeksiyonlar sonrası min:9,80 , max:17,50, ortalaması ise $13,33 \pm 2,26$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

8889 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:25,90 , max:19,60 olup ortalaması $27,62 \pm 1,24$ ’ dür. Enjeksiyonlar sonrası min:11,50 , max:23,20 , ortalaması ise $16,78 \pm 4,16$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

11429 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:28,90 , max: 35,10 olup ortalaması $32,03 \pm 1,93$ ’ dür. Enjeksiyonlar sonrası min:9,90 , max:22 , ortalaması ise $15,04 \pm 3,44$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).



Şekil 17. İntratimpanik Picibanil 3 kez enjeksiyonu öncesi ve bir ay sonrası elde edilen DPOAE SNR ortalamaları.

Grup 4B (Kontrol grubu)

Üç kez serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmadan önce ve yapıldıktan bir ay sonrasında sakrifiye edilmeden önce testleri yapılan 8 kulağın ABR ölçümlerinde; işitme eşiği enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında değişmeyip 10 dB HL olarak bulundu.

Yapılan DPOAE testlerinde 4444 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:15, max:18,40 olup ortalaması $16,65 \pm 1,07$ ’ dir. Enjeksiyonlar sonrası min:15,80 , max:18,50 , ortalaması ise $16,80 \pm 0,94$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,28$).

6154 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:16, max:20 olup ortalaması $18,04 \pm 1,39$ ’ dur. Enjeksiyonlar sonrası min:16, max:19,80 , ortalaması ise $17,81 \pm 1,33$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,26$).

8889 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:25,10 , max:29 olup ortalaması $27,47 \pm 1,41$ ’ dir. Enjeksiyonlar sonrası min:25,30 , max:29,10 , ortalaması ise $27,53 \pm 1,34$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,85$).

11429 Hz frekansında enjeksiyonlar öncesi SNR değerleri min:28,10 , max:35 olup ortalaması $31,55 \pm 2,22$ ’ dir. Enjeksiyonlar sonrası min:27,90 , max:35,80 , ortalaması ise $31,28 \pm 2,48$ olarak bulunmuştur. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,13$).

Çalışma gruplarının işlem öncesi ve sonrası DPOAE testinde SNR değerlerindeki düşme miktarları arasında anlamlı bir fark olup olmadığı Man Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Grup 2A ve Grup 4A, Grup 1A ve Grup 2A, Grup 3A ve Grup 1A, Grup 4A ve Grup 3A ile karşılaştırıldığında gruplar arasında SNR oranlarındaki düşüş açısından istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$).

Tüm çalışma gruplarında enjeksiyon sonrasında işitme eşikleri değişmeden koklear düzeyde etkilenmenin erken bulguları gözlenmiştir. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde SNR eşiklerinde enjeksiyon sonrası azalma görülürken, kontrol gruplarında anlamlı bir değişim olmamıştır. Ancak çalışma gruplarında eşiklerin azalma miktarları karşılaştırıldığında çalışma grupları arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 1. Çalışma ve kontrol gruplarının işlem öncesi ve sonrası DPOAE ve ABR bulguları

		DPOAE (SNR dB) Ort±SD Medyan				ABR (dB HL) Ort
		4444 Hz	6154 Hz	8889 Hz	11429 Hz	
GRUP 1 A (ÇALIŞMA)	İ.Ö	16,65±1,12 16,65	18,38±1,30 18,5	27,94±1,58 27,65	32,12±2,27 31,9	10
	İ.S	12,02±2,34 12,5	14,29±1,76 14,5	23,90±2,71 24,6	22,52±3,78 22,35	10
GRUP 1B (KONTROL)	İ.Ö	16,89±1,09 17,15	17,75±1,51 17,65	27,56±1,71 28,25	31,60±1,94 32,05	10
	İ.S	16,82±0,99 16,7	17,82±1,83 18,15	27,28±2,13 28,3	32,11±1,38 31,9	10
GRUP2A (ÇALIŞMA)	İ.Ö	17,09±1,32 17,4	19,00±2,51 18,8	27,95±2,17 27,85	32,23±2,25 32,7	10
	İ.S	13,95±4,30 15,15	14,47±3,60 14,65	20,27±5,72 22,6	17,55±6,97 18,1	10
GRUP 2B (KONTROL)	İ.Ö	16,76±1,46 17,25	17,99±1,49 17,65	27,87±1,32 27,75	32,29±2,45 32,25	10
	İ.S	17,20±2,65 16,7	17,99±3,55 16,55	28,10±2,75 27,65	32,33±2,01 32,55	10
GRUP 3A (ÇALIŞMA)	İ.Ö	16,94±1,11 16,95	18,00±1,25 17,75	27,76±1,29 28,15	31,88±2,19 31,75	10
	İ.S	10,76±2,08 11	12,37±2,22 13,2	18,49±5,64 21,3	18,43±5,19 19,7	10
GRUP 3B (KONTROL)	İ.Ö	16,96±1,12 16,8	17,93±1,21 17,85	27,51±1,31 27,6	31,49±2,13 32	10
	İ.S	17±1,07 16,7	18,01±1,43 17,35	27,60±1,57 27,9	31,23±2,47 30,8	10
GRUP 4A (ÇALIŞMA)	İ.Ö	16,77±1,06 17,05	18,04±1,23 17,9	27,62±1,24 27,2	32,03±1,93 32,15	10
	İ.S	13,06±2,24 13,25	13,33±2,26 13,65	16,78±4,16 16,35	15,04±3,44 14,45	10
GRUP 4B (KONTROL)	İ.Ö	16,65±1,07 16,65	18,04±1,39 17,75	27,47±1,41 27,35	31,55±2,22 31,25	10
	İ.S	16,80±0,94 16,6	17,81±1,33 17,75	27,53±1,34 27,55	31,28±2,48 31,4	10

İŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR

Çalışmamızda toplamda 8 grupta 74 kulağın orta kulak yapıları ışık mikroskopik olarak değerlendirildi (Tablo 2).

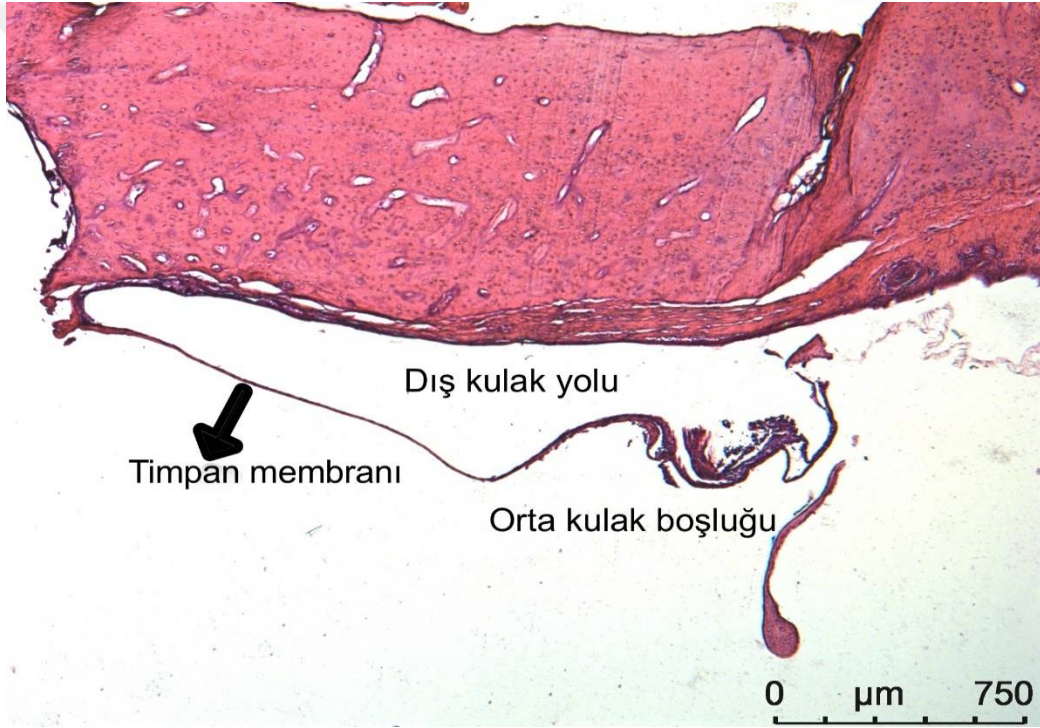
Kontrol gruplarına ait örneklerin ışık mikroskop incelemesinde dış kulak yolu, arada timpan membran ve orta kulak kemiklerinin kesitini içeren orta kulak boşluğu gözlemlendi. Timpan zarı, iki tarafında epitel ve ortada fibroelastik bağ dokusu ile dış kulak yolu ile orta kulak kavitesi arasındaydı (Şekil 18). Kontrol gruplarına ait örneklerin hiç birinde orta kulakta mukoza hasarı, iltihabi hücre infiltrasyonu, damarlanma artışı ve fibrozis gözlenmedi.



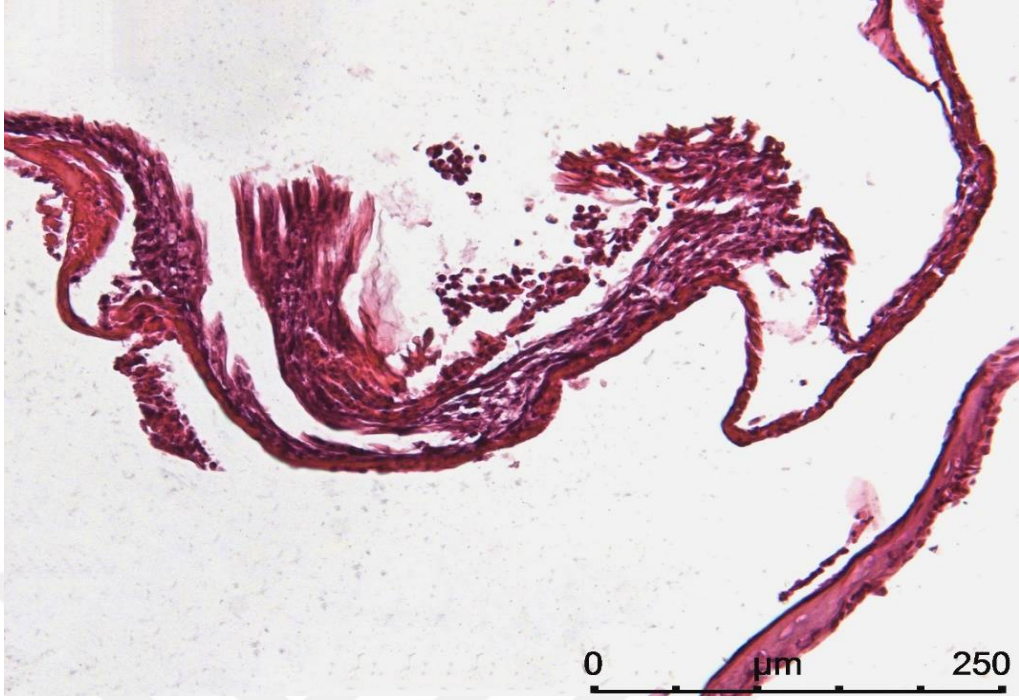
Şekil 18. Kontrol grubundaki bir deneğe ait timpan zarının ışık mikroskopik görünümü izlenmektedir (H.E X400).

Grup 1A (Çalışma grubu)

Grup 1A'ya ait örneklerin ışık mikroskopik incelemesinde dış kulak yolu, arada timpan membran ve orta kulak kemiklerinin kesitini içeren orta kulak boşluğu gözlendi (Şekil 19). Timpan zarı, iki tarafında epitel ve ortada fibroelastik bağ dokusu ile dış kulak yolu ile orta kulak kavitesi arasındaydı. Bu gruba ait örneklerde timpan zarının dış kulak yolu tarafına bakan yüzünde şiddetli ve orta kulak boşluğunda göreceli olarak daha az mononükleer ağırlıklı hücre infiltrasyonunun varlığı saptandı (Şekil 20 ve 21). Grup 1A'da fibrozis görülmezken orta ve şiddetli derecede iltihabi hücre infiltrasyonu görülmüştür.



Şekil 19. Grup 1A'ya ait örnekte dış kulak yolu, arada timpan membran ve orta kulak kemiklerinin kesitini içeren orta kulak boşluğu gözlenmektedir (H.E X40).



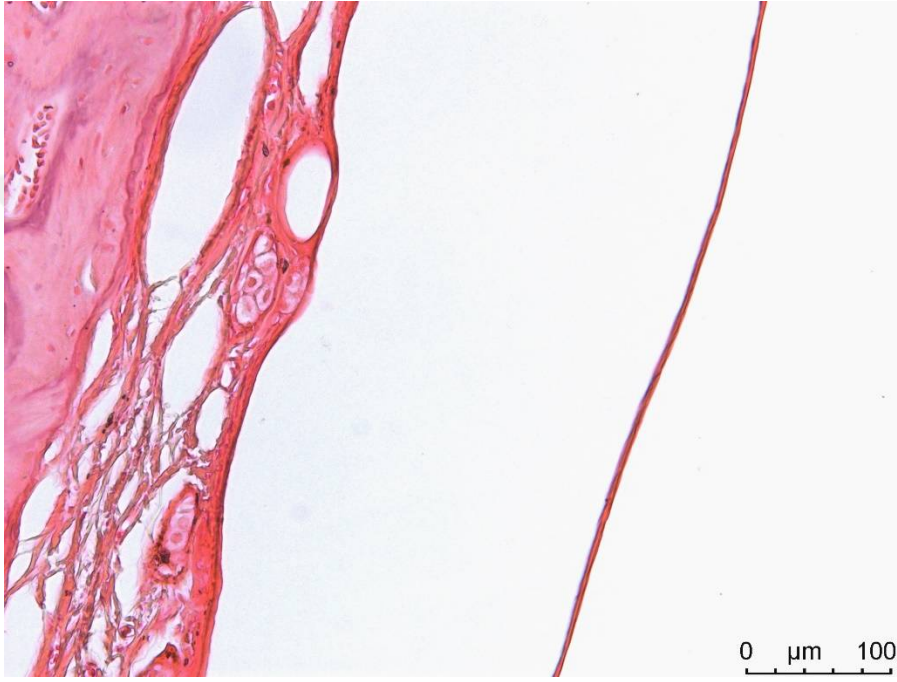
Şekil 20. Grup 1A'ya ait örnekte timpan zarı ve her iki tarafında hücre infiltrasyonu izlenmektedir (H.E X200).



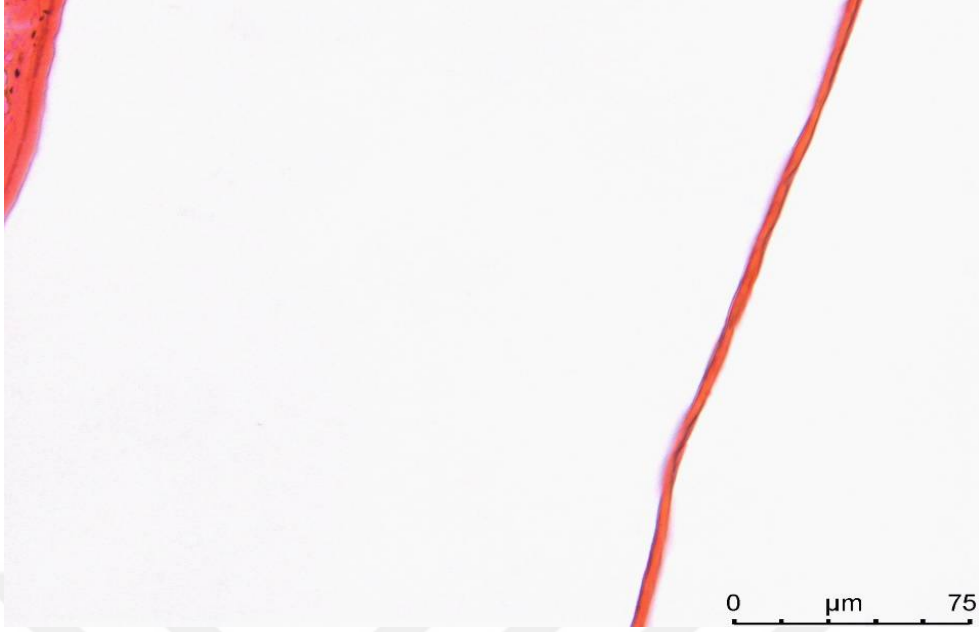
Şekil 21. Grup 1A'ya ait bir örnekte timpan zarının orta kulak boşluğuna bakan yüzünde de belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmektedir (H.E X400).

