



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
KULAK-BURUN-BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA İNTRATİMPANİK ANTİVİRAL İLAÇ UYGULAMASININ
İŞİTME YOLLARINDAKİ OTOTOKSİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Ferhat İlen

**Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı
Tıpta Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof.Dr. Şenol Polat**

İSTANBUL - 2020

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bu çalışmanın ortaya çıkmasında destek ve yardımları olan, bilimsel katkılarını, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Şenol Polat'a. Her birinden ayrı ayrı çok şey öğrendiğim, bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen çok değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Tamer Erdem, Prof. Dr. Haluk Özkarakaş, Prof. Dr. Melih Güven Güvenç, Prof. Dr. Murat Karaman, Prof. Dr. Elif Aksoy, Prof. Dr. Gediz Murat Serin, Prof. Dr. Ahmet Koç, Doç. Dr. Serdar Baylanççek, Yrd. Doç. Dr. İsmet Emrah Emre'ye; bu çalışmanın başından itibaren büyük özveriyle destek veren Uzm. Odyolog Meliha Başöz'e, çalışmanın yürütülmesi aşamasındaki özverili yaklaşımları ve destekleri nedeniyle Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi çalışanlarına; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm klinik çalışanlarına; en derin teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ferhat İlen

İstanbul 2020

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLO VE RESİM LİSTESİ	v
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. İÇ KULAK ANATOMİSİ	3
2.2.İNTRATİMPANİK ENJEKSİYONLAR	6
2.3.OTOTOKSİSİTE	7
2.4.ABR (AUDITORY BRAIN RESPONSE)	7
2.5.DPOAE (DİSTORSİYON ÜRÜNÜ OTOAKUSTİK EMİSYON)	12
2.6.SIÇAN KULAĞI ANATOMİSİ	14
2.7.ASİKLOVİR	17
3.İSTATİSTİK METOD	18
4.MATERYAL VE METOD	19
5.BULGULAR	30

6.SONUÇLAR	53
7.TARTIŞMA	55
8.ÖZET	62
9.ABSTRACT	63
10.KAYNAKLAR	64

KISALTMALAR

ABR	: Auditory Brainstem Response – İşitsel Beyin Sapı Cevabı
OAE	: Otoakustik Emisyon
°C	: Santigrat derece
kHZ	: Kilohertz
Hz	: Hertz
dB	: Desibel
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
DPOAE	: Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon
TEOAE	: Geçici uyarılmış otoakustik emisyon
ÖT	: Östaki Tüpü
CMV	: Sitomegalovirüs
HSV	: Herpes Simplex Virüs
AİK	: Ani İşitme Kaybı
PCR	: Polymerase chain reaction – Polimeraz zincir reaksiyonu

TABLO VE RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1:	20
Tablo 2:	29
Tablo 3:	30
Tablo 4:	31
Tablo 5:	32
Tablo 6:	33
Tablo 7:	35
Tablo 8:	35
Tablo 9:	35
Tablo 10:	36
Tablo 11:	36
Tablo 12:	36
Tablo 13:	37
Tablo 14:	37
Resim 1:	5
Resim 2:	6
Resim 3:	11
Resim 4:	12
Resim 5:	13
Resim 6:	15

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Intratimpanik enjeksiyon tedavileri son yıllarda Kulak Burun Boğaz pratiğine girmiş ve birçok hastalıkta tedavi seçeneği olmaya başlamıştır. Ani işitme kaybı, otoskleroz, tinnitus, Meniere hastalığı vb. birçok hastalığın tedavisinde çeşitli intratimpanik enjeksiyon tedavileri gündemde yer almaktadır.¹⁻² Yapılan çalışmalarda bu hastalıkların etiyolojisinde ise viral patojenlerin -özellikle herpes grubu virüsler- yer aldığı öne sürülmektedir.³⁻⁶ Herpes virüslerin izole edildiği labirentit vakaları gösterilmiştir.⁷ Sistemik antiviral ilaçlar, sistemik steroidler ve intratimpanik steroidler günümüzde bu hastalıkların rutin tedavisinde kullanılmaktadır.⁸⁻¹⁰ Sistemik antiviral ilaçların da sistemik yan etkileri üzerine birçok çalışma mevcuttur.¹¹⁻¹²

Orta kulak ve iç kulak kaynaklı hastalıklar, özellikle işitme kayıplarında intratimpanik uygulanan tedavi protokolleri bulunmakta fakat antiviral ilaçların intratimpanik uygulamaları ile ilgili literatürde yeteri kadar çalışma yer almamaktadır. Bu sebeple de, intratimpanik antiviral ilaç uygulamasının ototoksik etkisini araştıran yeterli çalışma literatürde bulunmamaktadır. Literatürde CMV(sitomegalovirüs) inokülasyonu sonrası yuvarlak pencereden iç kulağa antiviral ilaç uygulaması sonrası CMV eradikasyonu bildirilmiştir.¹³⁻¹⁴ Akustik travma sonrası intratimpanik steroid enjeksiyonunun koklea üzerine etkileri incelenmiştir.¹⁵ Sistemik ve intratimpanik steroid enjeksiyonunun etkilerini karşılaştıran çalışmalar da mevcuttur.¹⁶

İntratimpanik enjeksiyonda verilen ilacın iç kulağa geçmesi için yuvarlak pencere bariyerini geçmesi gerekmektedir. Asiklovir'in menenjit vb. hastalıkların tedavisinde kullanıldığını, benzer membranlardan moleküler olarak geçebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. İntratimpanik steroid tedavisi sonrası işitme yollarını değerlendiren odyolojik ve histopatolojik araştırmalar bulunmaktadır.¹⁷ Fakat antiviral ilaç uygulaması sonrası ototoksisite çalışması literatürde saptanamamıştır.

Odyolojik olarak iç kulak dış saçlı hücreleri değerlendiren testimiz Otoakustik Emisyon(OAE) testidir. Odyolojik olarak işitme yollarını değerlendirdiğimiz testimiz Auditory Brain Response (ABR) testidir.¹⁸⁻²⁰

Çalışmamızda herpes grubu virüslerin ana ilacı kabul edilen Asiklovir' in intratimpanik lokal uygulaması sonrası ototoksik bir etkiye sahip olup olmadığını araştırmayı planladık. Sistemik olarak rutinde kullanılan bu ilaçların lokal uygulama sonrası da diğer ilaçlarda gözlendiği gibi etkin bir tedavi yapacağını düşünüyoruz. Bu durumda antiviral ilaçları sistemik yan etkilerine maruz kalmadan tedavide kullanılabileceğini düşündük, tedavi aşamasına gelmeden önce bu ilaçların lokal uygulama bölgesindeki olası toksik etkisini gözlemlemeyi amaçladık. Bunun için ototoksisite değerlendirmesinde kullanılan OAE ve ABR odyolojik testlerini kullandık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İÇ KULAK ANATOMİSİ

İşitme ve denge periferik organı olan Kulak, temporal kemik içinde yerleşmiş, görevleri ve yapıları birbirinden farklı olan üç yapıdan oluşur. Dış kulak, Orta kulak ve İç kulak olmak üzere. Dış kulak, kulağın kulak zarının dışında kalan bölüme denir, aurikula ve dış kulak yolundan oluşur. Kulak zarı 3 farklı tabakadan oluşur. Dış kulak yolunu medialden sınırlayan skuamöz hücre tabakası, orta kulağı lateralden sınırlayan mukoza tabakası ve ikisinin arasında bulunan fibröz tabaka olmak üzere.²¹

İç kulak petröz kemiğin derininde bulunur. İşitme ve denge organları iç kulakta yer alır. Yuvarlak ve oval pencere ile orta kulak, koklear ve vestibüler akuaduktuslar ile de kafa içi ile bağlantılıdır. Kemik kısmın çevresinde otik kapsül vardır.

İç kulağın morfolojisini anlayabilmek için zar yapıların ve farklı özellikteki sıvıların bilinmesi gerekir. Bu konudaki çalışmalar, 20. yüzyılın ortalarında başlamış ve 21. yüzyılda hızlanmıştır. İç kulak morfolojisinin incelenmesinde en önemli adım, Alfonso Corti (1851)'nin bugün de kabul gören metodolojisidir. Önce dış yapılar temizlenir ve hazırlanır, daha sonra radyal kesitler yapılır ve yapılar bu yöntemle tanınmaya çalışılır.

Corti, koklear duktusu radyal keserek Korti organını tanımlamış ve bunları anatomik planlara göre çizmiştir. Corti'den sonra Reissner , Deiters, Bottcher, Claudius, Hensen ve özellikle Retzius kokleanın ayrıntılandırılmış çizimlerini yapmışlardır.

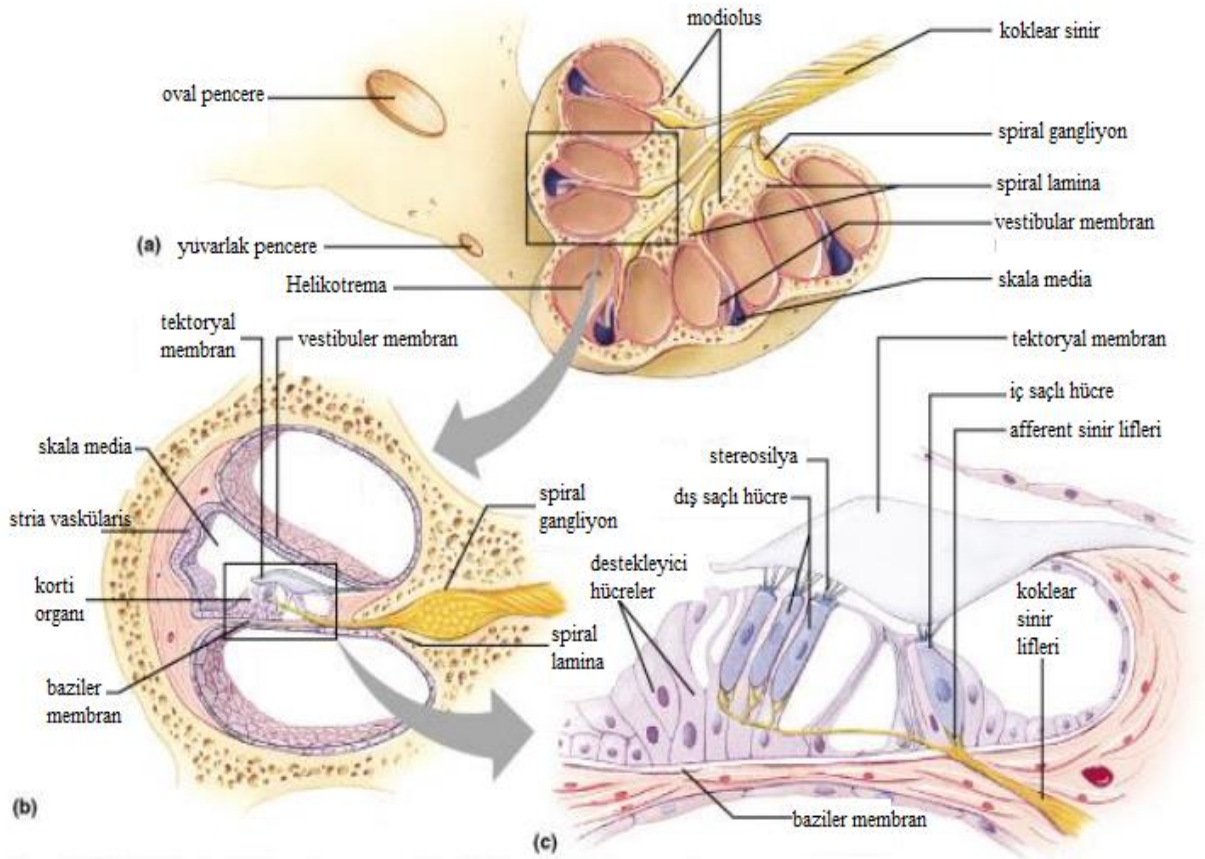
Kemik labirent : Kemik Labirent üç parçadan oluşmaktadır.