Grup 2A (Çalışma grubu)

Grup 2A'ya ait örneklerin ışık mikroskop incelemesinde orta kulakta ve timpan zarının her iki tarafında da infiltrasyon gözlenmedi (Şekil 22, 23). Bu grupta incelenen örnekler kontrol grubu ile aynı görünümdeydi.



Şekil 22. Grup 2A'ya ait bir örnekte dış kulak yolu ve timpan zarının her iki tarafında da infiltrasyon gözlenmemektedir (H.E X200).

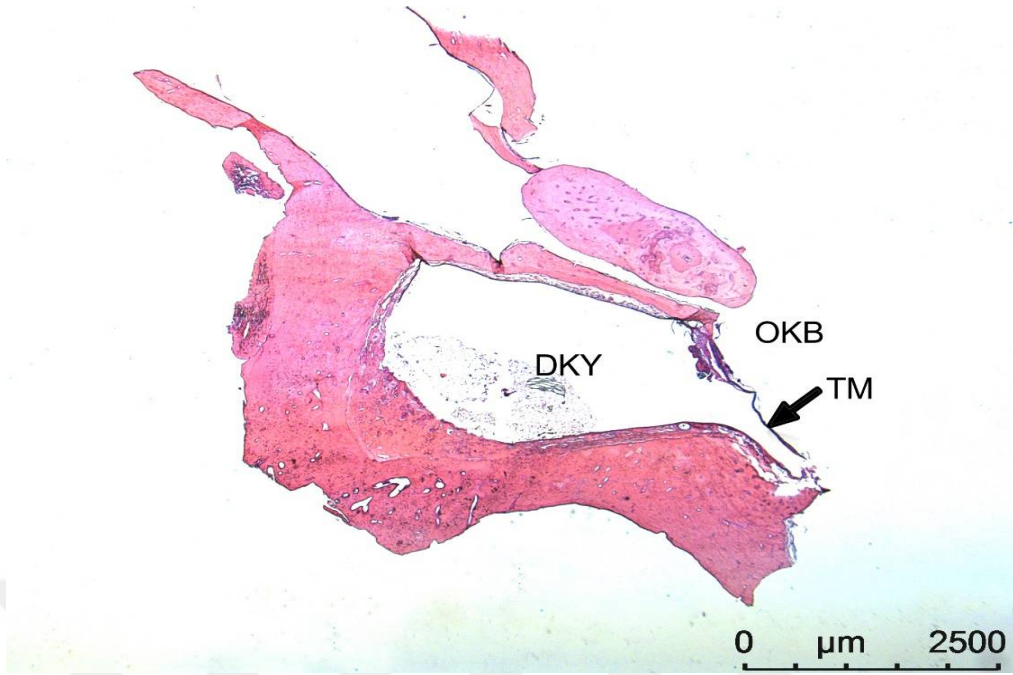


Şekil 23. Grup 2A'ya ait örnekte büyük büyütmede timpan zarı izlenmektedir (H.E X400).

Grup 3A (Çalışma grubu)

Grup 3A ya ait örneklerin ışık mikroskop incelemesinde orta kulak boşluğu ve östaki tüpünde hücre infiltrasyonu izlendi. Temporal kemik içinde, orta kulak boşluğunu mukozası altında yer alan ince lamina propriada hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Orta kulak boşluğu içinde şiddetli hücre infiltrasyonu belirgindi (Şekil 24-28). Bu hücrelerin nötrofillerin yanı sıra iri makrofajlar olduğu izlendi (Şekil 29). Yalancı çok katlı silyalı prizmatik epitel ile döşeli östaki borusu lümeninde inflamatuvar hücrelerin varlığı belirlendi (Şekil 30).

Grup 3A orta kulak mukozasında orta ve şiddetli derecede iltihabi hücre infiltrasyonu mevcuttu.

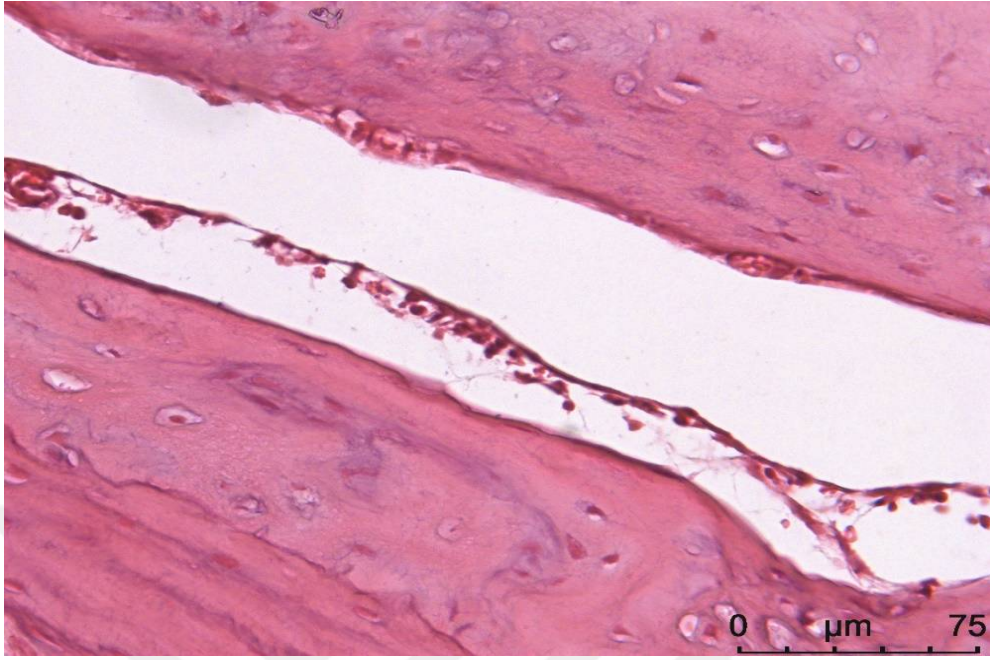


Şekil 24. Grup 3A'ya ait örnekte dış kulak yolu, sonunda timpan membran ve dış kulak yolu komşuluğunda orta kulak boşluğu izlenmektedir (H.E X125).

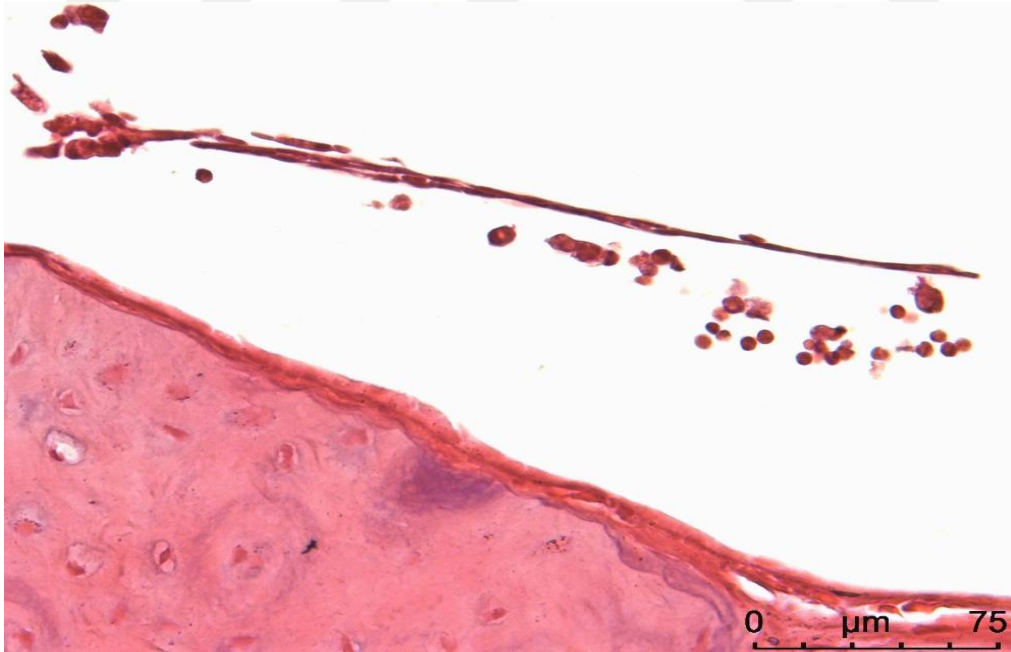
DKY: Dış kulak yolu, OKB: Orta kulak boşluğu, TM: Timpan membranı



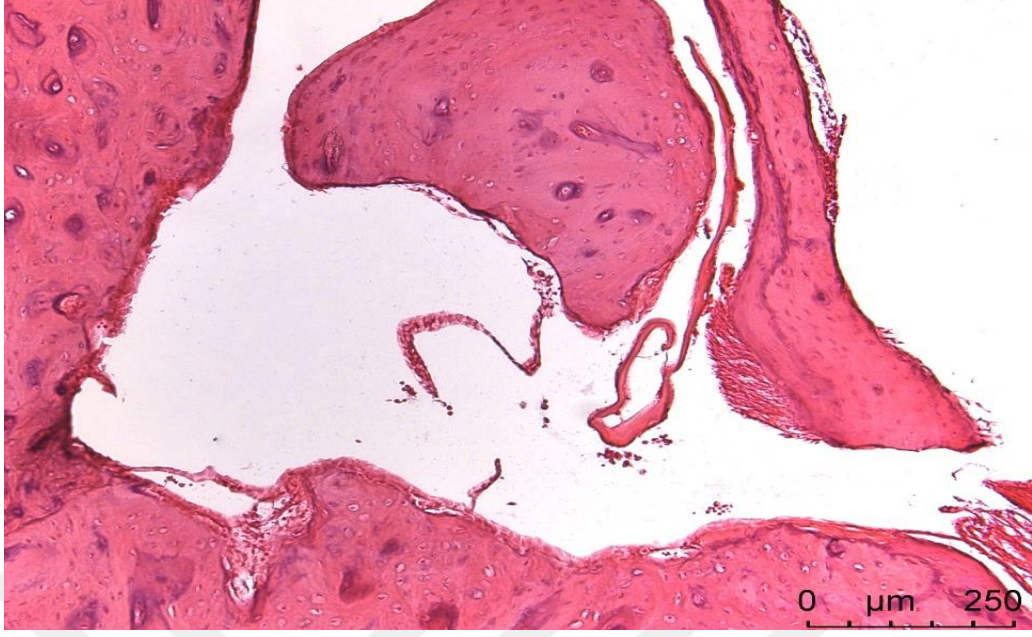
Şekil 25. Grup 3A'ya ait örnekte temporal kemiğin orta kulak boşluğuna bakan tarafında periost üzerinde hücre infiltrasyonu gözlenen ince bağ dokusu ve epitel izlenmektedir (H.E X200).



Şekil 26. Grup 3A'ya ait örnekte temporal kemikğin orta kulak boşluğuna bakan yüzünde ince lamina propria içinde hücre infiltrasyonu gözlenmektedir (H.E X400).



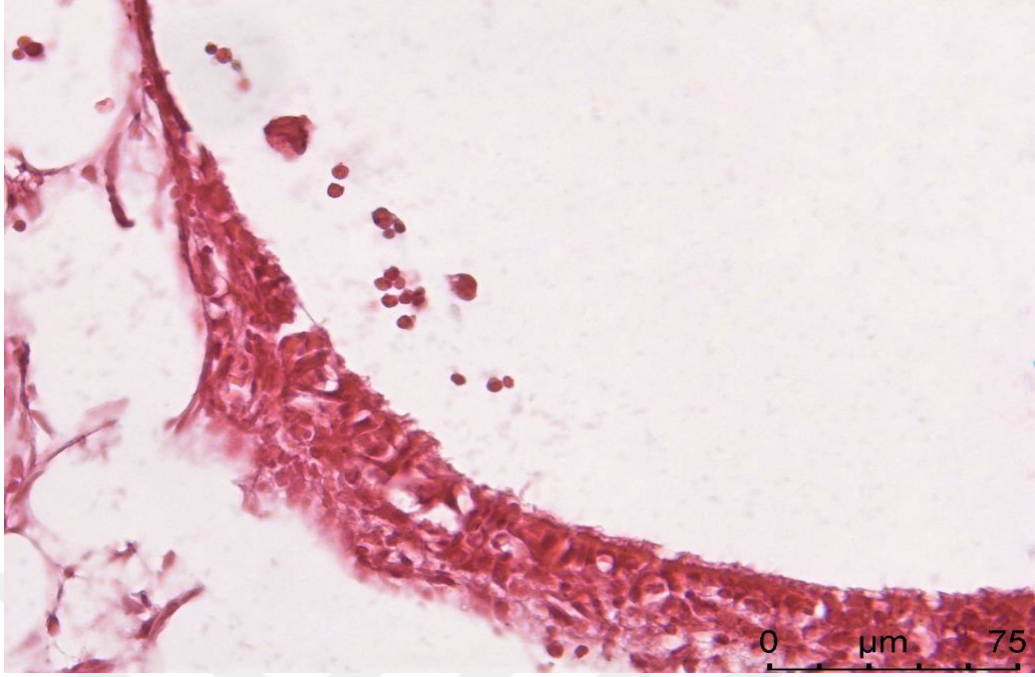
Şekil 27. Grup 3A'ya ait örnekte timpan membran altında belirgin hücre infiltrasyonu gözlenmektedir (H.E X400).



Şekil 28. Grup 3A'ya ait örnekte orta kulak boşluğuna ait mikrografta orta kulak kemiğinin kesiti, orta kulak boşluğunda inflamatuvar hücreler ve boşluğu çevreleyen temporal kemik üzerindeki ince lamina propriada hücre infiltrasyonu izlenmektedir (H.E X100).



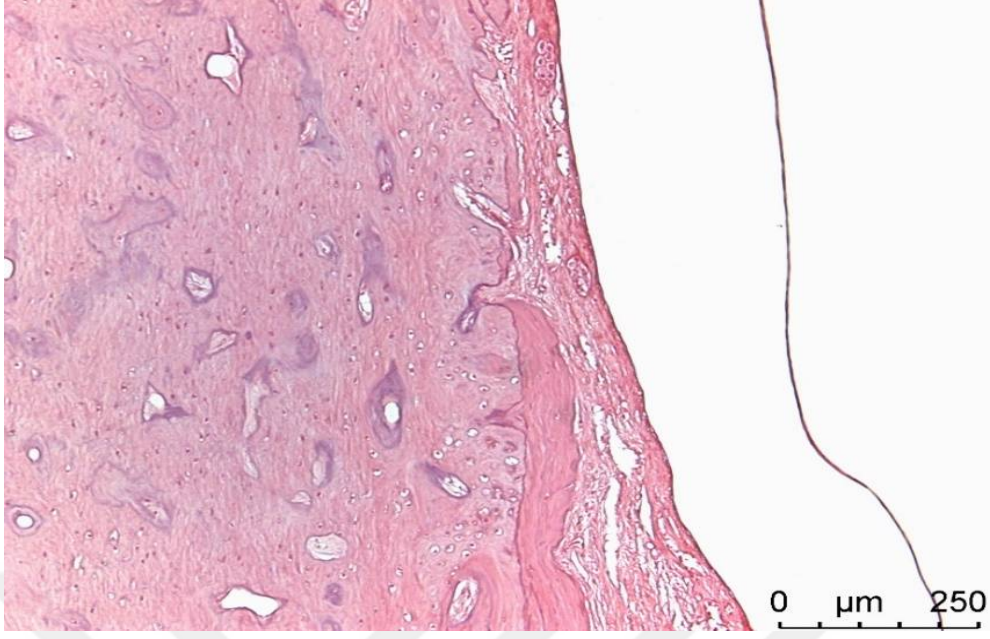
Şekil 29. Grup 3A'ya ait örnekte orta kulak boşluğunda yer alan hücrelerin iri makrofajlar olduğu izlenmektedir (H.E X400).