- i) Koklea
- ii) Vestibül
- iii) Yarım daire kanalları.

Zar ve kemik labirentlerin arasında sodyumdan zengin olan perilenf sıvısı ve zar labirentin içinde ise potasyum iyonlarından zengin endolenf sıvısı bulunur. Zar labirent de 3 parçadan oluşur. Koklea, vestibülde yer alan iki otolit organ ve arka labirentteki 3 adet yarım daire kanalı olmak üzere(Resim 1).

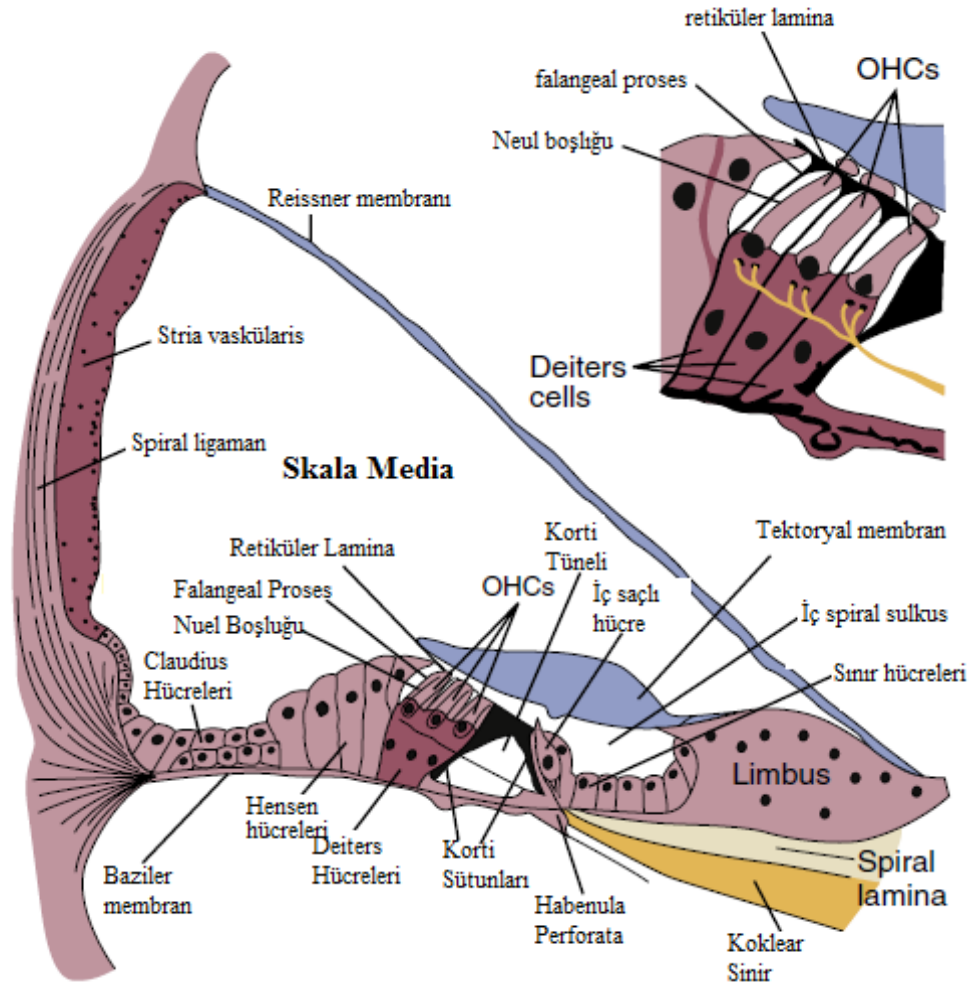
Koklea: Ductus reuniens ile sakkulusa bağlanır. Modiolus adı verilen koni şeklinde bir yapı ve etrafında arkadan öne, içten dışa doğru 2,5 defa dolanan bir kanaldır. Modiolus kokleanın eksenini oluşturur. İçindeki kanallardan koklear arter ve venler, 8. kraniyal sinir lifleri geçer. Duktus koklearis üçgen şeklindedir. Bu nedenle her duvarı ayrı ayrı incelenir. Kemik spiral lamina, koklear kanalın içinde spiral şekilde dolanır ve onu ikiye ayırır üstte kalan kısma skala vestibüli adı verilir ve bu kısım vestibulumu açılır. Altta kalan kısma skala timpani denir ve fenestra koklea vasıtasıyla orta kulakla ilişkidir. Skala timpani ve skala vestibüli kokleanın apeksinde helicotrema denen yapı ile birbiriyle bağlantılıdır.

Kemik spiral lamina koklear kanalın iç yan duvarında karşı duvara ulaşmadan serbest kenar şeklinde sonlanır. Serbest kenar ile koklear kanalın dış yan duvarının arasında baziller membran gergin bir şekilde bulunur. Corti organı baziller membran üzerine oturmuş şekildedir.²²
(Resim2)



Resim 1: Koklea ve Korti Organı (Alıntı: Cummings Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2015)

Reissner membranı skala media ile skala vestibüliyi birbirinden ayıran yapıdır. Baziller membran ise skala media ile skala timpaniyi birbirinden ayırır. Baziller membranda Claudius, Boettcher hücreleri, Corti organı, Hensen, Deiters, Pillar hücreleri, iç sınır hücreleri, dış titretilen tüylü hücreler, iç titretilen tüylü hücreler, iç sulkus, spiral limbustaki interdental hücreler ve tektoryal membran vardır.



Resim 2: Koklea kesitinde major hüresel yapıların görünümü (Alıntı: Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, et al. Cummings Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2015, fig. 128-2.)

2.2. İNTRATİMPANİK ENJEKSİYONLAR

Orta kulağa enjeksiyon yaparak tedavi fikri ilk olarak 1934 yılında Londra Middlesex Hastanesi'nde Dr. Gray A. tarafından sağırılık tedavisi için ortaya atılmıştır.²³ Ardından 1944 yılında Bernard C. Throwbridge tarafından 22 vakalık bir seride işitme kaybı ve tinnitus hastalarında intratimpanik etilmorfin hidroklorid enjeksiyonu denemiş ve 18 vakada odyolojik olarak gelişme gözlenmiştir.²⁴ Son yıllarda ise ani işitme kaybı, otoskleroz, tinnitus, Meniere hastalığı vb. birçok hastalığın tedavisinde çeşitli

intratimpanik enjeksiyon tedavileri gündeme gelmiştir.¹⁻² İntratimpanik enjeksiyon tekniği; otoskop, mikroskop veya endoskop yardımı ile timpanik membranın bir enjektör ile geçilerek orta kulağa enjeksiyon yapılması şeklinde tarif edilir. Enjeksiyon sonrası kişi o tarafın üzerine yatırılıp bir süre beklenerek ilacın emilimi sağlanır. Hastanın baş dönmesi yaşamaması için enjekte edilen ilacın en uygun sıcaklığın vücut sıcaklığı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. İntratimpanik enjeksiyonlarda en fazla çalışılan ilaç grubu kortikosteroidlerdir. Steroidlerin ani işitme kaybı, meniere, tinnitus, otoskleroz vb. iç kulak ve orta kulağı ilgilendiren hastalıklarda tedavi edici etkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.

2.3. OTOTOKSİSİTE

Ototoksisite, ilaç veya kimyasal bir maddenin iç kulağa yapısal veya işlevsel olarak zarar verme potansiyeline denir.²⁵ İç kulaktaki dokular hem geçici hem de kalıcı olarak zarar görebilir. Birçok ajan ototoksisiteye neden olabilir.

Kulak burun boğaz hekimlerinin ototoksik ajanların etkilerini önceden bilip, tedavi sürecinde ilacın kullanılmasına devam edilmesi, ilacın kesilmesi veya koruyucu diğer bazı ilaçlarla birlikte kullanılması gibi konularda bilgi sahibi olması önemlidir. Antibiyotikler, antienflamatuarlar, diüretikler, antineoplastik ilaçlar, antimalaryal ilaçlar ve diğer bazı ilaçların ototoksik etkilerinin olduğu bilinmektedir.²⁶ Ancak birçok yeni ilaç ya da kimyasal maddenin de ototoksik olabileceği daima akılda tutulmalı ve dikkate alınmalıdır.

2.4. ABR (AUDITORY BRAINSTEM RESPONSE) (İŞİTSEL BEYİN SAPI CEVAPLARI)

İşitsel Beyin Sapı Cevapları “Auditory Brainstem Response” (ABR) işitmenin objektif değerlendirilmesi için klinik uygulamalarda ve literatürde en çok kullanılan odyolojik test bataryasıdır.

Duyu sinirlerindeki elektriksel potansiyellerin kaydedilmesine ilişkin çalışmalara 19. yüzyılda hayvan deneylerinde rastlanmaktadır. Beyinde elektriksel olayların varlığı ilk kez Caton tarafından (1875) fark edilmiştir.²⁷ Daha sonraki yıllarda bu konuda çalışmalar devam etmiş, II. Dünya savaşıyla çalışmalara ara verilmiştir. Savaşın bitimiyle elektronikteki buluşlar ve gelişmelerden de faydalanarak çalışmalar geliştirilmiştir. Konu ile ilgili alışmalar EEG'nin tanımlanması ve bunların klinik uygulamaları üzerine olmuştur. Yapılan araştırmalar ile yöntem geliştirilmiş ve Engebretson ve ark. (1965) günümüzde kullanılan sistemin tekniğini geliştirmişlerdir. ABR ilk kez Sohmer ve Feinmesser tarafından 1967 yılında kaydedilmiş olmasına rağmen, kullanılan dalgalar ilk Jewett ve Williston tarafından JI, JII, JIII, JIV, JV, JVI ve JVII olarak tanımlanmıştır. Suzuki ve arkadaşlarının 1977 yılında yayınladıkları çalışmadan sonra, işitme eşiklerinin frekansa özgü tespit edilmesi için tb-ABR'nin kullanılması yaygınlaşmıştır. Jewett ve Williston'un 1971'de yaptığı bilimsel çalışmalarla tonal uyarının beyin sapı işitsel uyarılmış potansiyellerinin ortaya çıkarılmasında klinik uygulanabilirliği gösterilmiştir.²⁸⁻³⁰

İşitmenin değerlendirilmesi dışında ABR nörolojik hastalıkların tanısının konmasında da kullanılmaktadır. ABR, 1970'lerden itibaren, odyolojik ve nroodyolojik test bataryası olarak kullanılmaktadır.