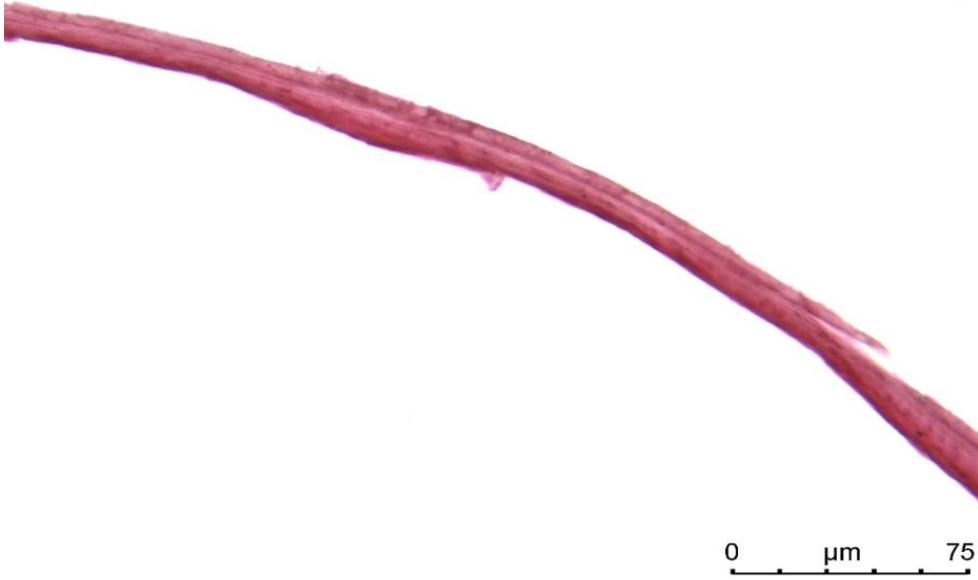
Şekil 30. Grup 3A'ya ait örneğin kesitinde yalancı çok katlı silli prizmatik epitel ile döşeli östaki borusu, epitel altında bağ dokusunda hücre infiltrasyonu ve lümen içinde de eksude olmuş inflamatuvar hücreler izlenmektedir (H.E X400).

Grup 4A (Çalışma grubu)

Grup 4A'ya ait orta kulak örneklerinin incelemesinde minimal hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 31). Sadece iki timpan membranda fibroze bağlı kalınlaşma gözlemlendi (Şekil 32). Yine orta kulak mukozasında anlamlı bir fibrozis görülmedi.



Şekil 31. Grup 4A'ya ait bir örnekte dış kulak yolu ve timpan membran izlenmektedir (H.E X100).



Şekil 32. Grup 4A'ya ait örnekte timpan membranının her iki tarafında da hücre infiltrasyonu gözlenmemektedir. Timpan zarında fibrosizme bağlı kalınlaşma izlenmektedir (H.E X400).

Tablo 2. Çalışma orta kulak ışık mikroskopik histolojik bulgu skorları.

KULAK	DAMARLANMA ARTIŞI	İLTİHABİ HÜCRE İNFİLTRASYONU	FİBROZİS
GRUP 1A ORTA KULAK MUKOZASI			
1	0	3	0
2	0	3	0
3	0	3	0
4	0	2	0
5	0	3	0
6	0	3	0
7	0	2	0
8	0	2	0
9	0	3	0
10	0	2	0
GRUP 2A ORTA KULAK MUKOZASI			
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
GRUP 3A ORTA KULAK MUKOZASI			
1	0	3	0
2	0	3	0
3	0	3	0
4	0	2	0
5	0	2	0
6	0	3	0
7	0	3	0
8	0	3	0
9	0	3	0
GRUP 4A ORTA KULAK MUKOZASI			
1	0	1	0
2	0	1	0
3	0	0	0
4	0	1	0
5	1	1	0
6	0	0	0
7	0	0	1
8	0	1	0
9	0	1	0
10	0	1	0

Skorlar: 0 = Yok, 1 = hafif, 2 = Orta ve 3 = şiddetli

Kontrol gruplarında patolojik bulgu izlenmediğinden tabloda bunlara yer verilmemiştir.

Grup 1A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında orta kulak mukozasında iltihabi hücre infiltrasyonu açısından, çalışma grubunda anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$).

Grup 2A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Grup 3A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında orta kulak mukozasında iltihabi hücre infiltrasyonu açısından, çalışma grubunda anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0,00$).

Grup 4A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında orta kulak mukozasında yine iltihabi hücre infiltrasyonu açısından, çalışma grubunda anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,001$).

Çalışma grupları kendi aralarında karşılaştırıldı. Grup 1A ve Grup 2A arasında orta kulak mukozasında hücre infiltrasyonu açısından Grup 1A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Grup 2A ve Grup 4A karşılaştırıldığında orta kulak mukozası hücre infiltrasyonu açısından Grup 4A lehine (hafif derecede) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,008$). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Grup 3A ve grup 4A karşılaştırıldığında orta kulak mukozası hücre infiltrasyonu açısından Grup 3A lehine (orta-şiddetli derecede) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0,05$).

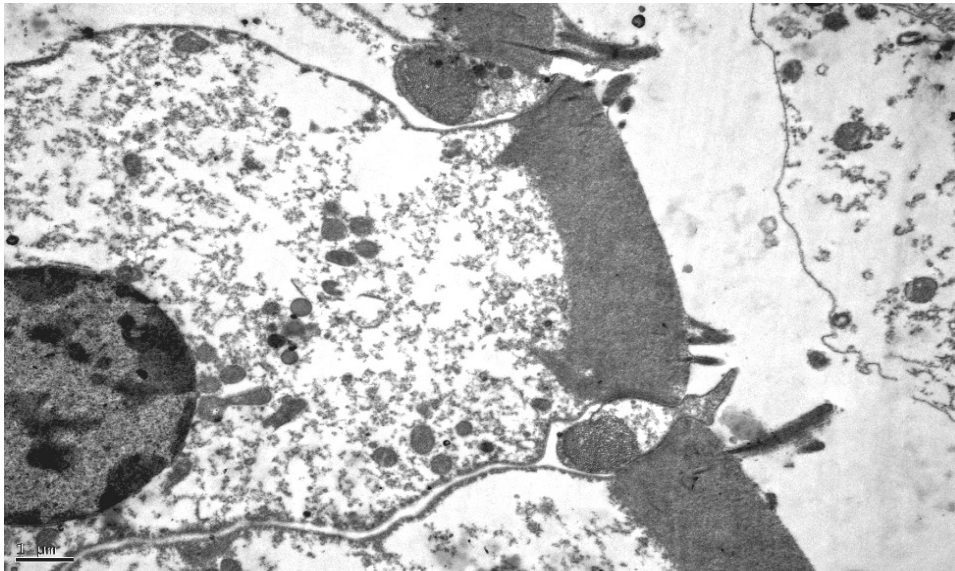
Grup 1A ve grup 3A karşılaştırıldığında ise hiçbir parametrede, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0,05$).

ELEKTRON MİKROSKOBİK BULGULAR

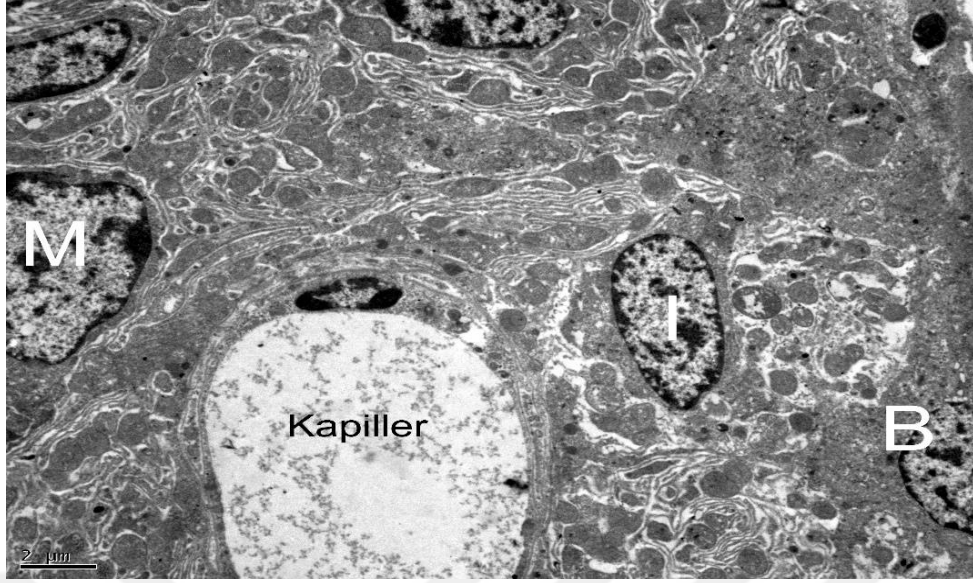
Çalışmamızda toplamda 8 grupta 74 kulağın kokleası elektron mikroskopik olarak değerlendirildi (Tablo 3).

Kontrol grubu iç kulak örneklerinin elektron mikroskop altında incelemesinde korti organında yer alan silindirik dış tüy hücrelerinin bazale yakın yerleşimli çekirdekleri, sitoplazmada mitokondriyonlar ve apikalinde kutikula ve sterosilyumlar izlendi (Şekil 33). Marginal, intermediate, bazal hücreler ve arasında kapillerler ile stria vaskularis normal morfolojik yapıda gözlendi (Şekil 34). Marjinal hücrelerin apikallerinde mikrovillusları, sitoplazmasında salgı vezikülleri mitokondriyonlar içeren lateral ve bazal katlantıları gözlendi (Şekil 35, 36). Bazalde yerleşen bazal hücreler organelden fakir sitoplazmaları ve yassı çekirdekleri ile ayırt edildi. Bazal ve marjinal hücreler arasında, marjinal hücrelerin lateral ve bazal katlantıları arasında intermediate hücreler gözlendi.

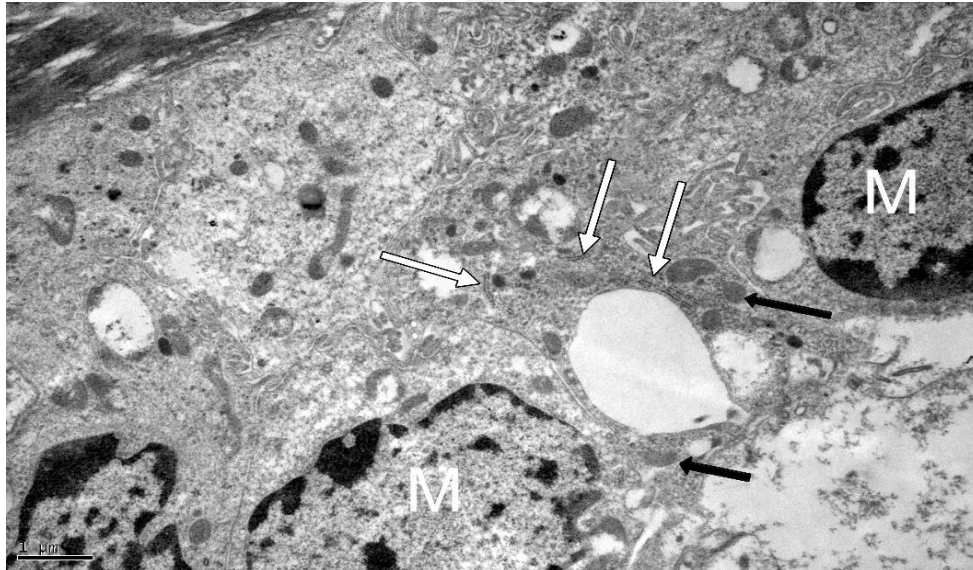
Kontrol gruplarının elektron mikroskopik incelemelerinin hiç birinde korti organında hücre infiltrasyonu, korti dejenerasyonu, stria vasculariste ödem ve hücre dejenerasyonu görülmedi.



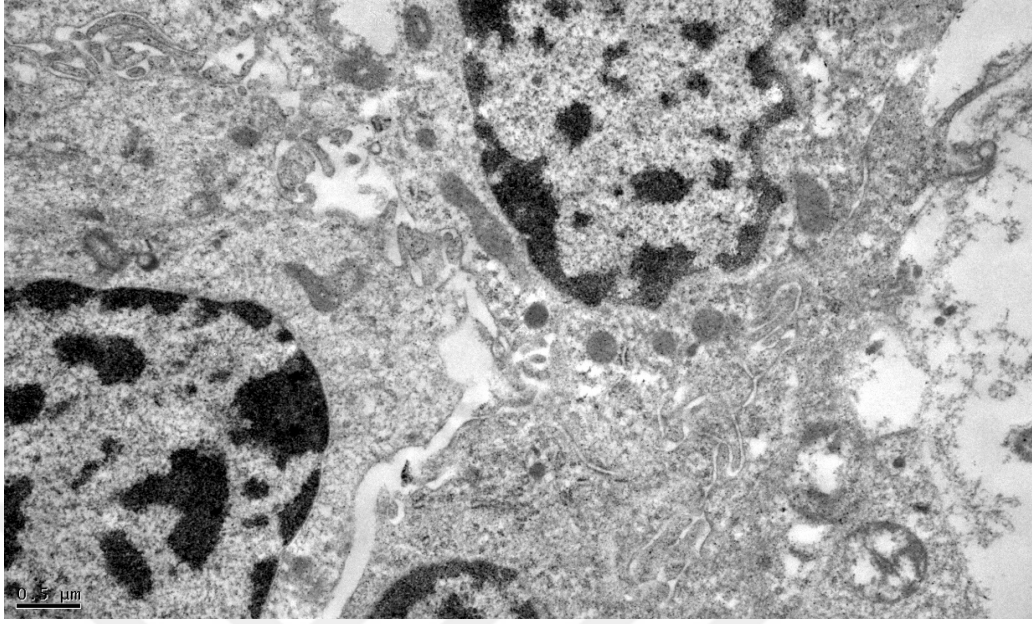
Şekil 33. Kontrol grubunda bir örnekte dış tüy hücresinin elektron mikroskopisi. Dış tüy hücrelerinin apikalinde sterosilyumlar gözlenmektedir. Sitoplazmada mitokondriyonlar izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X12 000).



Şekil 34. Kontrol grubunda bir örnekte stria vasküleriste yer alan marjinal hücreler (M), intermediate (I), bazal (B) hücreler ve intraepitelyal kapiller izlenmektedir. Marjinal hücrelerin bazal ve lateral katlantıları gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 6000).



Şekil 35. Kontrol grubunda bir örnekte stria vasküleriste yer alan marjinal (M) hücrelerin sitoplazmasında granüllü endoplazma retikulumu (beyaz ok), salgı granülleri (siyah ok) izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X15 000).

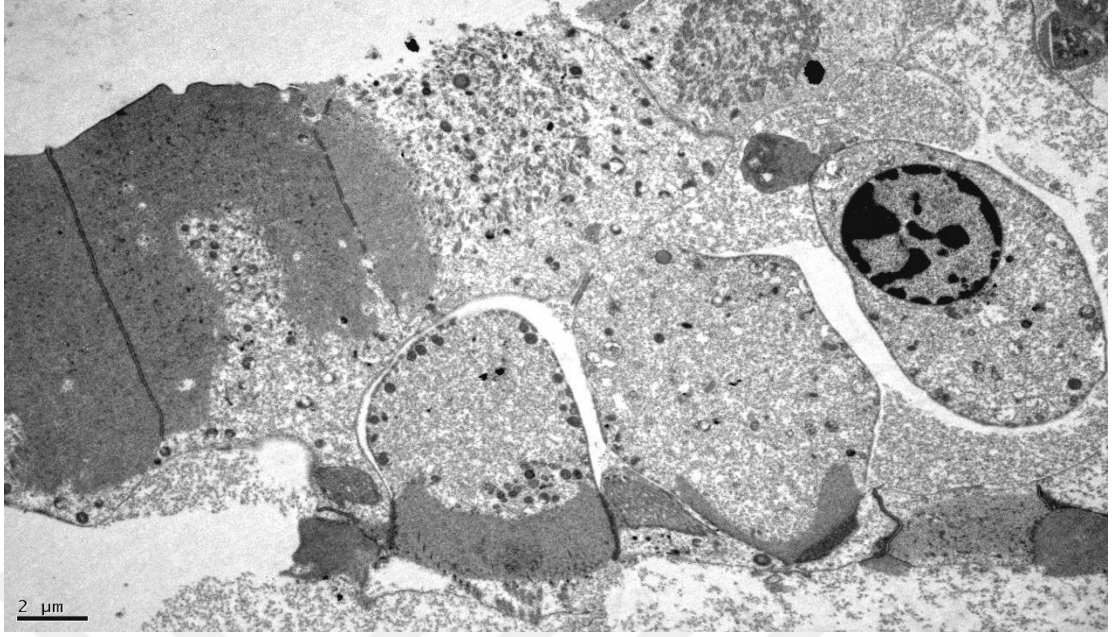


Şekil 36. Marjinal hücrelerin lümeneye doğru uzanan mikrovillusları, hücre içinde salgı vezikülleri, komşu marjinal hücreler arasında bağlantı birimleri izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 25 000).

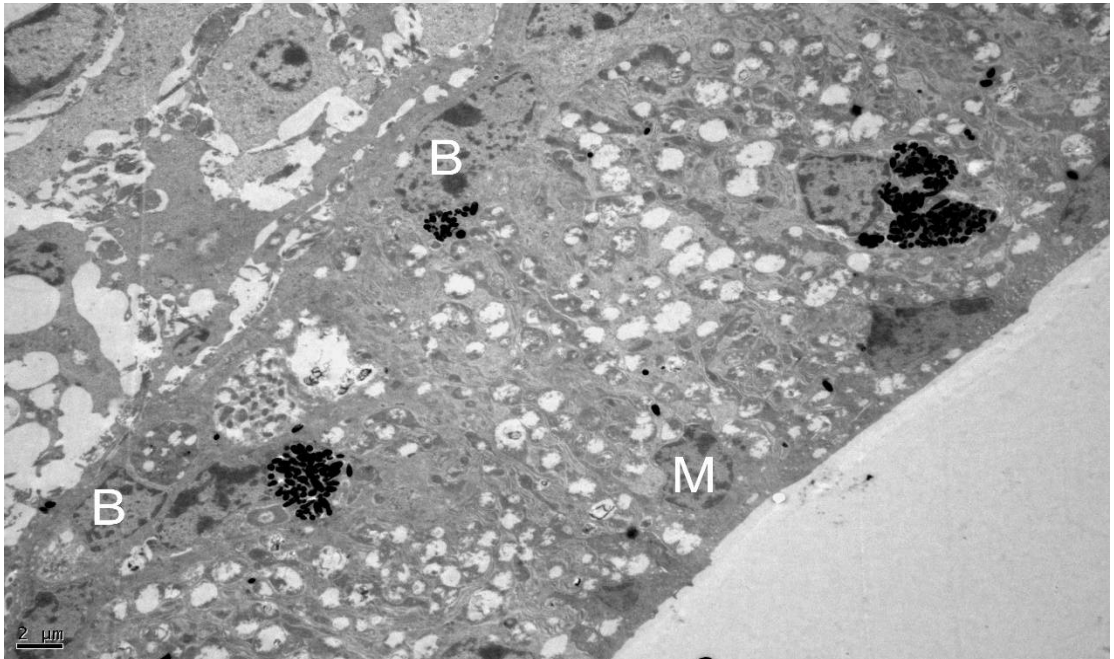
Grup 1A (Çalışma grubu)

Grup 1A'ya ait örneklerin elektron mikroskopta incelemesinde dış tüy hücreleri apikalinde kutikula ve sterosilyumları, hücre membran altına dizilmiş mitokondriyonlar ile normal yapıda izlendi (Şekil 37). Stria vasküleriste yer yer bazı hücrelerde elektron dens lipofuskin birikimi gözlemlendi (Şekil 38). Marjinal hücrelerin bazal ve lateral katlantıları arasında yer alan mitokondriyonlar şiş, kristalleri silinmişti (Şekil 39).

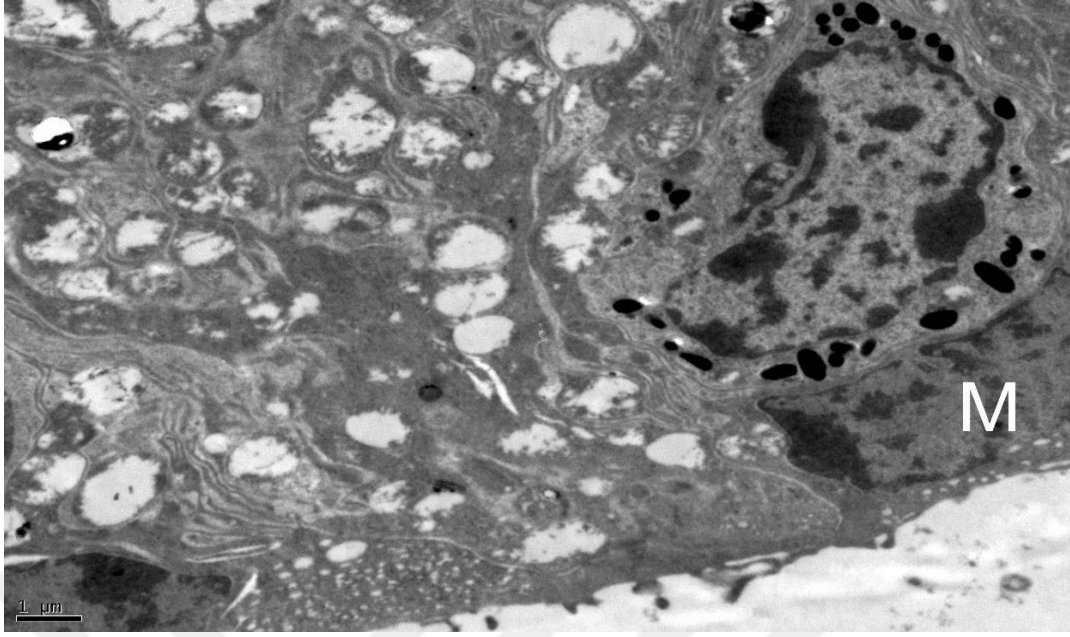
Grup 1A'da korti organında hücre infiltrasyonu, korti organı ve stria vasküleriste dejenerasyon açısından genel olarak hafif derecede değişiklikler görüldü.



Şekil 37. Grup 1A'da bir örnekte dış tüy hücreleri apikalinde kutikula ve stereosilyumları, hücre membran altına dizilmiş mitokondriyonlar ile normal yapıda izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 6000).



Şekil 38. Grup 1A bir örnekte stria vasküleriste yer yer bazı hücrelerde elektron dens lipofuskin birikimi, marjinal hücrelerin bazal ve lateral membrane katlantılarında boş alanlar gözlenmektedir. M: marjinal hücre, B: bazal hücre (Uranil asetat-Kurşun sitrat X4000).

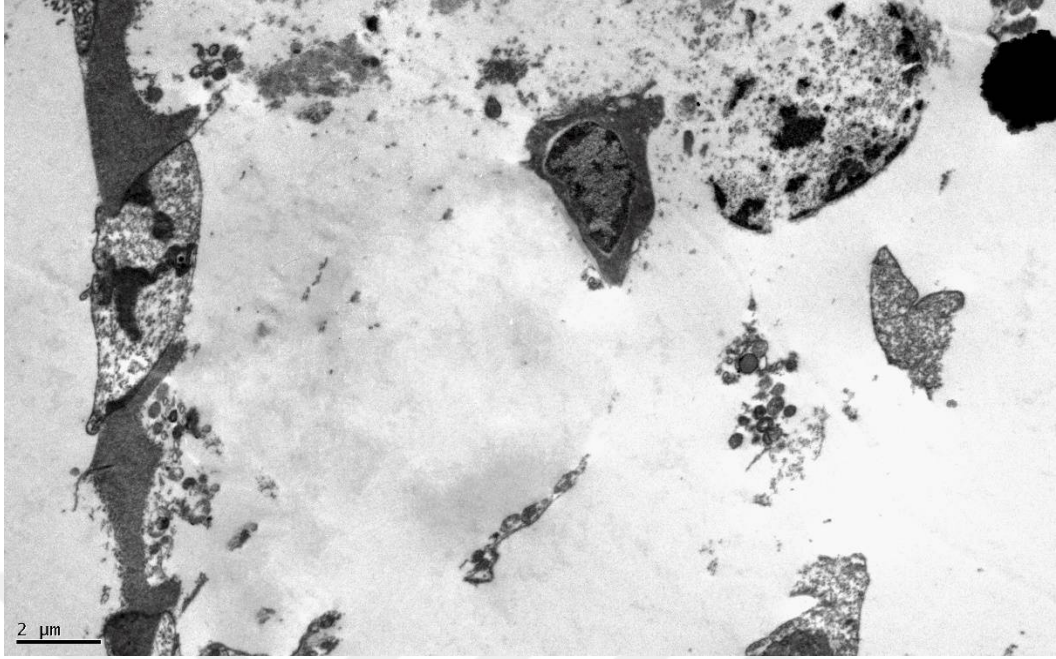


Şekil 39. Grup 1A'ya ait örneğin daha büyük büyütmesinde lümeneye yakın yerleşimli marjinal hücre (M), hemen onun altında yer alan hücrede elektron dens lipofuskin birikimi gözlenmektedir. Marjinal hücrelerin bazal ve lateral katlantıları arasında yer alan mitokondiryonlarda şişme, kristalarında silinme izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X12 000).

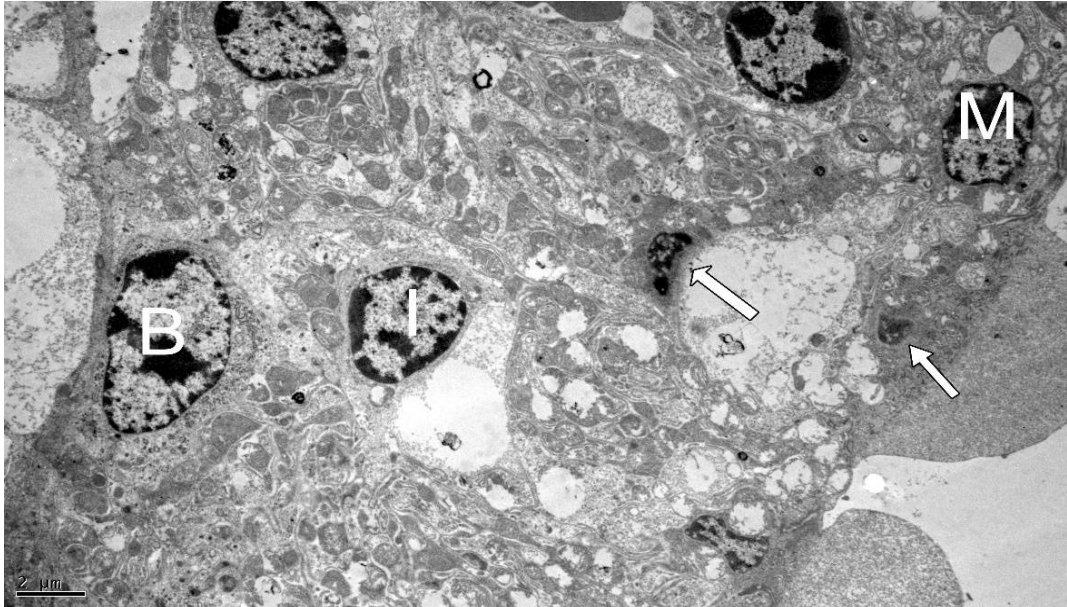
Grup 2A (Çalışma)

Grup 2A ya ait örneklerin elektron mikroskopta incelemesinde dış tüy hücrelerinin sadece apikalde kutikulaları izlendi. Hücre sitoplazması ve sitoplazma içeriği dağılmıştı. Çekirdek seviyesinde gözlenen çekirdeğin perinukleer aralığı genişlemiş etrafı bir parça koyu dansiteli sitoplazma ile çevriliydi. İncelenen alanda dağılmış çekirdek parçaları gözlemlendi (Şekil 40). Stria vasküleriste mitokondriyonlar grup1A'ya göre daha korunmuştu ancak piknotik çekirdekli ve çevreden ayrılmış hücreler, marjinal ve intermediate hücreler arasında geniş boşluklar ile hücre hasarı daha belirgindi (Şekil 41, 42).

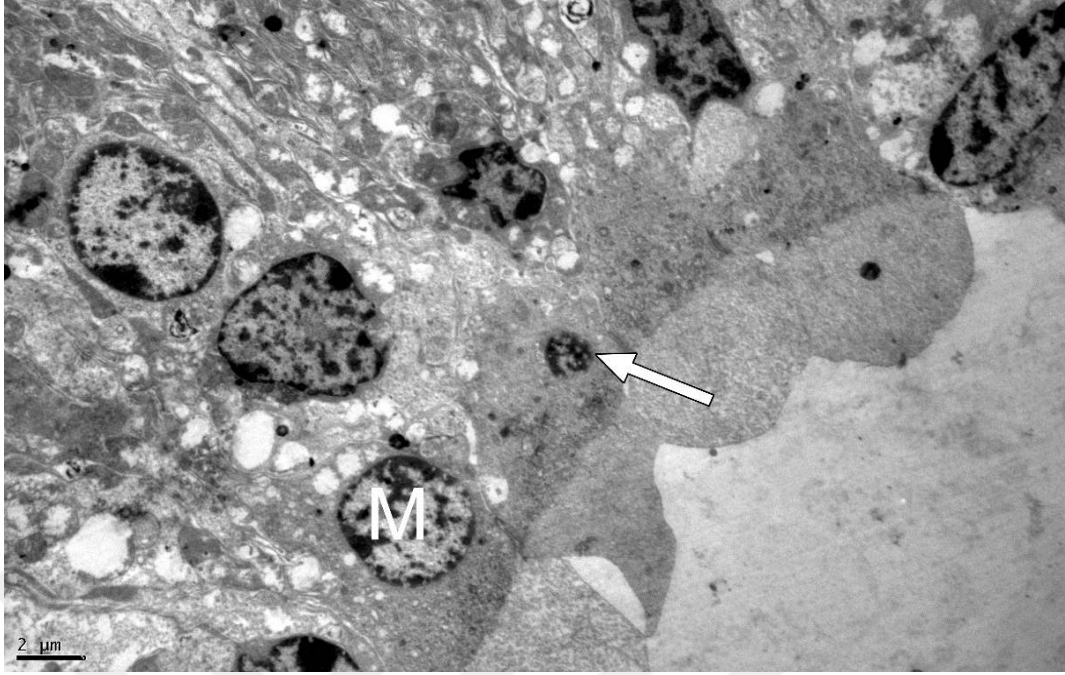
Grup 2A'da korti organında hafif derecede hücre infiltrasyonu, stria vasküleriste orta derecede dejenerasyon, korti organında ise şiddetli derecede dejenerasyon görülmüştür.