ABR, işitsel uyarana cevaben, işitme sinirinden beyin sapı yollarına uzanan bölgede ortaya çıkan elektriksel aktivitenin ölçümüdür. Normal bir ABR dalga formu, uyarının verilmesinden sonra ilk 2-12 ms içerisinde meydana gelen 5 ile 7 vertex-pozitif tepeden oluşmaktadır. Test süresince çeşitli zamanlarda bir veya daha fazla kaynakta meydana gelen nöral aktivitenin toplam ABR'nin tepelerini göstermektedir; bu tepeler I'den VII'ye kadar Roma rakamlarıyla numaralandırılır. ABR dalga formundaki en önemli verteks-pozitif tepeler I, III ve V numaralı tepelerdir. Negatif tepelerden ise I ve V numaralı tepeler önemlidir ve cevap amplitüdünün belirlenmesinde kullanılmaktadırlar.³¹

Uyarıcı tipi olarak klik, tone burst, veya tone piler kullanılabilir. Kısa süreli olmaları ve yükselme zamanlarının hızlı olması nedeniyle, klik uyarılar nöronların eş zamanlı aktivasyonunu sağlar ve geniş bir frekans aralığında enerjiye sahiptirler. Bu nedenle ABR ile işitme eşiği elde edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Klik

uyaran kullanmanın avantajı, baziller membranın geniş bir bölümünü aynı anda uyarması ve böylece birçok sinir lifini eş zamanlı olarak tetikleyerek, güçlü bir beyin sapı cevabına yol açmasıdır. Klik uyarının dezavantajı, frekansa özgü bilgi verememesidir. Klik uyarılarla elde edilen işitsel beyin sapı cevapları, insanlarda 1000-4000 Hz frekans aralığındaki işitme hakkında bilgi vermektedir.³²

ABR kayıtlarına göre: I. dalga işitme sinirinin distalinden; II. dalga ise koklear sinirinin proximalinden, III. dalga koklear nükleuslardan, IV. dalga superior oliver kompleksten, V. dalga lateral lemniskustan, VI. ve VII. dalgalar inferior kollikulus'un yanıtlarını göstermektedir. III. dalga ile beraber daha geç oluşan dalgalar sürekli olarak bilateral uyarım alırlar ve kontralateral uyarımların daha fazla olduğu düşünülmektedir. III. ve VII. dalgalar arasındaki, işitsel yol bağıntılı olarak daha üst seviyelerden kaynaklanmaktadır. Bununla beraber kesin kaynakları net değildir, her dalga kendi nükleusunun etrafındaki diğer nükleuslardan etkilenmektedir. Bu durum ABR oluşum mekanizmasının bire bir yapılaşma yerine, her dalganın birkaç çekirdeğin oluşturduğu kompleksten meydana geldiği gerçeğini açığa çıkarmıştır. ABR'nin IV, V, VI ve VII. dalgalarının kompleks oldukları ve her bir tepeye birden fazla anatomik yapının katkıda bulunduğu da araştırmacılar tarafından belirtilmektedir.³¹⁻³²⁻³³

ABR dalgalarının ortaya çıkış bölgelerini klinik uygulamalara göre üçe ayırmak mümkündür. Buna göre; I. dalga ipsilateral işitme sinirinden, II. ve III. dalgalar aşağı beyin sapından, IV. ve V. dalgalar yukarı beyin sapından köken almaktadır şeklinde özetlenebilir.

Normal bir ABR'nin fiziksel özellikleri:

Normal bir ABR'nin fiziksel özelliklerinde ve yorumlamada kullanılan esas kriterlerin değerlendirilmesinde çeşitli parametreler kullanılmaktadır.

Mutlak Latans ve İnterpeak Dalga Latansı: Akustik uyarının başlangıcından cevabı oluşturan dalga veya dalga kompleksinin pozitif ya da negatif tepe noktasının bulunduğu yere kadar geçen zaman dilimidir, birimi milisaniye (ms)'dir. ABR'de tepe noktaları arasındaki süre olarak da adlandırılmaktadır. Daha önceden meydana gelen

tepe noktalarının latansları interpeak dalga latans değerinin hesaplanmasında referans değer olarak kullanılır ve interpeak latansların belirlenmesinde daha çok I. III. ve V. dalgalar kullanılmaktadır.

Amplitüd: Tepe genişliği taban hattı ile tepe noktası arasındaki mesafedir. Tepeden tepeye genlik ise bir tepe ve onu takip eden ters işaretli tepe arasındaki dikey mesafedir. Özetle cevabı oluşturan dalga formunun pozitif ve negatif tepe noktaları arasındaki mesafedir. Birimi milivolt'tur (mV). Uyarın şiddeti artırıldığında cevap amplitüdü artar, azaltıldığında ise azalır.

Dalga Formunun Morfolojisi ve Tekrarlanabilirliği: Dalga ve dalga kompleksinin genel yapısını ifade etmek için kullanılır. Genellikle görüntüsü, normal görünümüne ABR örüntüsü referans alınarak tanımlanır. Normal işiten bireylerde ABR kayıtlarında I'den V'e kadar net bir şekilde dalgalar elde edilirken bazen IV ve V. Dalgalar üst üste binmiş şekilde de görülebilir.³¹⁻³²⁻³³

Normalde 90 Desibel ve Click uyarın ile değerlendirilen ABR'de;

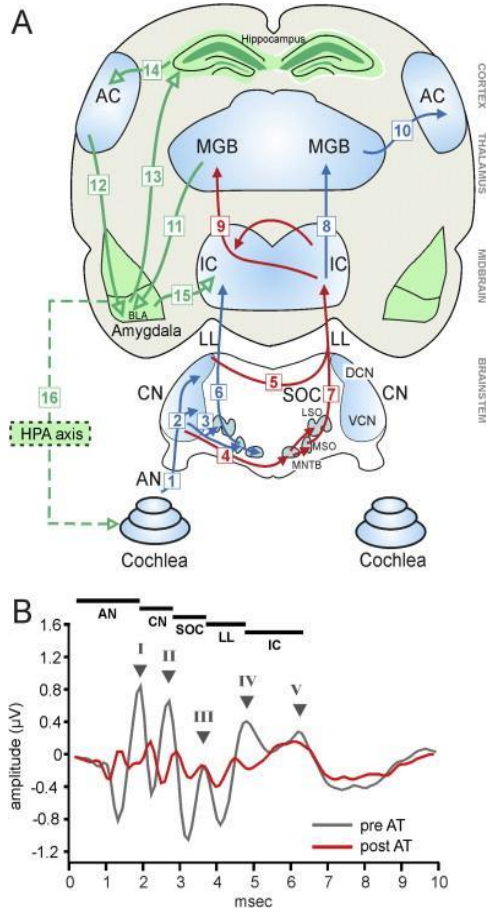
1.	<u>dalga</u>	<u>latans:</u>	1.6	±	0.3	msn,
2.	<u>dalga</u>	<u>latans:</u>	2.8	±	0.3	msn,
3.	<u>dalga</u>	<u>latans:</u>	3.8	±	0.3	msn,
4.- 5.	<u>dalga</u>	<u>latans :</u>	5.6	±	0.3	msn

olarak saptanmıştır.

Rat' larda ABR Özellikleri :

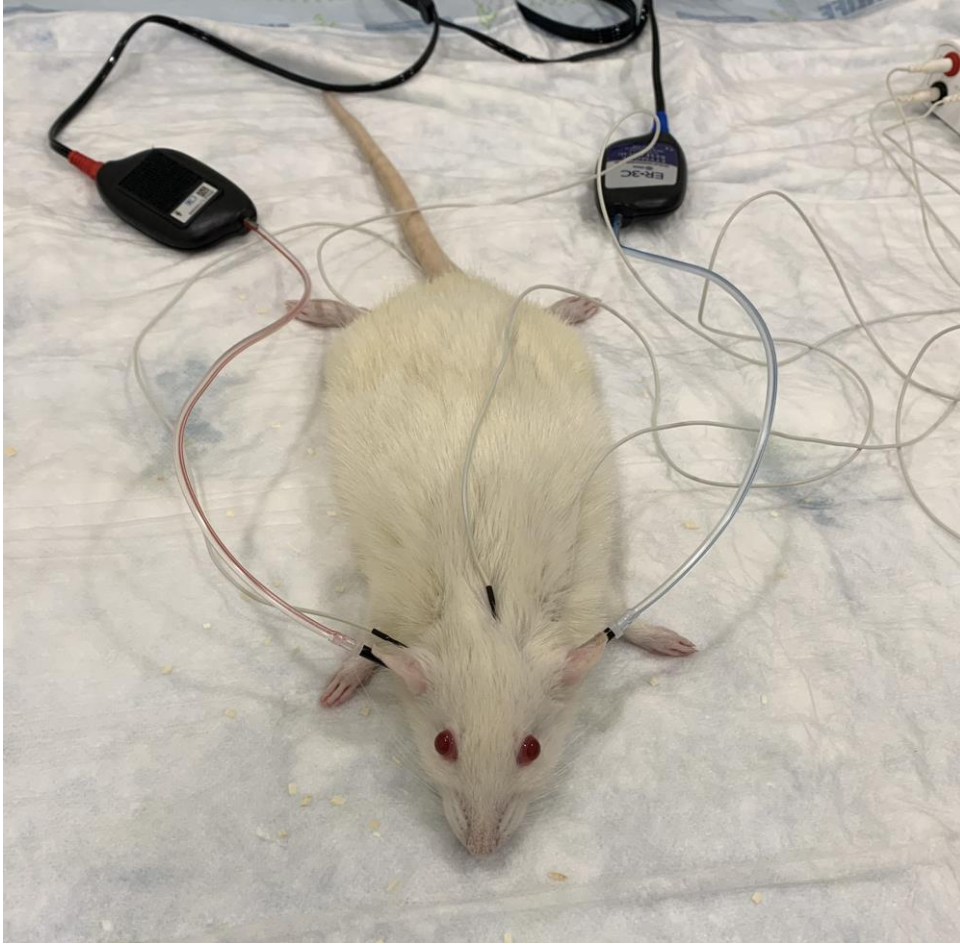
Hayvanlarda yapılan çalışmalar insan kulağına benzerliği açısından en yakın sıçan kulağı olarak belirlenmiştir. Genellikle yapılan ölçüm ve sonuçlar benzer özellikler gösterse de farklılıklar bulunabilmektedir. Literatürde sıçanlarda yapılan ABR çalışmalarında dalga sayıları ile ilgili farklı değerler verilmektedir. Sıçanlarda daha

önce yapılan ABR ölçümleri ilk dört dalga'nın önemli olduğunu ve değerlendirmelerin bu dalgalar baz alınarak yapılması gerektiğini bildirilmektedir (Resim 3).³⁴



Resim 3: A: Sıçanlarda merkezi işitme yolları B: Ratlarda ABR Dalgaları (Alıntı: Proctor, T.B., Velde, T.M., Dayal, V.S., Bhattacharyya, T.K., Arthwol, J, Towle, V.L. Auditory brainstem response in young and old guinea pigs. The American Journal of Otology, 19; 226-229,1998.)