Şekil 40. Grup 2A'ya ait örnekte dış tüy hücrelerinin apikalde sadece kutikuları izlenmektedir. Çekirdek seviyesinde etrafı koyu dansiteli ince sitoplazma ile çevrili, perinukleer aralığı genişlemiş çekirdek ve komşuluğunda başka dağılmış çekirdek parçaları gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X8000).



Şekil 41. Grup 2A'ya ait bir örnekte stria vaskulariste korunmuş ve dejenere mitokondriyonlar, piknotik çekirdekli (beyaz ok) ve çevreden ayrılmış hücreler, marjinal hücreler ile intermediate hücreler arasında geniş boşluklar gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X6000).

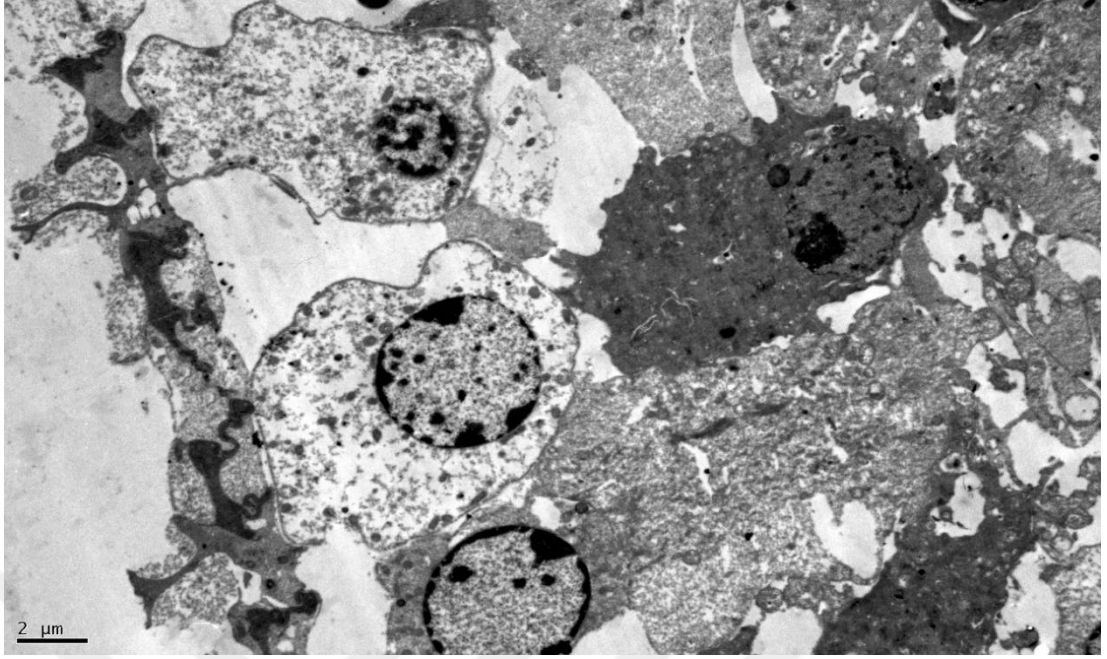


Şekil 42. Grup 2A'ya ait örnekte stria vasküleriste korunmuş ve dejenere mitokondriyonlar, piknotik çekirdekli (beyaz ok) hücreler gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X6000).

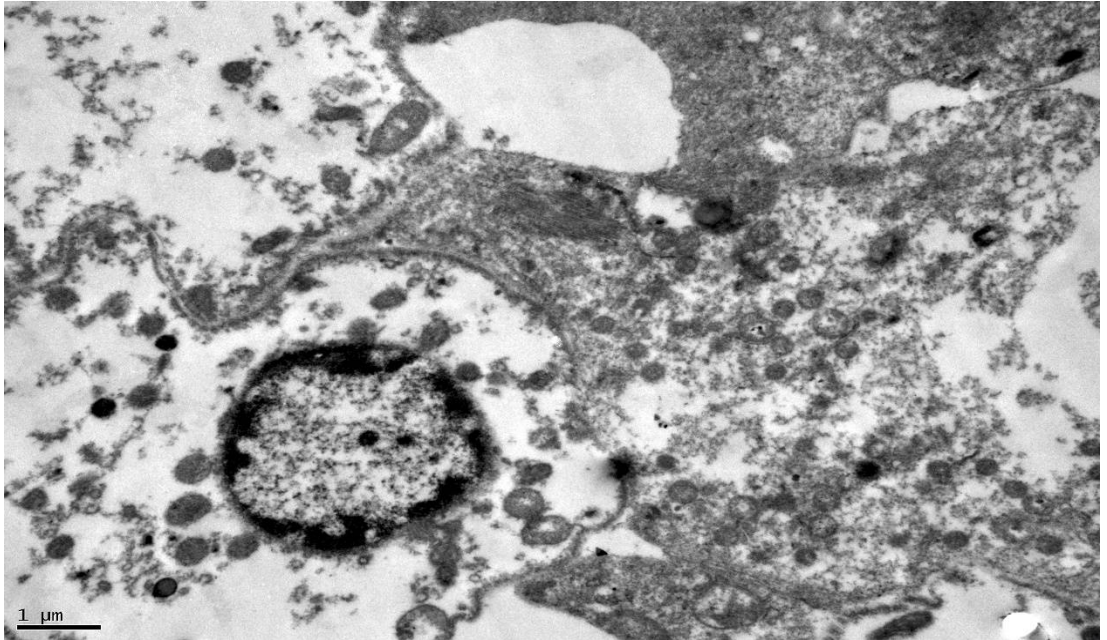
Grup 3A (Çalışma grubu)

Grup 3A'ya ait örneklerin elektron mikroskopta incelemesinde silindirik dış tüy hücreleri açık renkli sitoplazması, sitoplazmada mitokondriyonlar bazale doğru yerleşmiş çekirdekleri ile gözlendi. Dış tüy hücrelerinin bazalde dış falangeyal hücreler ile sinapsları izlendi (Şekil 43). Bazı örneklerde dış tüy hücrelerinde sitoliz gözlendi (Şekil 44, 45). Stria vasküleriste intermediate hücrelerin sitoplazmasında ve marjinal hücrelerin bazal ve lateral katlantılarında mitokondriyonların yanında sitoplazmada elektron dens lipofuskin birikimi gözlendi (Şekil 46). Intermediate hücrelerin sitoplazmasında geniş boşluklar ile hücre hasarı gözlendi (Şekil 47).

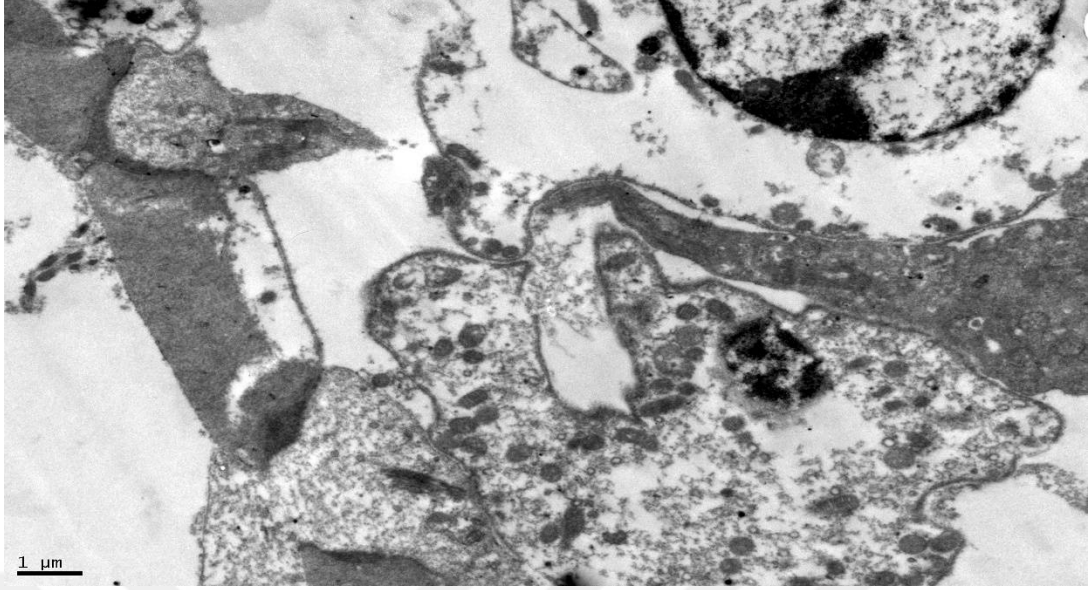
Grup 3A'da stria vasküleriste hafif derecede ödem, orta derecede dejeneratif değişiklikler görüldü. Korti organında ise orta derecede dejeneratif değişiklikler görülürken şiddetli derecede hücre infiltrasyonu görülmüştür.



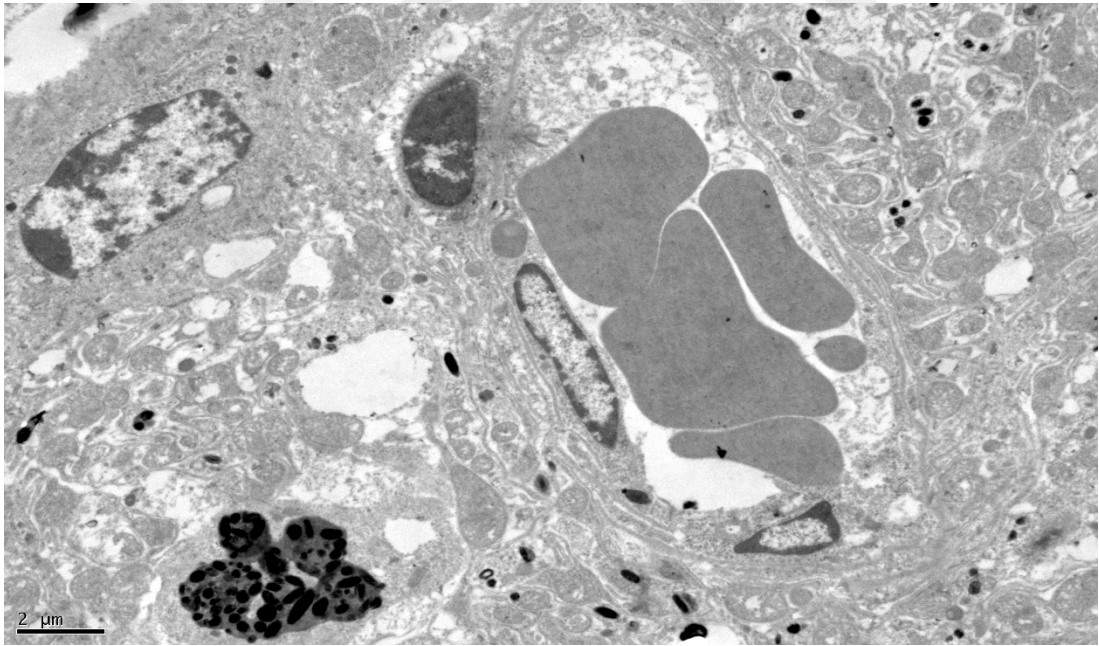
Şekil 43. Grup 3A'ya ait örnekte korti organında açık renkli sitoplazması, sitoplazmada mitokondriyonlar bazale doğru yerleşmiş çekirdekleri ile dış tüy hücreleri ve onları destekleyen apoptotik dış falangeyal hücreler gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 6000).



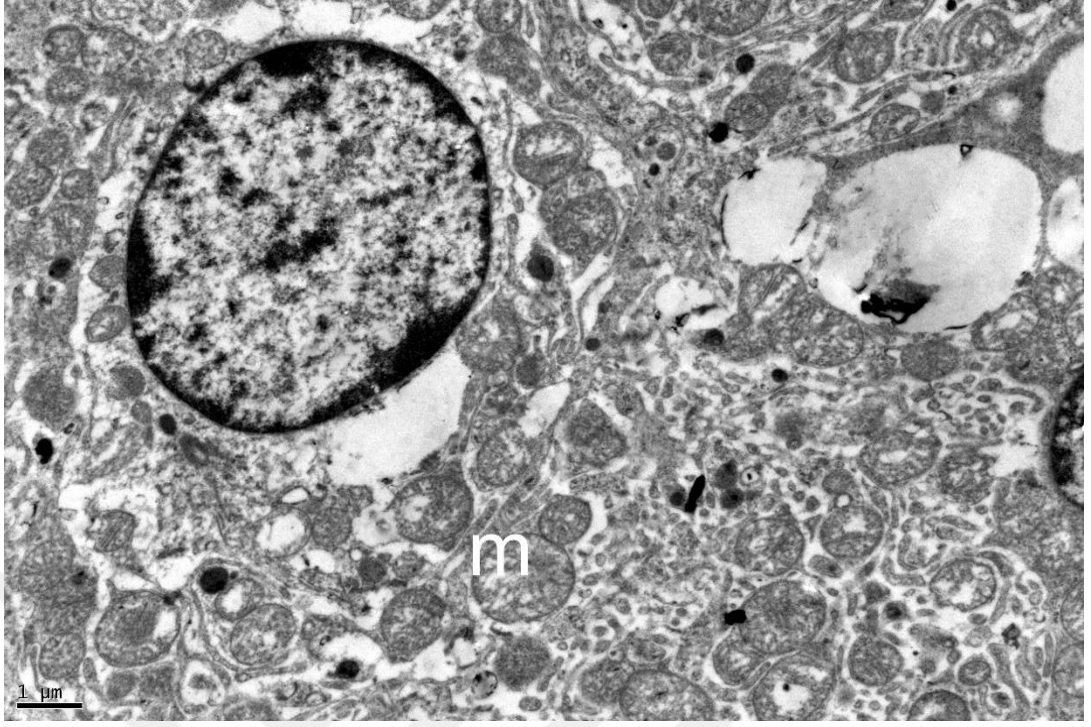
Şekil 44. Grup 3A'ya ait bir örneğin daha büyük büyütmesinde dış tüy hücrelerinde açık renkli sitoplazması ile sitoliz, sitoplazmada mitokondriyonlar, ökromatik çekirdekleri gözlenmektedir. Dış tüy hücrelerinin dış falangeyal hücreler ile sinapsları izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X15 000).



Şekil 45. Grup 3A'da dış tüy hücrelerinin sterosilyumlarının yer yer korunduğu gözlenmektedir. Komşu iki dış tüy hücrelerinden birinin apoptotik çekirdeğe sahip olduğu izlenmektedir. Dış tüy hücresi tabanını dış falangeyal hücre tarafından sarıldığı ve iki hücre arasında bağlantının korunduğu izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X12 000).



Şekil 46. Grup 3A'ya ait örnekte intraepitelyal kapiller, bazal, intermediate hücreler ve marjinal hücrelerin mitokondriyon içeren bazal ve lateral katlantıları gözlenmektedir. Intermediate hücrelerin sitoplazmasında ve marjinal hücrelerin bazal ve lateral katlantılarında mitokondriyonların yanında sitoplazmada elektron dens lipofuskin birikimi gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 8000).