Sıçanlarda ABR ölçümü genel anestezi altında cilt altına yerleştirilen iğne elektrotlar ile gerçekleştirilmektedir. Elektrotların yerleşimi; topraklama elektrodu vertekste aktif elektrotlar her iki mastoid üzerinde olacak şekilde cilt altına yerleştirilmelidir (Resim 4).³⁵



Resim 4: Sıçanda ABR testinde elektrotların yerleştirilmesi

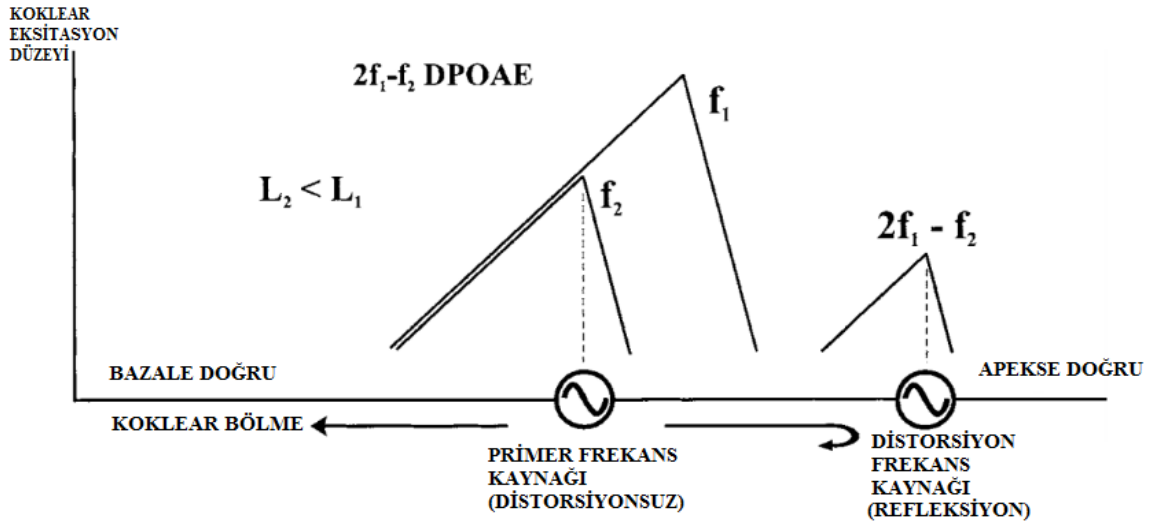
2.5. DPOAE (DİSTORSİYON ÜRÜNÜ OTOAKUSTİK EMİSYON)

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE) sabit frekans ve şiddette iki defa saf ses verilerek saptanırlar. Normal işitmeye sahip olan insanların %90'ında saptanırlar.³⁶ TEOAE'nin aksine 40 dB'den daha fazla olan sensörinöral işitme kayıplarında da saptanabilirler.³⁷⁻³⁸⁻³⁹⁻⁴⁰ DPOAE'ler akustik travma, ototoksik ilaçlar gibi iç kulağa zarar veren durumlarda diğer otoakustik emisyon tiplerine göre daha geç ve daha zor etkilenirler.⁴¹⁻⁴²⁻⁴³⁻⁴⁴⁻⁴⁵ Von Helmholtz ve Von Bekesy gibi daha önceki araştırmacılar insan odituar sisteminde distorsiyonu tanımlamışlardı. 1967'de ise

Goldstein orta kulağın aksine bunun iç kulağı etkileyen bir özellik olduğunu gösterdi. DPOAE' da f1 ve f2 olarak adlandırılan iki adet saf ton uyaran eş zamanlı olarak verilir. Bu iki adet uyarana karşılık gelen emisyon cevabı matematiksel olarak hesaplanarak ilişkilendirilir. Bu ilişki 2f1-f2 olarak özetlenmektedir. İnsan kulağındaki distosiyon ürünü otoakustik emisyonların en belirgin 2f1- f2 frekansında olduğu gözlenmiştir.⁴⁶⁻
⁴⁷ DPOAE normal koklea çalışma koşullarında iki ton uyaranının koklea üzerinde farklı iki ilerleyen dalga oluşturması ve bunların üst üste bindiği koklear bölgelerde otoakustik emisyon cevabı ortaya çıkmasına bağlıdır (Şekil 5). Bu özellik, DPOAE'nin kokleanın frekansa özgü olarak bilgi vermesini sağlar.⁴⁸ DPOAE normal çalışma şartlarında oluşur, patolojik koklear bölgeler test edildiğinde azalmış veya kaybolmuş gözlenir, yani frekansa özgü bilgi edindiğimiz için direkt klinik uygulamada patolojiyi ortaya çıkarmak için kullanmaktayız. DPOAE ile ayrıca işitme kaybının derecesi ve odyometrik konfigürasyon ile ilgili tahminde bulunabilmekteyiz.⁴⁹

4 kHz üzerindeki ölçümlerde TEOAE'ye göre daha kullanışlıdır.⁵⁰ DPOAE ölçümlerinde, TEOAE ölçümlerinden farklı prop kullanılır. İki ufak hoparlör (her iki uyaran için ayrı ayrı) ve bir mikrofon bulunur. Her iki uyaranın şiddeti 60 dB üstünde olmaktadır.

DPOAE işitme fonksiyonunun presinaptik değerlendirilmesinde non-invasiv, hızlı ve ucuz bir ölçüm yöntemidir.⁵¹ Ayrıca DPOAE'lerin gösterebileceği değişkenlik günler ve haftalar sonra yapılan ölçümlerle araştırılmış ve 5 ila 9 dB arasında farklılık olabileceği görülmüştür.⁵²



Resim 5: Koklea uyarımının uzamsal modelinin şematik gösterimi, f_2 ve f_1 , $2f_1-f_2$ distorsiyon ürünü (Alıntı: Handbook of mouse auditory research : from behavior to molecular biology / edited by James F. Willcott, 2001. p:49)

Kemirgenlerde iki tonla uyarın verilmesi ile yüksek seviyeli distorsiyon oluşur. Yapılan çalışmalarda gördüğümüz üzere $2f_1-f_2$ frekansı koklear monitörizasyonda ciddi anlamda büyük hassasiyet sağlamaktadır.⁵³

Yenidoğanların DPOAE amplitüdləri erişkinlere göre daha yüksektir ve yenidoğanların DPOAE amplitüdləri frekansa bağlı olarak 3 ila 10 dB SPL arasında değişiklikler göstermektedir. DPOAE'ler yenidoğanlarda saptadığımız gibi sıçanlarda da kolaylıkla saptanabilir. Sıçanlarda DPOAE değerlendirmesinde probun konumu, şekli, yerleşimi alınan sonuç üzerinde önemli farklılıklara neden olabilmektedir. Dış kulak yoluna en doğru şekilde outtran proplar minimal artefakt ile sonuç almamıza yardım etmektedir.⁵⁴⁻⁵⁵

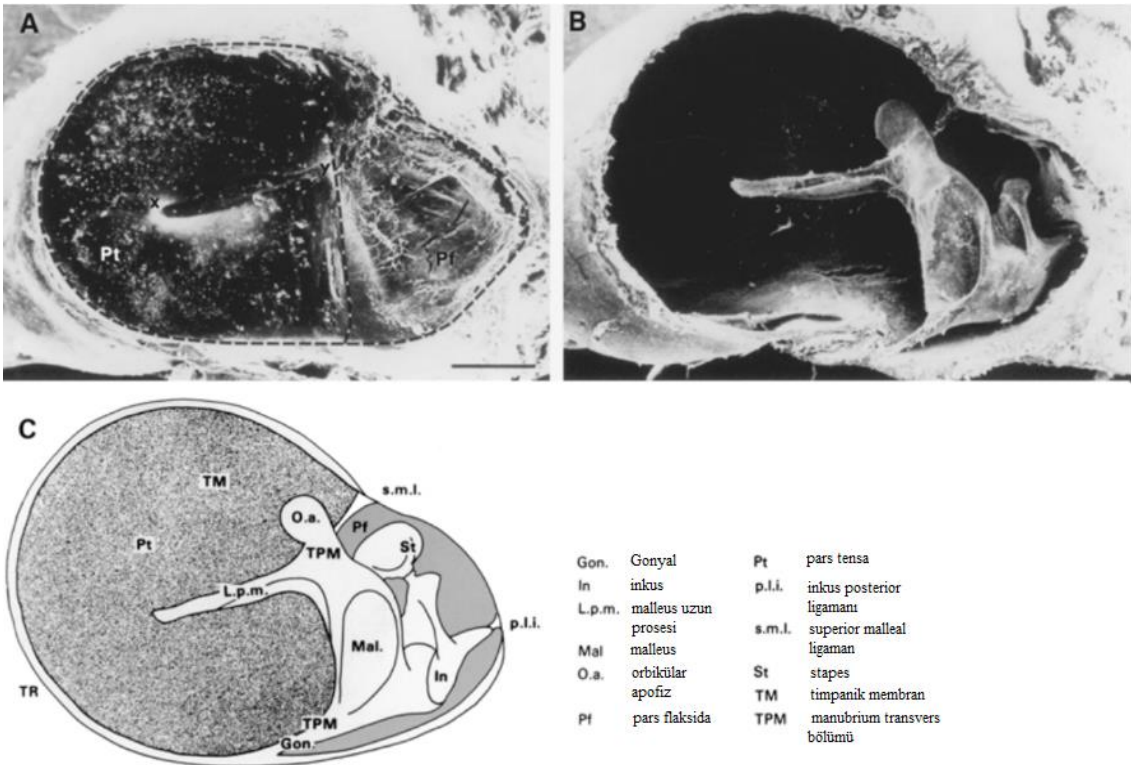
2.6. SIÇAN KULAĞI ANATOMİSİ

Sıçan orta kulağı, insan orta kulağındaki tüm anatomik yapıları içerir. Tahmin edileceği üzere, sıçandaki kemikçikler insandakilere göre çok daha küçük olup boyları yaklaşık olarak dörtte biri kadardır.⁵⁶ Sıçan orta kulak morfolojisi,

Fleischer tarafından mikrotip organizasyon ortaya konularak tanımlanmıştır.⁵⁷ Bu dizaynın iki ayırt edici özelliği vardır:

- 1) Malleus, gonial bone bölgesinde timpanik anulusa yapışmıştır.
- 2) Malleus başı üzerinde orbiküler apofiz olarak adlandırılan geniş bir kitle vardır.

İnsanlarda, timpanik membran alanı $\sim 66 \text{ mm}^2$ 'dir. Oysa sıçanlarda yalnızca $\sim 11 \text{ mm}^2$ 'dir.⁵⁸ Pars tensa ve pars flaksidanın rölatif boyutları da tamamen farklıdır. İnsanlar, timpanik membranın total büyüklüğü ile kıyaslandığında çok küçük bir pars flaksidaya sahip iken, sıçanlarda pars flaksida timpanik membranın 1/4 ila 1/3'ünü oluşturur.



Resim 6: Sıçan orta kulağı. Timpanik membran ve kemikçikler (Alıntı: Saunders, J.C. and Garfinkle, T., 1983, Peripheral Physiology II. In J.F. Willott (Ed.), Auditory Psychobiology of the Mouse, 131–168, Charles C. Thomas Publishers.)

Sıçan orta kulağının küçük bullası ve genellikle kapalı olan, horizontale yakın östaki tüpü (ÖT) vardır. ÖT mukozası, büyük yoğunlukta goblet hücreleri, daha az miktarda da muköz glandlar içerir.⁵⁹ Sıçan ÖT açılma basıncı insandakine benzerdir.⁶⁰ ÖT iki ayrı silyalı ve sekretuar kanal yoluyla epitimpanuma bağlıdır. Sıçan ve insan mukozası mukosilyer transport sistemi dağılımında benzerlik gösterir.⁶¹ Sıçan orta kulağı temporal kemikte yerleşmiş ve iyi korunmuştur. Ancak timpanik membrana muayene için sıradan bir otomikroskop ile kolayca ulaşılabilir. Sıçan orta kulağının üç boyutlu yapısı insaninkine benzer. Ancak mastoid hücreler yerine kavite tabanından çıkıntı yapan timpanik bulla mevcuttur.⁶² Pars tensa ve geniş pars flaksidası ile timpanik membran, lateral duvarın büyük kısmını oluşturur. Medial duvarda promontoryum, yuvarlak pencere, stapes ile birlikte oval pencere ve ÖT'nün timpanik ağzı yerleşmiştir. Silyalı ve sekretuar iki kanal dışında timpanik kavite, basit, skuamöz küboidal, silyasız epitel ile döşelidir. Patolojik koşullar esnasında bu basit epitel değişip, silyalı ve sekretuar hücreler kanallar dışında yüksek sayıda görülür.

İnsanlarda, malleus-inkus kompleksi genellikle, en azından düşük frekanslarda, iki asıcı ligaman doğrultusunda olan rotasyonel aksa sahiptir. Bu iki ligaman; anterior malleolar ve posterior inkudal ligamanlardır. Fleischer'a göre, mikrotip kulakta, malleusun timpanik anulusa belirgin fiksasyonuna rağmen kompleks hala rotasyon yapabilir. Bu ilişki ve inkus kısa kolunun bağlantısı insandakine benzer rotasyonel aks oluşturur. Sıçanlar ile insanlar arasındaki farklardan bir tanesi, sıçanlarda manubriumun, rotasyon aksına paralele yakın yerleşmesidir. Fleischer, genişletilmiş model üzerinde yaptığı çalışmalarda orbiküler apofizin meydana getirdiği ek kitlenin, malleus-inkus kompleksinin yerini değiştirdiğini bulmuştur. Bu da yüksek frekanslarda malleusun transvers bölümü doğrultusunda ikinci bir rotasyon aksı oluşturmaktadır. Bunlara dayanarak, mikrotip kulakların iki tane rotasyon aksı olduğu ve malleusların iki adet net olarak tanımlanmış vibrasyon modu olduğu sonucuna varmıştır.

2.7. ASİKLOVİR

Asiklovir, antiviral tedavide ilk klinik kullanıma giren (1977) ve son 25 yılda özellikle herpes grubu virüslere karşı başarıyla kullanılan antiviral bileşiktir.⁶⁸ Sonraki yıllarda birçok yapısal analogu tedaviye girmiştir.

Asiklovir moleküler ağırlığı 225,2mg/mol, biyokimyasal formülü $C_8H_{11}N_5O_3$ olan bir moleküldür. Pürin nükleozidleri sentetik analogudur. Virüs tarafından indüklenen timidin kinazı, konakçı timidin kinazına göre daha etkili bir şekilde fosforile eder. Virüs tarafından indüklenen viral timidin kinaz Asiklovir' i aktif metaboliti olan ‘Asiklovir Trifosfat’ a çevirir. Trifosfat şekline etkinleştğinde, konakçıdan daha etkin olarak virüsün DNA polimerazına karşı bir substrat ve viral inhibitördür. DNA polimerazın bağlanması geri dönüşümsüzdür. Asiklovir viral DNA'ya bağlandığında DNA zinciri sonlandırılır. DNA virüslerinin, özellikle herpesvirüs ailesinin neden olduğu çeşitli enfeksiyonlara karşı yararlıdır fakat latent enfeksiyona etki etmemektedir. Herpes virüslerin neden olduğu geniş spektrumda hastalığın tedavisinde kullanılır.⁶⁶

3. İSTATİSTİK METOT

Verilerin dağılımı Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılım gösteren bağımlı verilerin grup içinde karşılaştırılmasında Paired t test, normal dağılım göstermeyen bağımlı verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda normal dağılım şartları sağlandığında One Way Anova, sağlanmadığında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri dağılım normal olduğunda ortalama ve standart sapma ile normal dağılım göstermediğinde medyan(min-max) olarak açıklanmıştır. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 22.0 programında 0.05 anlamlılık seviyesinde analiz edilip raporlanmıştır.

4. MATERİYAL VE METOD

Çalışma, 13/11/2019 tarih ve 2019/70 sayılı karar ile Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma, 3R(indirgeme – iyileştirme - yerine başka bir şey koyma) kurallarına uygun olarak hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyuldu. Çalışmaya başlamadan önce güç analizi planlaması istatistiksel bir yazılım kullanılarak gerçekleştirildi.

Deney Hayvanları

Çalışmaya başlamadan önce güç analizi planlaması istatistiksel bir yazılım kullanılarak yapıldı ve çalışma 24 adet rat, 4-6 aylık ve ortalama 300-350 gr erkek Sprague Dawley cinsi ratlar üzerinde yapıldı.

Sıçan; 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusu, 20-24 °C arası sıcaklıkta ad libitum yemek ve su alabildikleri, %50-60 nem, Sprague Dawley ırk sıçan, 4-6 aylık, ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB' in altında olduğu bir ortamda barındırıldı.

Tüm ratlara genel anestezi (Ketamin-Ksilazin altında otoskopik muayene yapıldı, dış kulak yolundaki debris ve buşonlar temizlendi ve normal timpanik membran görüntüsü sağlandı. Ayrıca herhangi bir orta kulak patolojisi veya timpanik membran

patolojisi olanlar çalışma dışı bırakıldı. Bu belirlenmiş ratlardan da 3 tanesinin çalışma için uygun olmadığı tespit edildi ve 7 şer sıçandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Her hayvanın 2 kulağına da işlem öncesi değerlendirmede DPOAE ve ABR uygulandı. Her hayvanın daha iyi sonuç alınan kulağı enjeksiyon için çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen 21 adet rat, yedişer sıçandan oluşan üç gruba ayrıldı.

Tablo 1: İşlem planı

Grup	Uygulanan İşlem	Sıçan sayısı
1.grup	İntratimpanik saline solüsyonu	7
2.grup	İntratimpanik 50mg/ml asiklovir enjeksiyonu	7
3.grup	İntratimpanik 200mg/ml asiklovir enjeksiyonu	7

a) Salin Grubu (1.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 90mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 20 mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak ABR ve DPOAE ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 20-24°C sıcaklıkta, serbest adlibitum yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'n n altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara 1. günden itibaren %0,9 İzotonik NaCl (saline) enjeksiyonu 5 gün boyunca yapıldı. İntratimpanik enjeksiyon mikroskop altında gerçekleştirildi. Öncelikle timpanik membrane identifiye edildi ardından timpanik membrana dental enjektör ile 1 adet girişim yapıldı, ardından 2. Noktadan girişim yapılarak enjeksiyon orta kulak hacmini dolduracak miktarda 0,3-0,5ml sıvı enjeksiyonu gerçekleştirildi. Ardından ratlar 7 gün boyunca anestezi ajanları ve enjeksiyonun yarattığı travma etkisinin geçmesi için normal yaşam alanında bekletildi. İlk enjeksiyon gününden itibaren 12. gün sonunda gruptaki hayvanların her iki kulağına

DPOAE ve ABR ölçümleri yeniden yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı.

b) İlaç grubu - 50mg/ml (2.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 90mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 20 mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak ABR ve DPOAE ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 20-24°C sıcaklıkta, serbest adlibitum yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'n n altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara 1. günden itibaren 50mg/ml Asiklovir(Zovirax 250mg 1 flakon, Glaxosmithkline) enjeksiyonu 5 gün boyunca yapıldı. İntratimpanik enjeksiyon mikroskop altında gerçekleştirildi. Öncelikle timpanik membrane identifiye edildi ardından timpanik membrana dental enjektör ile 1 adet girişim yapıldı, ardından 2. Noktadan girişim yapılarak enjeksiyon orta kulak hacmini dolduracak miktarda 0,3-0,5ml sıvı enjeksiyonu gerçekleştirildi. Ardından ratlar 7 gün boyunca anestezik ajanlar ve enjeksiyonun yarattığı travma etkisinin geçmesi için normal yaşam alanında bekletildi. İlk enjeksiyon gününden itibaren 12. gün sonunda gruptaki hayvanların her iki kulağına DPOAE ve ABR ölçümleri yeniden yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı.

c) İlaç grubu – 200mg/ml (3.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 90mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 20 mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak ABR ve DPOAE ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 20-24°C sıcaklıkta, serbest adlibitum yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'n n altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara 1. günden itibaren 200mg/ml Asiklovir(Zovirax

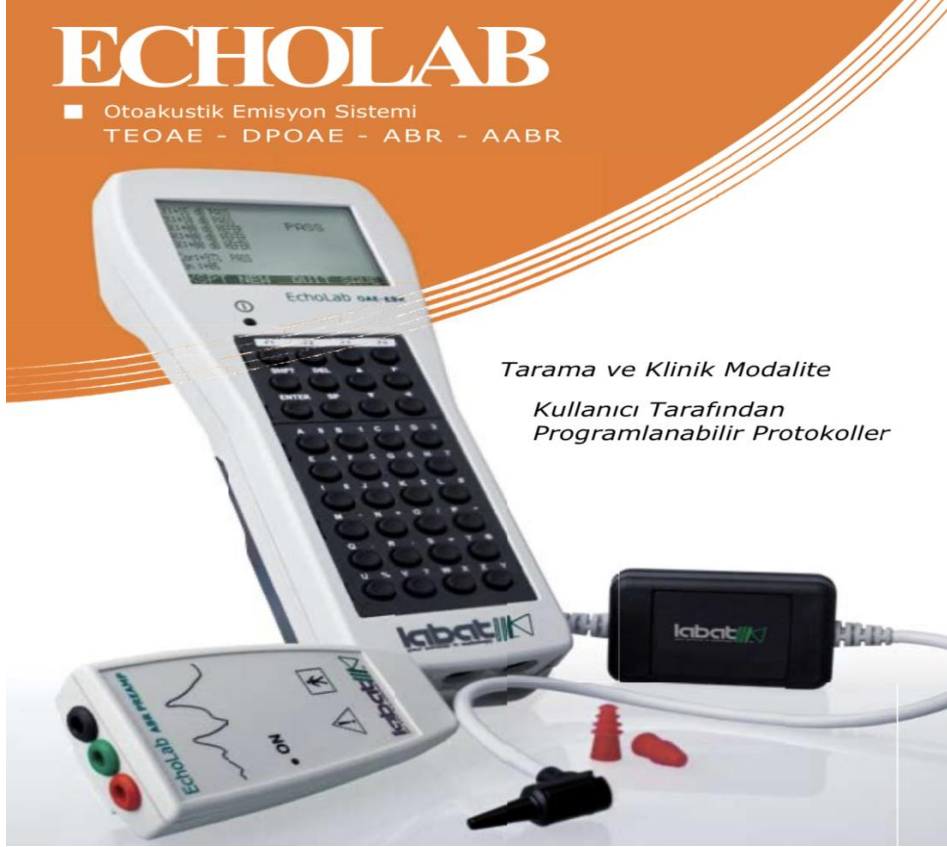
250mg 1 flakon, Glaxosmithkline) enjeksiyonu 5 gün boyunca yapıldı. İntratimpanik enjeksiyon mikroskop altında gerçekleştirildi. Öncelikle timpanik membrane identifiye edildi ardından timpanik membrana dental enjektör ile 1 adet girişim yapıldı, ardından 2. Noktadan girişim yapılarak enjeksiyon orta kulak hacmini dolduracak miktarda 0,3-0,5ml sıvı enjeksiyonu gerçekleştirildi. Ardından ratlar 7 gün boyunca anestezi ajanları ve enjeksiyonun yarattığı travma etkisinin geçmesi için normal yaşam alanında bekletildi. İlk enjeksiyon gününden itibaren 12. gün sonunda gruptaki hayvanların her iki kulağına DPOAE ve ABR ölçümleri yeniden yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB’i geçmediği bir odada yapıldı.