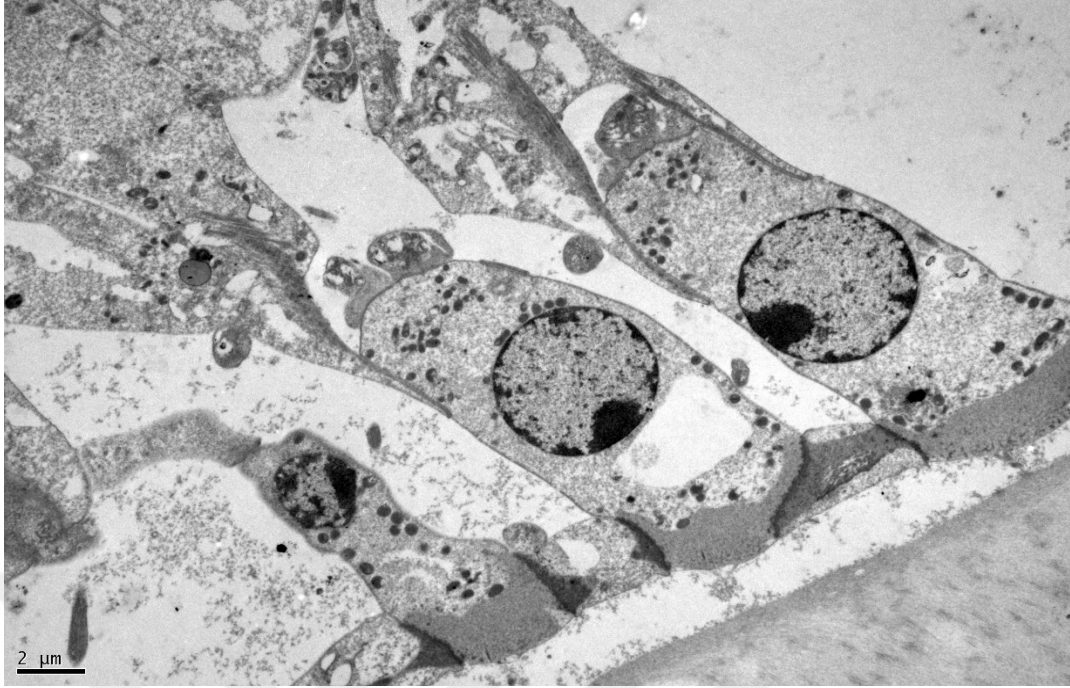


Şekil 47. Grup 3A'ya ait bir örnekte stria vasküleriste intermediate hücrelerin sitoplazmasında geniş boşluklar ile hücre hasarı gözlenmektedir. m: mitokondriyon (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 12 000).

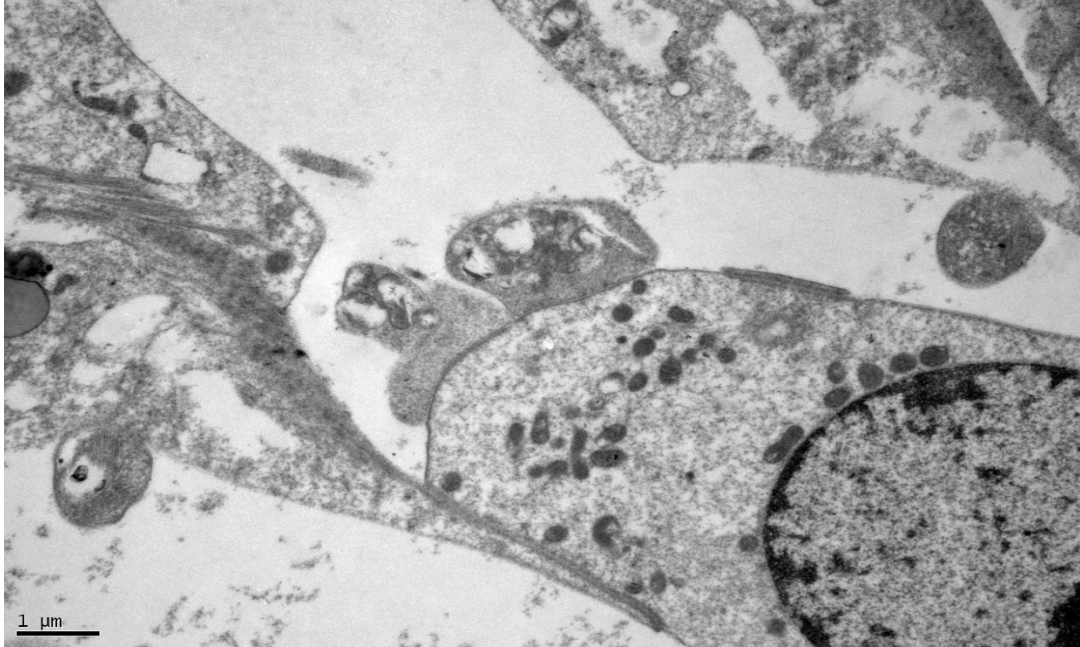
Grup 4A (Çalışma grubu)

Grup 4A'ya ait örneklerin elektron mikroskopta incelemesinde bir örnekte dış tüy hücreleri altında sinaptik alanda afferent ve efferent aksonlarda dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 48, 49, 50). Diğer bir örnekte dış tüy hücrelerinin apikalde steriosilyumları soluk sitoplazması içinde hücre iskeleti elemanları izlendi (Şekil 51, 52). Stria vasküleriste marjinal hücrelerin hücre membran katlantılarında bozulma ve kaybın yanısıra intermediate hücrelerde dejenerasyon izlendi. Epitel içindeki hücrelerde bozulmaya bağlı hücreler arasında geniş boşluklar ve stria vaskularis hasarı daha belirgindi (Şekil 53).

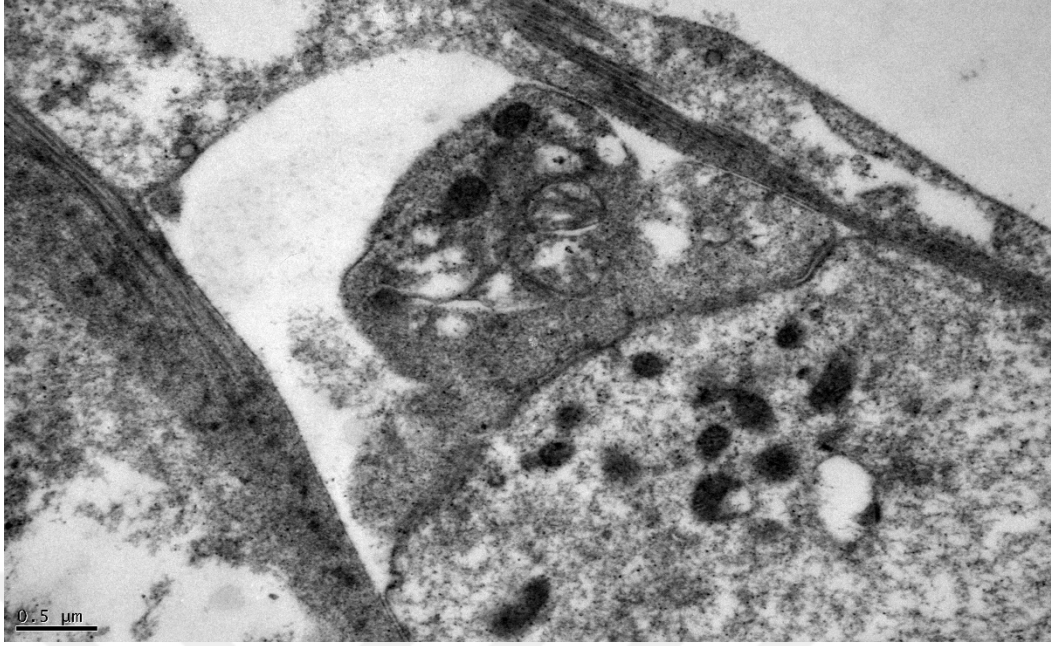
Grup 4A'da korti organında hafif derecede hücre infiltrasyonu şiddetli derecede dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir. Stria vasküleriste hafif derecede ödem görülürken şiddetli derecede dejeneratif değişiklikler izlenmiştir.



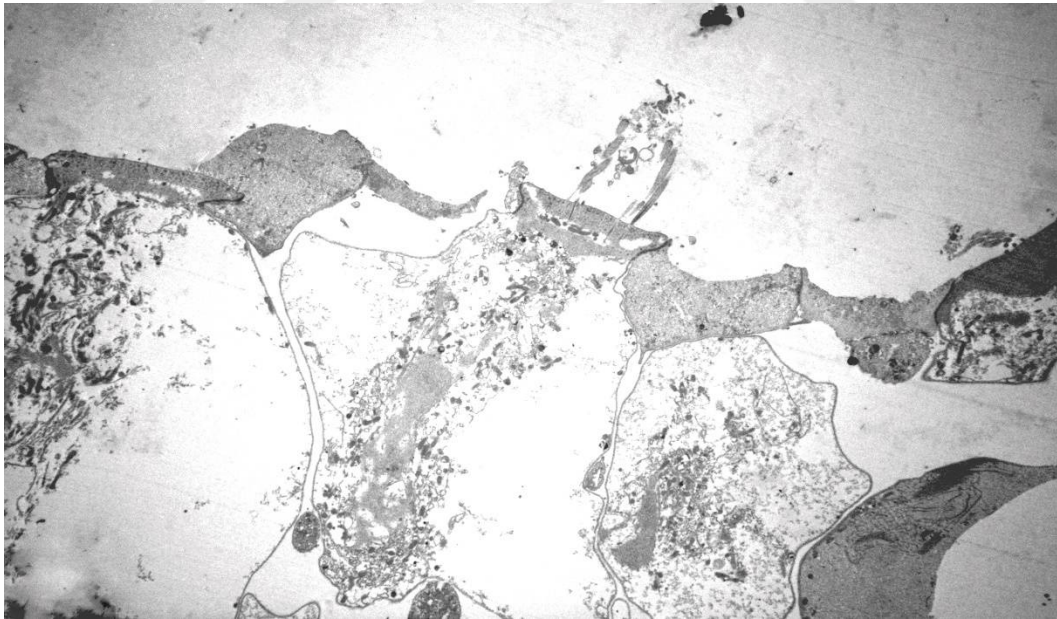
Şekil 48. Grup 4A'ya ait örnekte dış tüy hücreleri altında sinaptik alanda afferent ve efferent aksonlarda dejenerasyon gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 6000).



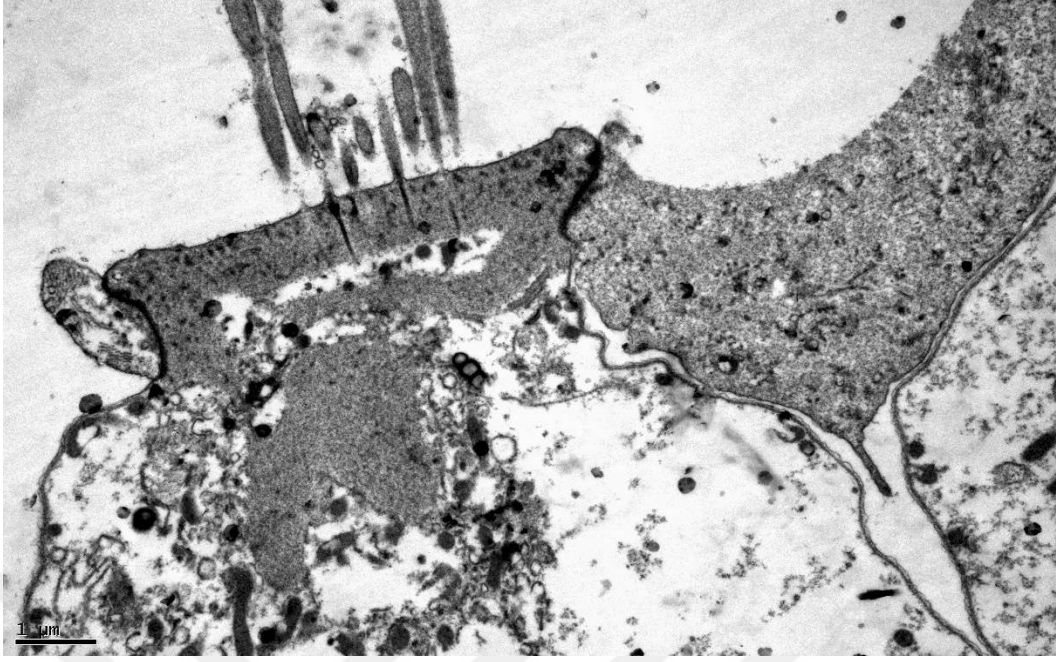
Şekil 49. Grup 4A'ya ait örneğin büyük büyütmesinde orta sıra dış tüy hücresi, altında sinaptik alan ve dış falangeyal hücrenin uzantısı izlenmektedir. Sinaptik alanda aksonlarda dejenerasyon izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X15 000).



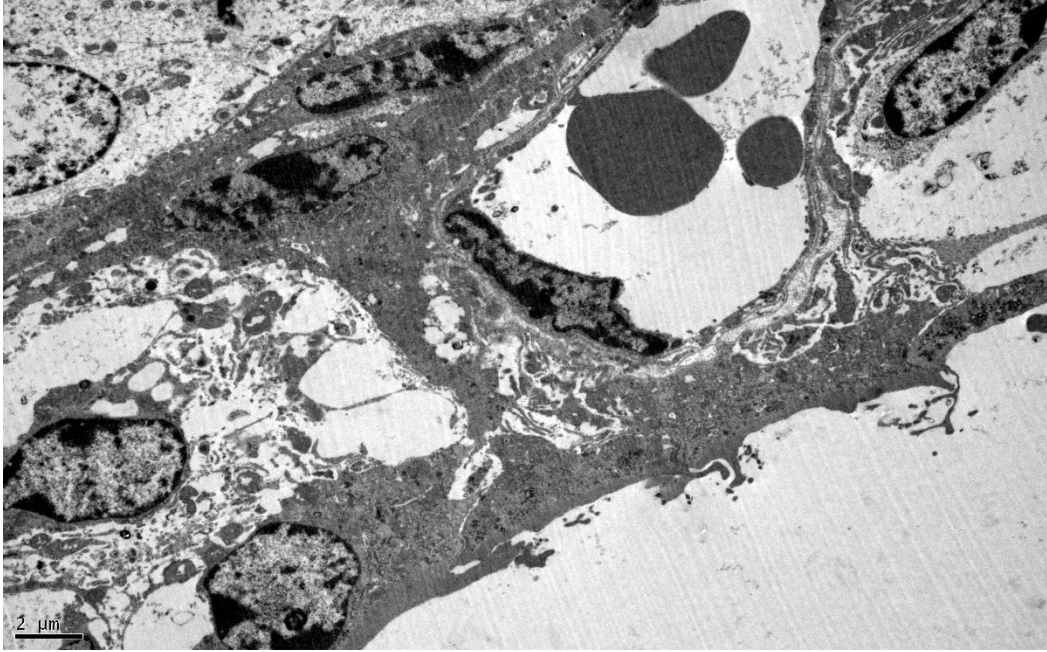
Şekil 50. Grup 4A'ya ait örnekte dış tüy hücresi, altında sinaptik alan izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X30 000).



Şekil 51. Grup 4A'ya ait başka bir örnekte dış tüy hücrelerinin apikalde stereosilyumları soluk sitoplazması içinde hücre iskeleti elemanları izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X4000).



Şekil 52. Grup 4A'ya ait bir örneğin büyük büyütmesinde dış tüy hücrelerinin apikalde stereosilyumları, yer yer içeriği kaybolmuş sitoplazma izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 15 000).



Şekil 53. Grup 4A'ya ait bir örnekte belirgin stria vaskularis hasarı gözlenmektedir. Stria vasküleriste marjinal hücrelerinin hücre membran katlantılarında bozulma ve kayıp, intermediate hücrelerde dejenerasyon izlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun sitrat X 6000).

Tablo 3. Çalışma grupları iç kulak elektron mikroskopik histolojik bulgu skorları.

KULAK	KORTİ ORGANI HÜCRE İNFİLTASYONU	KORTİ ORGANI DEJENERATİF DEĞİŞİKLİKLER	STRİA VASKÜLARİSDE DEJENERATİF DEĞİŞİKLİKLER	STRİA VASKÜLARİSDE ÖDEM
GRUP 1A KOKLEA				
1	3	1	2	0
2	1	1	1	0
3	2	1	1	0
4	1	2	1	0
5	1	2	1	0
6	2	1	1	0
7	1	1	1	0
8	3	1	2	0
9	1	0	0	0
10	1	1	1	0
GRUP 2A KOKLEA				
1	1	2	2	0
2	1	3	2	0
3	0	3	2	0
4	1	3	2	0
5	1	3	2	0
6	1	3	2	0
7	1	3	2	0
8	0	3	2	0
9	1	3	2	0
10	1	2	2	0
GRUP 3A KOKLEA				
1	3	2	2	1
2	1	2	2	1
3	3	1	2	0
4	3	2	2	1
5	3	2	2	1
6	3	1	2	0
7	1	2	2	1
8	3	2	2	1
9	2	2	2	1
GRUP 4A KOKLEA				
1	1	3	3	1
2	1	1	2	1
3	0	3	3	1
4	1	3	3	1
5	1	3	3	1
6	1	3	3	1
7	1	3	3	1
8	0	3	3	1
9	1	1	2	1
10	1	2	3	0

Skorlar: 0 = Yok, 1 = hafif, 2 = Orta ve 3 = şiddetli

Kontrol gruplarında patolojik bulgu izlenmediğinden tabloda bunlara yer verilmemiştir.

Grup 1A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, korti organında hücre infiltrasyonu, korti ve stria vaskülarisde dejenerasyon açısından çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$).

Grup 2A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, korti organında hücre infiltrasyonu, korti ve stria vaskülarisde dejenerasyon açısından çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$).

Grup 3A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, korti organında hücre infiltrasyonu, korti ve stria vaskülarisde dejenerasyon, stria vaskülarisde ödem de dahil olmak üzere tüm parametrelerde çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$).

Grup 4A, patolojik bulgu izlenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, korti organında hücre infiltrasyonu, korti ve stria vaskülarisde dejenerasyon, stria vaskülarisde ödem de dahil olmak üzere tüm parametrelerde çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$).

Çalışma grupları kendi aralarında karşılaştırıldı. Grup 1 A ve grup 2 A karşılaştırıldığında stria vaskülarisde ödem açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken ($p=1,00$) korti organında hücre infiltrasyonu açısından grup 1A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,15$). Korti organı ve stria vaskülarisde dejenerasyon açısından grup 2A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$, $p=0,00$).

Grup 2A ve Grup 4A karşılaştırıldığında korti organında hücre infiltrasyonu ve dejenerasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken ($p=1,00$, $p=0,485$) stria vaskülarisde ödem ve dejeneratif değişiklikler açısından grup 4A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,00$, $p=0,00$).

Grup 3A ve grup 4A karşılaştırıldığında stria vaskülarisde ödem açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($p=0,478$) korti organında hücre infiltrasyonu açısından grup 3A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,001$). Korti organı ve stria vaskülarisde dejeneratif değişiklikler açısından gruplar karşılaştırıldığında grup 4A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p= 0,025$, $p=0,01$).

Grup 1A ve grup 3A karşılaştırıldığında korti organında hücre infiltrasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken ($p=0,051$) stria vaskülarisde ödem, korti organı ve stria vaskülarisde dejenerasyon açısından grup 3A lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p= 0,01$, $p=0,013$, $p=0,01$) .

4. TARTIŞMA

İntratimpanik uygulama sıvı bir ilacın orta kulak boşluğuna enjeksiyon ile, ventilasyon tüpü yardımıyla, transtubal, transmeatal kateterler yardımıyla orta kulağa verildikten sonra ilacın doğrudan yuvarlak pencere membranı ile temas ederek difüzyon yoluyla iç kulağa geçmesi yada lateral semisirküler kanala açılan fenestra yoluyla vestibüler labirentin içine perfüzyon yoluyla geçmesini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Timpanik kaviteye enjekte edilen ilaçların yuvarlak pencere yoluyla iç kulağa geçişi iç kulak hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir çeşit hedef tedavi yöntemini oluşturur (43).

Tedavide intratimpanik yolun seçilmesinin teorik olarak iki avantajı bulunmaktadır; birincisi yuvarlak pencere membranı yoluyla direkt geçiş sağlaması sonucunda yüksek perilemf düzeylerinin elde edilmesi, ikincisi ise sistemik olarak verilen ilacın yan etkilerinden kaçınılmış olmasıdır (43).

İç kulak hastalıklarının intratimpanik tedavisine olan ilgi son yirmi yılda önemli ölçüde artmıştır. Bu lokal ilaç uygulaması yaklaşımına olan ilgi artışı, hayvan çalışmaları ile birlikte iç kulak farmakolojisi ve farmakokinetiğini anlamamızla artan bilgilerle açıklanabilir. Bununla birlikte, iç kulak rahatsızlıklarında lokal terapinin avantajları ve kullanımıyla artan konfor seviyesinin kulak burun boğaz hekimlerince artan farkındalığın da etkisi vardır (44).

İntratimpanik teknik bugün primer olarak ani işitme kaybının steroidlerle ikinci basamak tedavisinde, Meniere hastalığında gentamisin ile vestibüler saçlı hücrelerin kimyasal ablasyonunda ve tinnitus tedavisinde kullanılmaktadır (44). Yapılan çalışmalara bakıldığında intratimpanik tedavinin primer tedavi yeri iç kulak olmakla birlikte orta kulak hastalıklarında intratimpanik tedavinin yeri hakkında pek çalışmaya rastlanılmadı.

Biz çalışmamızda intratimpanik tedavi ajanı olarak Picibanil'i (OK 432) değerlendirdik. Çeşitli tedavi amaçlarıyla kullanılan Picibanil'in kulakta tedavi amacıyla yapılmış, literatürde herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Picibanil'in orta kulak üzerine etkisi, koklea üzerine etkisi, ototoksitesisi araştırılıp orta kulak ve iç kulak patolojilerinde tedavi ajanı olarak kullanılıp kullanılmayacağı hakkında fikir sahibi olabilmek için bu ilacı intratimpanik olarak uyguladık.

OK-432 Japonya'da 1975 yılında sağlık bakanlığı tarafından bir anti kanser ajanı olarak imal edilmek üzere onaylanmıştır. OK-432 şu endikasyonlarda onay almıştır:1) Gastrik kanser (postoperatif vakalar) veya primer akciğer kanseri olan hastalarda kemoterapi ile birlikte sağkalım süresinin uzatılması, 2) gastrointestinal kanser veya akciğer kanseri olan hastalarda kanserli plevral efüzyon veya asitin azaltılması, 3) baş, boyun kanseri ve diğer ilaçlara dirençli tiroid kanserinde, 4) lenfanjiyomların tedavisinde kullanılması (45).

OK-432, sistemik olarak (intramusküler, subkutanöz veya intradermal enjeksiyon) kullanımının yanı sıra spesifik kanserler için intratümöral veya intraserosal enjeksiyon şeklinde de kullanılabilir. Otuz yılı aşkın klinik kullanım hikayesine sahiptir. Lenfanjiyom için onay aldıktan sonra pediatrik hastalarda da güvenli bir şekilde kullanımı hakkında bilgiler toplanmıştır. En önemli yan etkileri ateş, ağrı, enjeksiyon yerindeki şişme ve kızarıklık, lökositoz, trombositoz ve CRP artışıdır. Yine OK-432 penisilin içerdiğinden dolayı kullanımında aşırı duyarlılık reaksiyonları gelişebilir (46).

OK 432'nin; IL-1, IL-2, IFN-A, TNF, IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF, IL-12 ve IL-18 gibi birçok sitokini indüklediği bildirilmiştir. Bu sitokinlerin bazıları tümör hücrelerinde direkt olarak apoptozisi indükleyip hücre döngülerini değiştirir. OK-432 ile stimüle olan dentritik hücreler ve makrofajlardan üretilen IL-12 ve IL-18 T helper hücreleri uyarıp T helper 1 ve natural killer hücrelerinin aktivitesini artırır (46).

OK 432 nin malign tümörler üzerine etkileri hakkında; kanseröz plevral efüzyon ve asit için intraserosal enjeksiyonu (47-50), yanı sıra baş boyun (51, 52) ve diğer kanserlerde (53, 54) kanserli doku içine uygulanmasıyla kanserli dokunun küçülmesi gibi lokal uygulanmasıyla ilgili çalışmalar bildirilmiştir.

Antitümoral etki için sistemik kullanımı ile ilgi Sakamoto J. ve arkadaşlarının (55) yaptığı bir çalışmada rezeke edilmiş küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde OK-432'nin sistemik kullanımı ile beş yıllık artmış sağ kalım oranları bildirilmiştir. Ayrıca altı merkezde gastrik kanser için küratif rezeksiyon geçiren hastalardan oluşan randomize bir çalışmada OK-432'nin sistemik kullanımı ile uzamış sağkalım oranları bildirilmiştir (56). OK-432'nin oral kullanımı ile ilgili yapılmış faz II çalışmalarda gastrik ve kolorektal kanserli hastalarda, tümör dokusuna karşı artmış natural killer hücre hücre cevabı bildirilmiştir (57-59). Biz de çalışmamızda OK-432'yi sistemik yan etkilerinden kaçınmak ve daha yüksek etki miktarları için lokal olarak uyguladık.

OK-432'nin bir diğer kullanım alanı olan lenfanjiomlar hakkında ilk kez Ogita ve arkadaşları (11, 12) tarafından 1987 yılında çalışmalar bildirilmiştir. Diğer sklerozan maddelere göre OK-432'nin en önemli avantajı lezyon çevresinde fibrozis yaratmaması ve bu sayede daha sonra gerekebilecek bir cerrahi girişimi güçleştirmemesidir (60). OK-432'nin sklerozan etkisi indüklediği sitokinlere bağlı kist içinde oluşturdugu enflamatuvar yanıt ile oluşmaktadır. Bu enflamatuvar yanıt sonucunda kist duvarının permeabilitesi bozulmakta ve duvardaki endotel hasara uğrayarak skleroze olmaktadır (61).

Bu yaygın kullanım alanları dışında OK-432 farklı yerlerde de tedavi ajanı olarak kullanılmıştır. OK-432'nin farklı bir kullanım alanı Matsushita ve arkadaşları (13) tarafından bildirilen rekürren temporomandibular eklem dislokasyonları olmuştur. Yine Şengül ve arkadaşlarının (14) yaptığı bir hayvan çalışmasında, konka hipertrofisinde konkalara enjekte edilip fibrozis oluşturduğu gözlenmiştir. Lenfanjiomlar dışında benign tiroid kistleri (62), intraoral ranula (63) gibi kistik bazı lezyonların tedavisinde de faydalı bulunarak kullanılmıştır. Yine ratlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, sklerozan etkisinden dolayı hafif apne ve horlamada dil hacmini azaltmak için dil kaslarına uygulanıp uzun dönemde fibrozis oluşturduğu bildirilmiştir (64). Literatür taramasında bu farklı kullanım alanları dışında intratimpanik uygulama ile kulak üzerine etkileri hakkında yapılmış bir çalışmaya rastlanılmadı.

Çalışmamızda OK-432'nin tek ve üç enjeksiyonu ile bir hafta ve bir ay sonrasındaki etkilerini karşılaştırmak için dört çalışma grubu ve dört kontrol grubu oluşturduk. Lokal bir tedavi ajanı olarak kullanımını değerlendirmek için intratimpanik (enjeksiyon) olarak uygulandı. Elektrofizyolojik testlerden ABR'de işlem öncesi ve sonrası tüm deneklerde işitme eşiği değişmeyip 10 dB HL'de saptanırken çalışma gruplarının hepsinde DPOAE testlerinde (4444,6154,8889,11429 Hz frekanslarında) SNR oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. SNR oranlarındaki düşme miktarı açısından çalışma grupları karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi.

DPOAE'ler 4-5 kHz üzerindeki frekanslarda TEOAE'den daha üstündür ve konuşma frekanslarının üzerindeki işitme kaybı taramasında önemlidir. DPOAE'lerin yüksek hassasiyet ve iyi frekans özelliği gösteriyor olması, normal duyma fonksiyonu olanlarla ciddi dış tüylü hücre lezyonu olan olguları birbirinden ayırma imkanı vermektedir (65). Kokleadaki küçük fonksiyon defektleri DPOAE ile daha odyogramda belli olmadan önce yakalanabilir. Özellikle yüksek frekans işitmenin DPOAE'leri etkilediği ve püre ton eşikleri ile henüz tesbit edilemeyen dış tüylü hücrelerdeki küçük hasarlara karşı emisyonların daha hassas olduğu bildirilmiştir (66).

Çalışmamızda tesbit ettiğimiz SNR oranlarındaki düşüş, yapılan OK-432 enjeksiyonuna bağlı işitme eşiği değişmemesine rağmen koklear düzeyde etkilenmeyi, dış tüylü hücrelerde hasarını göstermiştir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık çıkmaması gruptaki denek sayılarının fazla olmamasına veya yapılan OK-432 enjeksiyon sayısının daha fazla olmamasına bağlı olabilir.

Yapılan ışık mikroskopik incelemede orta kulak mukozası değerlendirildi. OK-432'nin bilinen inflamatuvar ve buna bağlı gelişen sklerozan etkisini değerlendirmek için orta kulak mukozasında damarlanma artışı, iltihabi hücre reaksiyonu ve fibrozis değerlendirildi. Kontrol gruplarında anlamlı bir patoloji görülmedi. Bir hafta sonra sakrifiye edilen gruplarda orta kulak mukozasında orta-şiddetli derecede iltihabi hücre reaksiyonu görülürken, bir ay sonra sakrifiye edilen gruplarda iltihabi hücre reaksiyonu görülmedi veya hafif derecede birkaç denekte görüldü. Süre ile ters orantılı olarak iltihabi hücre sayısının azaldığı izlendi.

Keskin ve arkadaşlarının (68) yaptığı bir çalışmada, dil kasına yapılan OK-432 enjeksiyonu sonrası erken dönemde sakrifiye edilen deneklerde fibrozis görülmezken geç dönemde sakrifiye edilen deneklerde fibrozis görülmüştür. Bizim çalışmamızda grupların hiç birinde orta kulak mukozasında fibrozis görülmedi. Çalışmamızda denekler en geç bir ay sonra sakrifiye edildiğinden dolayı fibrozis izlenmemesi bu faktöre, zamana, bağlı olabilir.

Yapılan elektron mikroskopik incelemelerde koklea, korti organında hücre infiltrasyonu, dejenerasyon, stria vaskülarisde dejenerasyon ve ödem açısından değerlendirilmiştir. Kontrol gruplarında anlamlı bir patolojik değişiklik görülmemiştir. Çalışma gruplarının hepsinde kokleada, hafiften şiddetli dereceye kadar istatistiksel olarak anlamlı bir dejenerasyon görülmüştür. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kokleadaki dejenerasyon derecesinin enjeksiyon sayısı ve zaman ile doğru orantılı bir şekilde artmış olduğu görüldü.

Biz çalışmamızda antitümöral etkisi nedeniyle çeşitli kanserlerin adjuvan tedavisinde, sklerozan etkisinden dolayı da vasküler ve kistik malformasyonların cerrahi dışı tedavisinde lokal olarak kullanılabilen OK-432'nin, orta kulak ve bazı iç kulak patolojilerinde kullanılabileceğini düşündüğümüzden daha önceden kulak üzerine etkisi bilinmeyen bu ilacın etkilerini ve toksisitesini araştırdık. OK- 432 nin kullanımına bağlı oluşan iltihabi hücre reaksiyonunun zamanla azaldığı ve kısa sürede orta kulakta fibrozis yapmadığını gözlemledik. Ancak uzun vadede orta kulakta fibrozis görülüp görülemeyeceği hakkında yorum yapılamamıştır, bu çalışmamızın eksik taraflarındandır.

OK-432'nin iç kulak üzerine DPOAE'de SNR oranlarında düşme, elektron mikroskopisinde kokleada dejeneratif bulguları ile mikro düzeyde toksik etkileri görülmüştür. OK-432'nin ototoksitesi değerlendirilirken sadece koklea değerlendirilmiş olup vestibüler fonksiyonlar hakkında yorum yapılamamıştır, yine bu da çalışmamızın eksik taraflarından biridir.