Gereçler

DPOAE ölçümlerinde *Labat Echolab* cihazı kullanılmıştır. Ölçümler sessiz (50 dB’in altında) bir odada yapılmıştır. Ratların dış kulak kanalına probun tam oturması için en küçük boy kauçuk tip timpanometri probu kullanılmıştır. Tüm ölçümler ratların kafası yere yatay pozisyonda iken yapılmıştır. Emisyonlar genel tanısal modda Distorsiyon ürünü diagram (DPgram) olarak ölçülmüştür. F2/F1 oranı 1:10 olarak seçilmiş şiddet seviyesi 55, 65 dB ($L_2=L_1-10$) olarak belirlenmiştir. DPgram ölçümü 520, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6040, 6640 Hz frekanslarında yapılmıştır. DPOAE amplitüdlerinin gürültü eşiğinin 3 dB üstündeki değerleri anlamlı kabul edilmiştir. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde oluşan sinyalin gürültüye oranı esas alınmıştır.

ABR ölçümleri sessiz bir odada (50 dB’in altında) *Hedera Biomedics ‘Socrates’* cihazı ile subkutan iğne elektrotlar kullanılarak yapılmıştır. Aktif elektrot test edilen mastoid bölgesi cilt altına, toprak elektrot vertexe, referans elektrot test edilmeyen mastoid cilt altına yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır. Ölçümde ER-3A insert kulaklık, alternate polarite 21,7/s rate klik uyaran ve 8 kHz tone burst uyaran , 25 msn analiz zamanı, ortalama 1024 sweep, 30-1500 Hz filtreleme kullanılmıştır. Uyaran 90 dB nHL şiddetinden başlatılmış ve 20 dB basamaklar halinde II. dalganın görüldüğü en

düşük şiddete kadar inilerek eşik taraması yapılmıştır. ABR eşığı; II. dalganın gözleendiğı minimum şiddet seviyesi olarak tanımlanmıştır. Eşik seviyesinde çift trase dalga alınarak dalga tekrarı gözlenmiştir.



Resim 7: Elektrofizyolojik ölçümlerden DPOAE Labat Echolab cihazı kullanılarak gerçekleştirildi



Resim 8: DPOAE yapılırken probun yerleşimi

SOCRATES

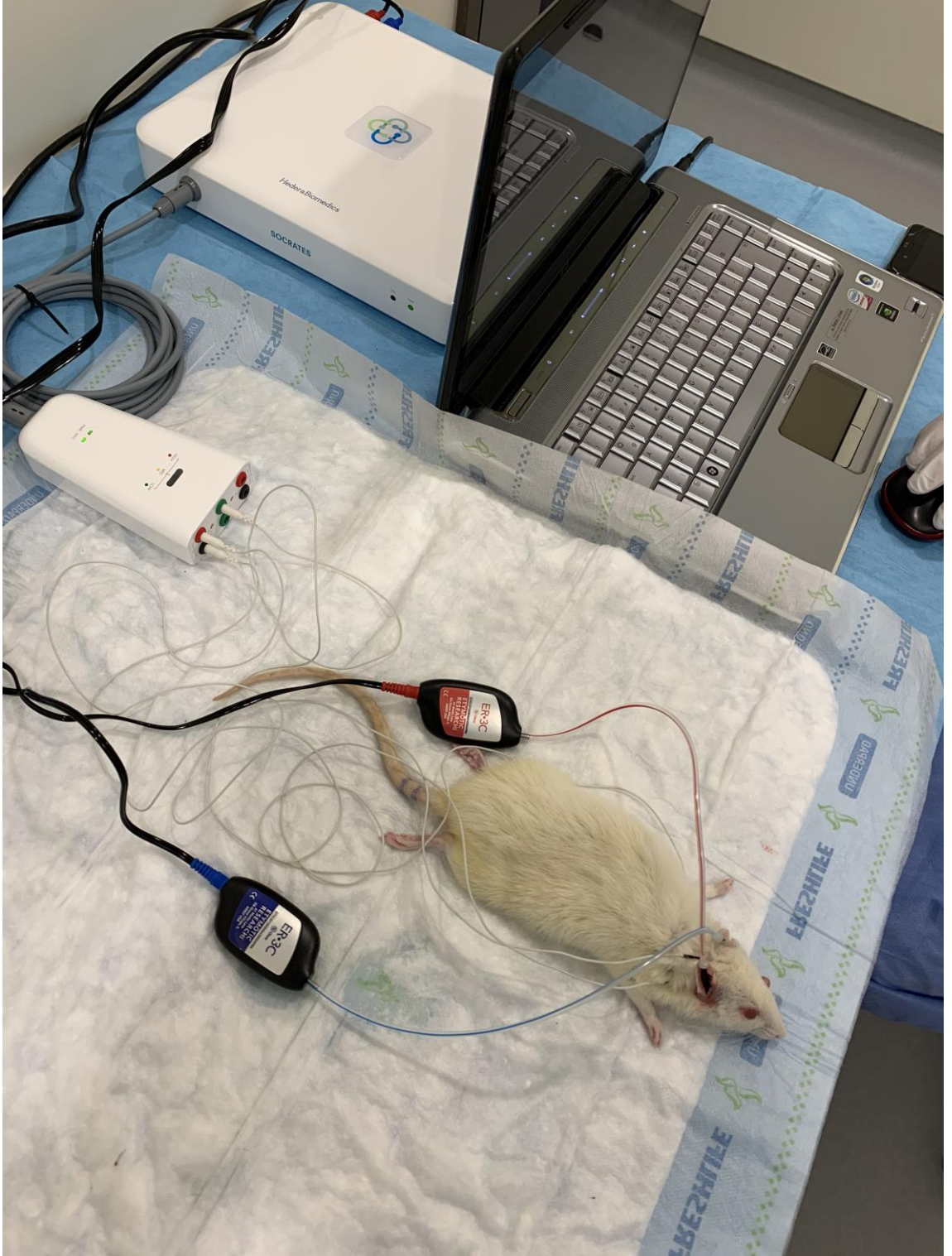
Front



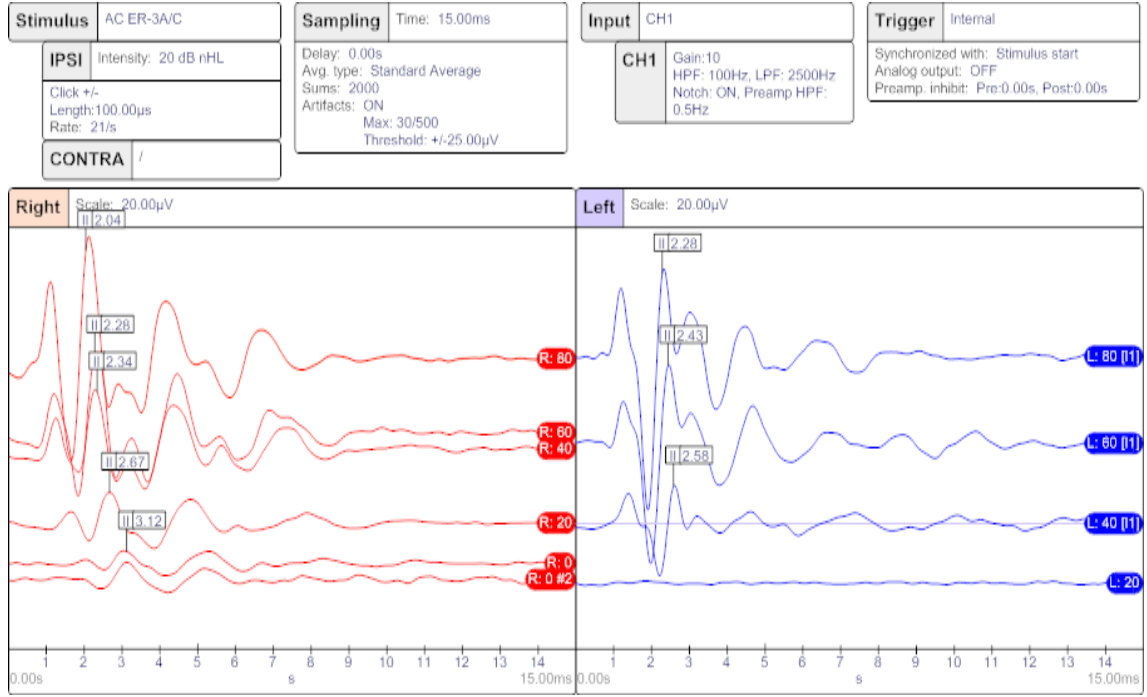
Rear



Resim 9: Elektrofizyolojik ölçümlerden ABR ölçümü *Hedera Biomedics 'Socrates'* cihazı kullanılarak gerçekleştirildi



Resim 10: ABR kaydı yapılırken



Resim 11: Sıçanda ABR ekran görüntüsü (Click uyararı)



Resim 12: Orta kulağa enjeksiyon yapılması; Mikroskop eşliğinde dental enjektör ucu (26 Gauge), spekulum kullanılarak timpanik membranı geçip orta kulak boşluğuna yapıldı.

5. BULGULAR

DPOAE

Grup içi karşılaştırmalar

Tablo 2: Salin Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
520	-5.86±5.61	-5.43±6.024	0.901
1000	-2.57±5.125	-2±3	0.823
2000	4.86±8.55	7.29±5.31	0.361
3000	10.71±10.14	17.29±10.85	0.209
4000	13.14±12.08	13±13.98	0.977
5000	13.57±15.79	20.86±10.69	0.211
6040	7±15.39	7.86±9.52	0.892
6640	8.29±18.63	2.71±11.51	0.299

*paired t testine ait p değerleridir.