Sonuç olarak çalışmamız ile birlikte kulak üzerine etkileri bilinmeyen OK-432'nin intratimpanik kullanımı ile kısa dönemde orta kulakta önemli bir değişiklik olmazken koklea üzerinde mikroskopik düzeyde dejenerasyon ve elektrofizyolojik testler ile de işitme kaybı erken bulguları görülmüş olup ototoksik etkileri gözlemlendi. Çalışmamızın, çeşitli endikasyonlar için lokal kullanımı da mevcut olan OK-432'nin bazı orta kulak ve iç kulak hastalıklarında intratimpanik tedavi ajanı olarak kullanılabileceği çalışmalara öncülük edip, gelecekte yapılabilecek çalışmalara yol gösterebileceğini umut etmekteyiz.



5.KAYNAKLAR

1. Brummett RE, Morrison RB. The incidence of aminoglycoside antibiotic-induced hearing loss. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1990;116:406-410.
2. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt.1-2. Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi. 1998-2002:1-71
3. Ömür M, Dadaş B, editörler. Klinik baş ve boyun anatomisi. Cilt 1. İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi; 1996.
4. Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. Otolaryngol Clin North Am 1993;26:857-71.
5. Riggs LC, Matz GJ, Rybak LP. Ototoxicity. Bailey BJ, Calhoun KH, eds. Head and Neck Surgery- Otolaryngology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 2165-70.
6. Wackym PA, Storper IS, Newman AN. Cochlear and vestibular ototoxicity. Canalis RP, Lampert PR, eds. The Ear: Comprehensive Otolaryngology. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2000:571-585.
7. Degenhardt P, Dieckow B, Mau H. Huge. Intra and extrathoracic lymphangioma in a baby successfully treated by sclerotherapy with OK-432. Eur J Pediatr Surg 2006;16:197-0.
8. Bloom DC, Perkins JA, Manning SC. Management of lymphatic malformations. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2004;12:500-4.
9. Ogita S, Tsuto T, Nakamura K, Deguchi E, Tokiwa K, Iwai N. OK-432 therapy for lymphangioma in children: why and how does it work? J Pediatr Surg 1996;31:477-0.
10. Sichel JY, Udassin R, Gozal D, Koplewitz BZ, Dano I, Eliashar R. OK-432 therapy for cervical lymphangioma. Laryngoscope 2004;114:1805-9.
11. Ogita S, Tsuto T, Tokiwa K, Takahashi T. Treatment of cystic hygroma in children with special reference to OK-432 therapy. Z Kinderchir 1987;42:279-1.
12. Ogita S, Tsuto T, Tokiwa K, Takahashi T. Intracystic injection of OK-432: a new sclerosing therapy for cystic hygroma in children. Br J Surg 1987;74:690-1.
13. Matsushita K, Abe T, Fujiwara T. OK-432 (Picibanil) sclerotherapy for recurrent dislocation of the temporomandibular joint in elderly edentulous patients: Case reports Br J Oral Maxillofac Surg. 2007;45:511-3.
14. Sengul S, Kaygusuz I, Akin MM, Yalcin Ş, Karlidag T, Keles E, Arslan I. The effect of OK-432 (Picibanil) injection on the histopathology of nasal turbinate. J Laryngol Otol. 2015;12:1-5.
15. Michael J.Wareing, Anil K.Lalwani, Robert K. Jackler Development of the ear. Shawn D.Newlands, Karen H. Calhoun, Hugh D. Curtin, Ronald W. Deskin, David E. Eibling, Berrylin J. Ferguson et all (editors) Bailey B. Head & Neck Surgery-Otolaryngology. 4th editio. Philadelphia, USA:Lippincott, Williams & Wilkins; 2006.1869-1881
16. Akyıldız N. Orta kulak anatomisi. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998;1:35-49,

17. Wright T, Valentine P. The anatomy and embryology of the external and middle ear Gleeson M, Browning GG, Burion MJ, Clarka R, Hibbert J, Jones NS et all (editors). Scott-Brown's Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery 7Edt. Great Britain, Hodder Arnold; 2008: 3105-3125
18. Lalwani A. CURRENT Diagnosis and Treatment in Otolaryngology-Head and Neck Surgery. McGraw-Hill Medica; 2007.
19. Gacek R.R. Gacek M.R. Anatomy Of the Auditory And Vestibüler Systems. Snow Jr JB, Ballenger JJ. Ballenger's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery 16ed. Hamilton, Ontario, BC Decker Inc, 2003:1-24
20. Aslan A. Kulak Anatomisi Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş boyun Cerrahisi İkinci Baskı, Ankara, Güneş tıp Kitapevleri, 2013:47-63
21. Abbas PJ. Miller CA. Physiology of auditory system. Cummings CW, Fredrickson LM. Harker LA. Krause CJ. Richardson MA. Schuller DE, eds. Otolaryngology and Neck Surgery . 3th ed. St Louis Missouri. Mosby Year Book Inc. 1993:2566-603
22. Pickles JO. Physiology of hearing. Kerr AG, Gleeson M. Scott-Brown's Otolaryngology. 6 th ed. London. Heinemann Reed Educational and Professional Puplishing Ltd. 1997;2:1-34
23. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ears. Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL, eds. Otolaryngology. 3th ed. Philadelphia. WB Saunders Co. 1991;23-58
24. Kathleen C.M. Campbell, James E.Peck, K.J.Lee. Audiology. K.J.Lee ed. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. 9th ed. New York, USA. The McGraw-Hill Companies. 2008:24-69
25. Pickles JO. Physiology of hearing. Gleeson M, Browning GG, Burion MJ, Clarka R, Hibbert J, Jones NS et al (editors). Scott-Brown's Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery 7 Ed. Great Britain, Hodder Arnold; 2008:3173-3206
26. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external and middle ear. Cummings CW, Fredrickson LM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE,eds. Otolaryngology and Neck Surgery. 3th ed. St Louis Missouri. Mosby Year Book Inc. 1998:2533-46
27. Austin FA. Anatomy of the ear. Ballenger JJ, Snow JB, ed. Otolaryngology:Head and Neck Surgery. 15 th. Philedelphia. Williams and Wilkins. 1996;838-57
28. Brenda L, Lonsbury-Martin, Martin GK, Luebke AE. İşitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. In Ballenger JJ, Snow JB, editors. Senocak D, çev ed. Otolaringoloji Bas Boyun cerrahisi. 15. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996: 879–929.
29. Kathleen C. M. Campbell. Audiologic Monitoring for Ototoxicity. Peter S. Roland P.S, Rutka J.A. Ototoxicity. Canada: BC Decker Inc 2004: 153-160
30. Carolyn J. Brown. Electrophysiological evaluation of hearing Charles W. Cummings, Paul W. Flint, Bruce H. Haughey, K. Thomas Robbins, J.Regan Thomas , Lee a. Harker et all(editors) Cummings Otolaryngology- Head and Neck Surgery 4. Edth Elseiver Mosby

2005:3466-3482

31. Carolyn J. Brown Tiffany A. Johnson Electrophysiological evaluation of hearing Paul W. Flint, Bruce H. Haughey, Valerie J.Lund, John K. Niparko, Mark A. Richardson K. Thomas Robbins et all(editors) Cummings Otolaryngology- Head and Neck Surgery 5. Edth China: Elseiver Mosby 2010
32. Şerbetçioğlu B. Dizdar H. Otoakustik Emisyonlar Belgin E. Şahlı A.S. editörler Temel Odyoloji Ankara: Güneş tıp Kitapevleri 2015: 113-122
33. James W. Hall, Patrick J. Antonelli, Assessment of Peripheral and Central Auditory Function Shawn D.Newlands, Karen H. Calhoun, Hugh D. Curtin, Ronald W. Deskin, David E. Eibling, Berrylin J. Ferguson et all(editors) Bailey B. Head & Neck Surgery—Otolaryngology. 4th editio. Philadelphia, Pa, USA:Lippincott, Williams & Wilkins; 2006: 1928-1942
34. Kırkım G. İmmittansmetrik Değerlendirme Yöntemleri Belgin E. Şahlı A.S. editörler Temel Odyoloji Ankara: Güneş tıp Kitapevleri 2015: 105-112
35. Barros BB, Andrade JS, Garcia LB, Pifaia GR, Cruz OL, Onishi ET, Penido Nde O. Micro-endoscopic ear anatomy of guinea pig applied to experimental surgery. Acta Cir Bras. 2014;29:7-11
36. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. Hearing Research 2005;199:103-110
37. Sanli A, Aydin S, Oztürk R. Microscopic guide to the middle ear anatomy in guinea pigs. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg. 2009;19:87-94
38. Okamoto H, Shoin S, Koshimura S and Shimizu R: Studies on the anticancer and streptolysin S-forming abilities of hemolytic streptococci. Jpn J Microbiol 1967;11: 323-336
39. Okamoto H, Minami M, Shoin S, Koshimura S and Shimizu R: Experimental anticancer studies Part XXXI. On the streptococcal preparation having potent anticancer activity. Jpn J Exp Med 1966;36: 175-186
40. Kurokawa T, Hattori T and Furue H. Clinical experiences with the streptococcal anticancer preparation, OK-432 (NSCB116209). Cancer Chemother Rep 1972;56: 211-220.
41. Aoshima M and Sakurai Y: Sensitivity of transplantable rat leukemia, DBLA-6, to antitumor agents. Gann 1972;63: 281-290.
42. Okamoto H, Shoin S, Koshimura S, Shimizu R.Studies on the anticancer andstreptolysin S-forming abilities of hemolytic streptococci. Jpn J Microbiol 1967; 11: 323-336.
43. Yılmaz İ. Akkuzu B. Özlüoğlu L.N. İntratimpanik Uygulamalar Popüler Bir Yöntem Üzerine Derleme. Otokop 2003;3:145-155.
44. Meyer T. Intratympanic treatment for tinnitus: A review. Noise and Health 2013;15:83-90.
45. Drug information on Picibanil ,Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. Tokyo, 2003.

46. Ryoma Y, Moriya Y, Okamoto M, Kanaya I, Saito M, Sato M: Biological effect of OK-432 (Picibanil) and possible application to dendritic cell therapy. *Anticancer Res* 2004;24:3295-3302
47. Luh KT, Yang PC, Kuo SH, Chang DB, Yu CJ and Lee LN: Comparison of OK-432 and Mitomycin C pleurodesis for malignant pleural effusion caused by lung cancer. *Cancer* 1992;69:674-679,
48. Katano M and Morisaki T: The past, the present and future of the OK-432 therapy for patients with malignant effusions. *Anticancer Res* 18: 3917-3926, 1998.
49. Yamaguchi Y, Satoh Y, Miyahara E, Noma K, Funakoshi M, Takashima I, Sawamura A and Toge T: Locoregional immunotherapy of malignant ascites by intraperitoneal administration of OK-432 plus IL-2 in gastric cancer patients. *Anticancer Res* 1995;15: 2201-2206.
50. Nio Y, Nagai H, Tamura K, Tsubono M, Nio M, Sato M, Kawabata K, Hayashi H, Shiraishi T, Imai S, Tsuchitani T, Mizuta J, Nakagawa M and Fukumoto M. Multi-institutional randomized clinical study on the comparative effects of intracavitary chemotherapy alone versus immunotherapy alone versus immunochemotherapy for malignant effusion. *Brit J Cancer* 1999;80: 775-785.
51. Kitahara S, Ikeda M, Inouye T, Matsunaga T, Yamaguchi K, Takayama E, Healy GB and Tsukuda M: Inhibition of head and neck metastatic and/or recurrent cancer by local administration of multi-cytokine inducer OK-432. *J Laryngol Otol* 1996;110: 449- 453.
52. Sato M, Harada K, Yoshida H, Yura Y, Azuma M, Iga H, Bando T, Kawamata H and Takegawa Y: Therapy for oral squamous cell carcinoma by tegafur and streptococcal agent OK-432 in combination with radiotherapy: Association of the therapeutic effect with differentiation and apoptosis in the cancer cells. *Apoptosis* 1997;2: 227-238.
53. Imaoka S, Sasaki Y, Ishikawa O, Ouhigashi H, Koyama H, Iwanaga T and Ishiguro S: Immunochemotherapy in human hepatocellular carcinoma using the streptococcal agent OK-432. *J Clin Oncol* 1986;4:1645-1651.
54. Gochi K, Orita K, Fuchimoto S, Tanaka N and Ogawa N: The prognostic advantage of preoperative intratumoral injection of OK-432 for gastric cancer patients. *Brit J Cancer* 2001;84: 443-451.
55. Sakamoto J, Teramukai S, Watanabe Y, Hayata Y, Okayasu T, Nakazato H and Ohashi Y. Meta-analysis of adjuvant immunochemotherapy using OK-432 in patients with resected non-small cell lung cancer. *J Immunother* 2001;24: 250-256.
56. Sakamoto J, Teramukai S, Nakazato H, Sato Y, Uchino J, Taguchi T, Ryoma Y and Ohashi Y: Efficacy of adjuvant immunochemotherapy with OK-432 for patients with curatively resected gastric cancer: A meta-analysis of centrally randomized controlled clinical trials. *J Immunother* 2002;25: 405-412.

57. Nio Y, Ohgaki K, Tsuchitani T, et al. Orally administered streptococcal preparation, OK-432 augments the antitumor immunity of patients with gastric or colorectal cancer. *Biotherapy (Netherland)* 1990; 2:213-222.
58. Shiraishi T, Nio Y, Imai S, et al. A double blind study to evaluate the optimal dose and its frequency for oral administration of OK-432 (Picibanil) by immunological parameters (The 1st report). *J Jpn Soc Cancer Ther* 1990; 25:799-811.
59. Shiraishi T, Nio Y, Imai Y, et al. A double blind study to evaluate the optimal dose and its frequency for oral administration of OK-432 (Picibanil) by immunological parameters (the 2nd report). *J Jpn Soc Cancer Ther* 1990; 25:997-1012.
60. Ogita S, Tsuto T, Nakamura K, Deguchi E, Iwai N. OK- 432 therapy in 64 patients with lymphangioma. *J Pediatr Surg* 1994; 29:784-5.
61. Fujino A, Moriya Y, Morikawa Y, Hoshino K, Watanabe T, Shimojima N, Kitajima M. A role of cytokines in OK-432 injection therapy for cystic lymphangioma: an approach to the mechanism. *J Pediatr Surg* 2003; 38:1806-9.
62. Roh JL, Park C, Treatment of benign thyroid cysts by intracystic injection of OK-432. *Surgery*. 2008;144:775-9.
63. Kono M, Satomi T, Abukawa H, Hasegawa O, Watanabe M, Chikazu D. Evaluation of OK-432 Injection Therapy as Possible Primary Treatment of Intraoral Ranula. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017 ;75:336-342
64. Keskin G, Keskin S, Aydın Ö, Gürbüz Y, Üstündağ E. Injection tongueplasty: effects of sclerosant OK-432 on rat tongue. *Eur Arch Otorhinolaryngol* . 2007;264:75–79.
65. Bonfils P, Avan P, Francois M, Trotoux J, Narcy P. Distortion-product otoacoustic emissions in neonates: normative data. *Acta Otolaryngol*. 1992;112:739-44.
66. Arnold DJ, Losbury-Martin B, Martin GK. High-frequency hearing influences lower frequency distortion-product otoacoustic emissions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery* 1999;125:215–22.

6. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ Karakoçan ilçesinde 1988 yılında doğdum. İlkokulu Karakoçan ilçesinde, lise öğrenimimi Elazığ'da tamamlayarak 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2012 yılında mezun oldum ve bir sene Elazığ Karakoçan Devlet Hastanesinde pratisyen hekim olarak çalıştıktan sonra 2013 Nisan Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nı kazandım ve ihtisasa başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.