Salin grubunda yapılan istatistiksel karşılaştırma sonuçlarına göre her bir frekansın kendi içinde bazal ve işlem sonrası değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı yoktur ($p>0.05$).

Tablo 3: 50 mg Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
520	-6.29±8.46	-3.14±5.87	0.483
1000	0±4.65	-2.71±4.64	0.367
2000	6.86±6.33	8.29±4.92	0.709
3000	17.14±9.65	15.29±7.56	0.638
4000	25.43±10.51	18.86±12.29	0.188
5000	19.86±11.12	22±10.06	0.614
6040	20±11.67	15.71±11.04	0.012
6640	16.43±10.59	12.43±14.14	0.208

*paired t testine ait p değerleridir.

50 mg grubunda yapılan istatistiksel karşılaştırma sonuçlarına göre 6040 frekansın dışında her bir frekansın kendi içinde bazal ve işlem sonrası değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı yoktur ($p>0.05$). 6040 frekansı değerlendirildiğinde ise bazal olarak ortalama değeri işlem sonrasındaki ortalamaya göre daha yüksek olup işlem sonrası bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.012$).

Tablo 4: 200 mg Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
520	-7±11.12	-3.14±5.90	0.428
1000	-4±5.26	-7.14±5.49	0.362
2000	6.29±6.02	8.14±11.36	0.574
3000	10.71±11.19	13.29±18.02	0.774
4000	15.57±13.75	17.71±14.78	0.762
5000	22.86±13.64	17±16.82	0.480
6040	16.29±14.94	2.29±11.32	0.083
6640	19±15.14	-4±6.90	0.018

*paired t testine ait p değerleridir.

200 mg grubunda yapılan istatistiksel karşılaştırma sonuçlarına göre 6640 frekansın dışında her bir frekansın kendi içinde bazal ve işlem sonrası değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı yoktur ($p>0.05$). 6640 frekansı değerlendirildiğinde ise bazal olarak ortalama değeri işlem sonrasındaki ortalamaya göre daha yüksek olup işlem sonrası bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.018$).

Tablo 5: Gruplararası karşılaştırmalar

Gruplar				
	Salin	50 mg	200 mg	p-value
520 bazal	-5.86±5.61	-6.29±8.46	-7±11.12	0.970
520 işlem	-5.43±6.024	-3.14±5.87	-3.14±5.90	0.712
1000 bazal	-2.57±5.125	0±4.65	-4±5.26	0.342
1000 işlem	-2±3	-2.71±4.64	-7.14±5.49	0.095
2000 bazal	4.86±8.55	6.86±6.33	6.29±6.02	0.863
2000 işlem	7.29±5.31	8.29±4.92	8.14±11.36	0.967
3000 bazal	10.71±10.14	17.14±9.65	10.71±11.19	0.424
3000 işlem	17.29±10.85	15.29±7.56	13.29±18.02	0.847
4000 bazal	13.14±12.08	25.43±10.51	15.57±13.75	0.165
4000 işlem	13±13.98	18.86±12.29	17.71±14.78	0.704
5000 bazal	13.57±15.79	19.86±11.12	22.86±13.64	0.447
5000 işlem	20.86±10.69	22±10.06	17±16.82	0.752
6040 bazal	7±15.39	20±11.67	16.29±14.94	0.234
6040 işlem	7.86±9.52	15.71±11.04	2.29±11.32	0.087
6640 bazal	8.29±18.63	16.43±10.59	19±15.14	0.404
6640 işlem	2.71±11.51	12.43±14.14	-4±6.90	0.043

*One Way Anova testine ait p değeridir. Post-hoc : Salin-50 p=0.372, Salin-200 p=0.838, 50-200 p=0.041

Gruplararası karşılaştırmalar yapıldığında, 6640 frekansında işlem sonrası gruplar arasında anlamlı bir farklılığa sahiptir ($p=0.043$). Üç gruptan hangi ikili grup arasında anlamlı farklılık olduğunu belirlemek için yapılan post hoc test sonucuna göre farklılığın 50 mg ve 200 mg gruplarından dolayı olduğu sonucuna varılmıştır. Buna göre 6640 frekansında işlem sonrası 50 mg grubunda 200 mg grubuna kıyasla ortalama daha yüksektir. Diğer frekansların bazal ve işlem sonrası değerleri gruplararasıda anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0.05$).

Son 3 frekansın (5000-6040-6640) ortalaması alınarak yapılan karşılaştırmalar

Tablo 6: Gruplararası

Gruplar				
	Salin	50 mg	200 mg	p-value
Ortalama bazal	9.61±15.93	18.76±10.48	19.38±13.67	0.342
Ortalama işlem	31.42±25.39	50.14±33.49	15.28±28.54	0.112

*One Way Anova testine ait p değeridir.

Son üç frekansın ortalamasına göre yapılan gruplararası karşılaştırmalarda üç grup arasında ortalama işlem ve bazal bakımından anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0.05$).

ABR

Grup içi karşılaştırmalar

Tablo 7: Salin Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
TB	28.57±13.45	35.71±17.18	0.310*
Click	10(0-70)	20(0-50)	0.564**

*paired t teste ait sonuçlardır. ** Wilcoxon testine ait sonuçlardır.

TB ve Click değerleri salin grubunda bazal ve işlem sonrası olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. (p>0.05)

Tablo 8: 50 mg Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
TB	20(20-50)	50(20-60)	0.141**
Click	11.43±8.99	21.43±16.76	0.111*

*paired t teste ait sonuçlardır. ** Wilcoxon testine ait sonuçlardır.

TB ve Click değerleri 50 mg grubunda bazal ve işlem sonrası olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. (p>0.05)

Tablo 9: 200 mg Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
TB	37.14±19.76	50±29.43	0.306*
Click	20(0-20)	20(0-70)	0.102**

*paired t teste ait sonuçlardır. ** Wilcoxon testine ait sonuçlardır.

TB ve Click değerleri 200 mg grubunda bazal ve işlem sonrası olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. ($p>0.05$)

Tablo 10: Gruplararası karşılaştırmalar

Gruplar				
	Salin	50 mg	200 mg	p-value
Click bazal	10(0-70)	10(0-20)	20(0-20)	0.947
Click işlem	20(0-50)	20(0-40)	20(0-70)	0.904
TB bazal	30(10-50)	20(20-50)	30(20-70)	0.665
TB işlem	40(10-60)	50(20-60)	50(10-90)	0.596

Kruskal Wallis testine ait p değerleridir.

Click ve TB bazal ve işlem sonrası değerleri salin, 50 mg, 200 mg grupları arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0.05$).

Click ve TB ortalaması alınarak yapılan karşılaştırmalar

Tablo 11: Salin Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
Ortalama	23.57±14.92	28.57±16.51	0.309

*Paired t teste ait p değeridir.

Salin grubunda ortalama alınarak oluşturulan frekansın bazal ve işlem sonrası bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0.309$).

Tablo 12: 50 mg Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
Ortalama	20±8.16	31.42±15.99	0.130

*Paired t teste ait p değeridir.

50 mg grubunda ortalama alınarak oluşturulan frekansın bazal ve işlem sonrası bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0.130$).

Tablo 13: 200 mg Grubu

	Bazal	İşlem	p-value
Ortalama	25±10.40	40±27.53	0.161

*Paired t teste ait p değeridir.

200 mg grubunda ortalama alınarak oluşturulan frekansın bazal ve işlem sonrası bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0.161$).

Tablo 14: Gruplararası karşılaştırmalar

Gruplar				
	Salin	50 mg	200 mg	p-value
Ortalama bazal	23.57±14.92	20±8.16	25±10.40	0.709
Ortalama işlem	28.57±16.51	31.42±15.99	40±27.53	0.572

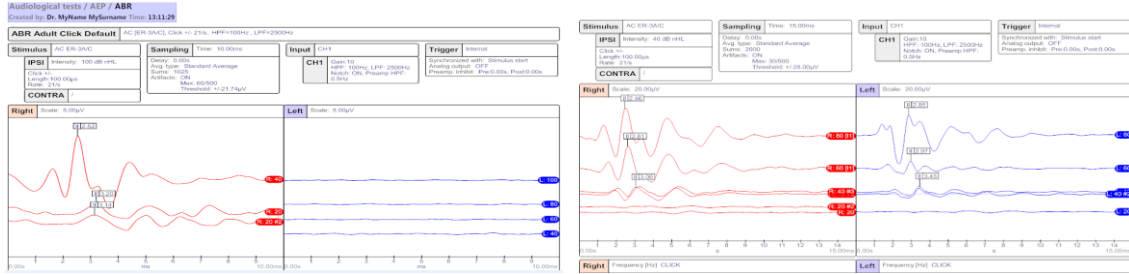
One Way Anova testine ait p değerleridir.

Click ve TB bazal ve işlem sonrası değerleri ortalama alınarak salin, 50 mg, 200 mg grupları arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0.05$).

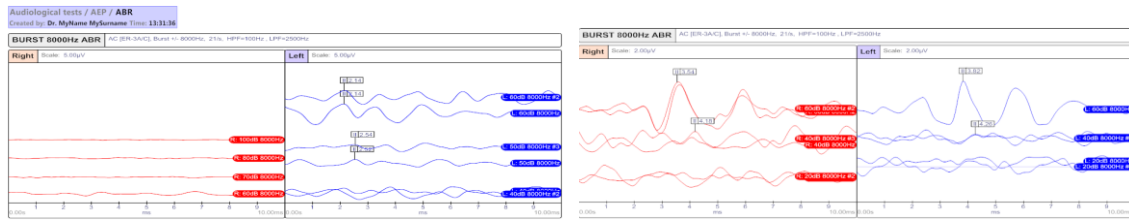
1. Grup (Salin Grubu)

1.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:

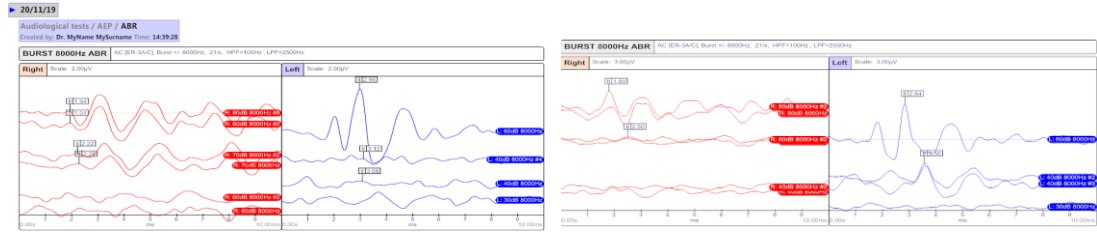


Tone Burst ABR uyarımı:



DPOAE sonucu:



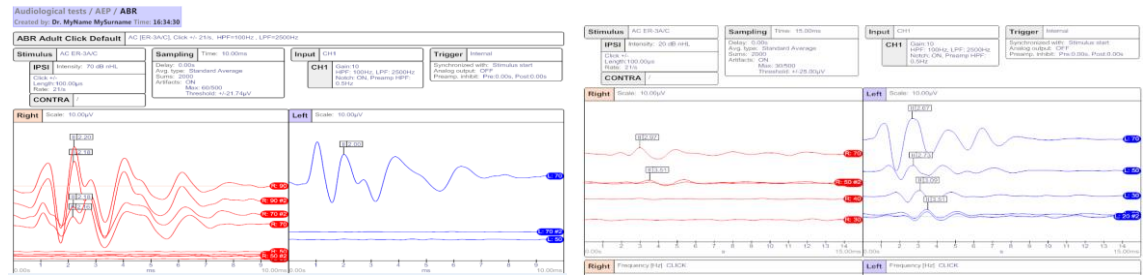


DPOAE sonucu:

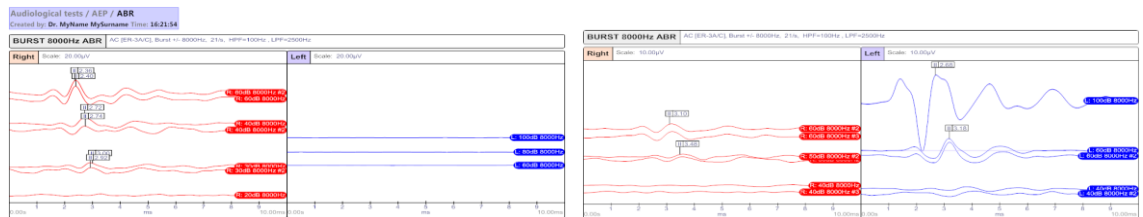


3.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

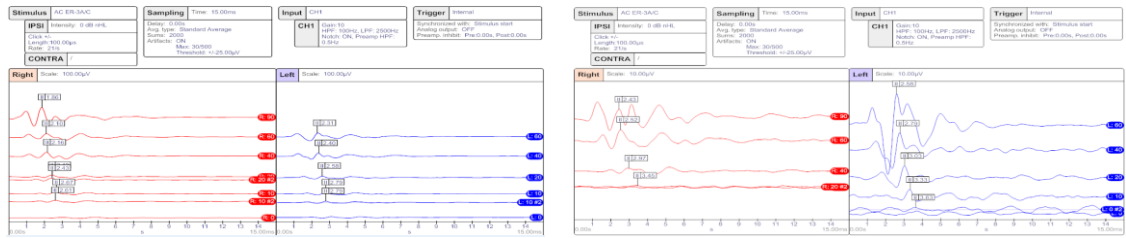


DPOAE sonucu:

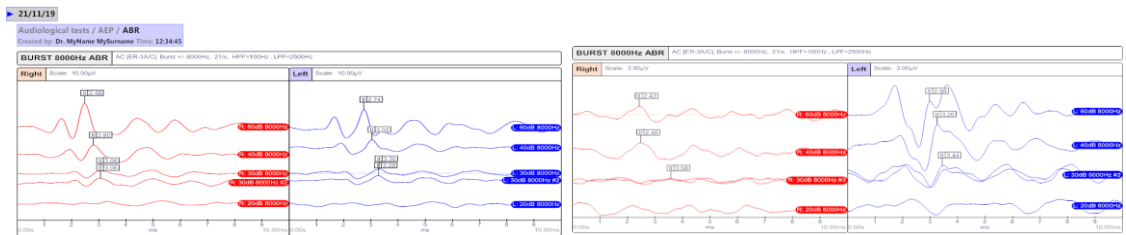


4.Rat (Enj. Kulağı: Sol Kulak)

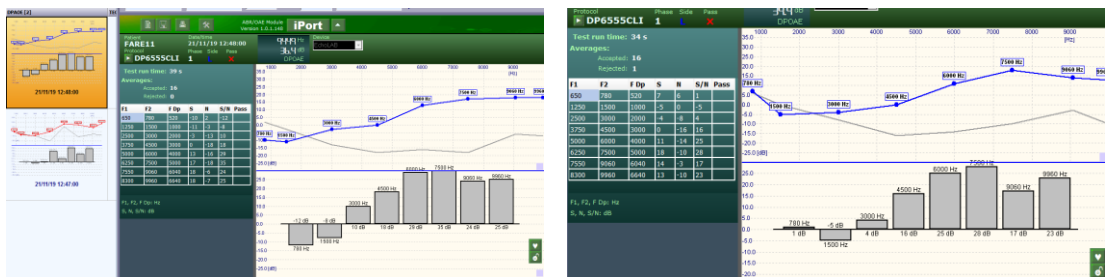
Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

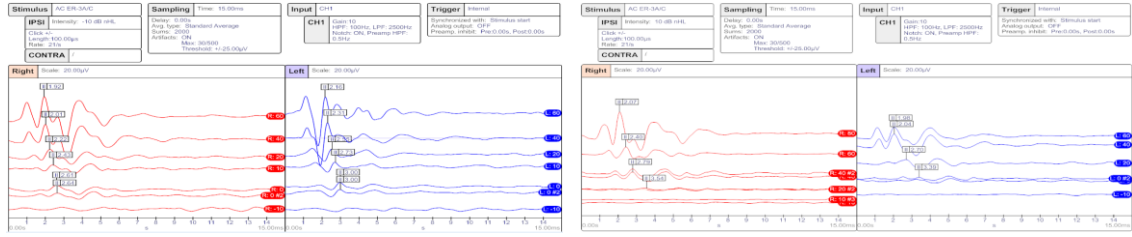


DPOAE sonucu:

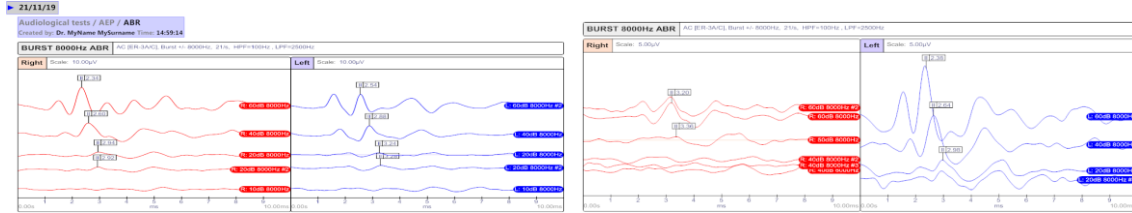


5.Rat (Enj. Kulağı: Sol Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

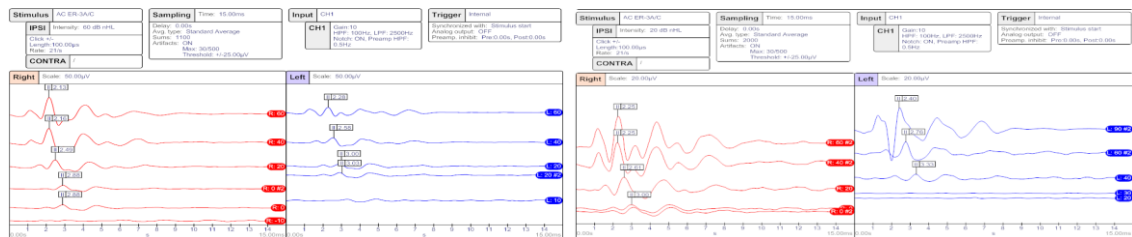


DPOAE sonucu:

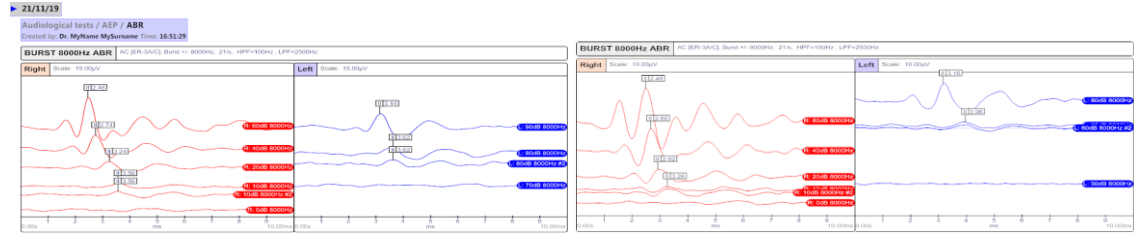


6.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

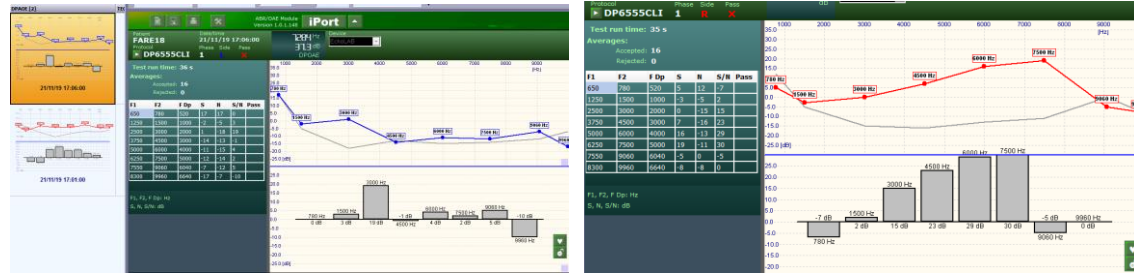
Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

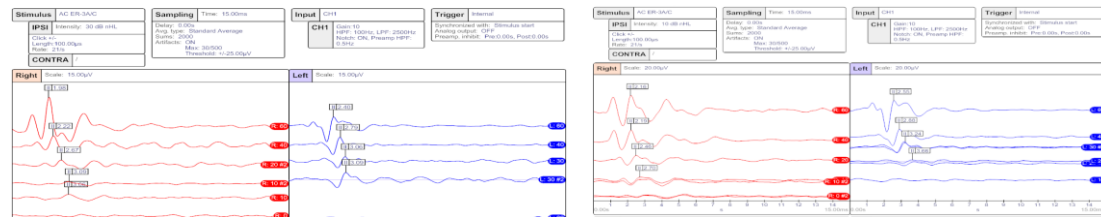


DPOAE sonucu:

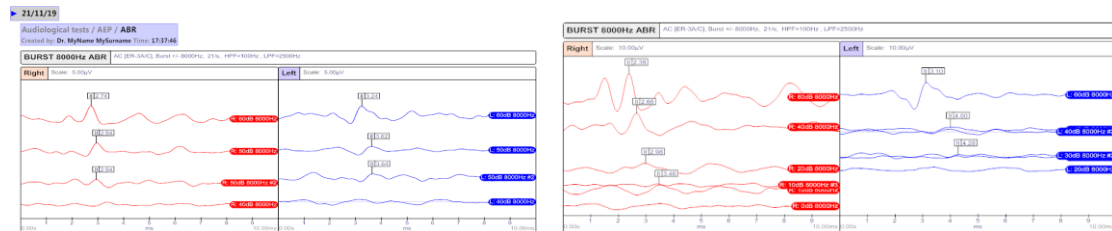


7.Rat (Enj Kulağı: Sağ Kulak)

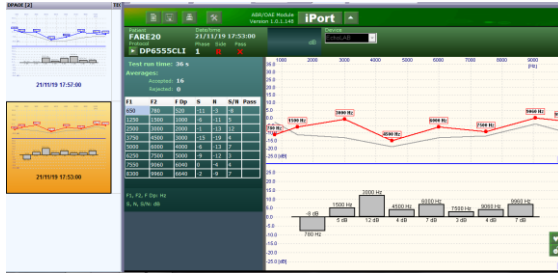
Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:



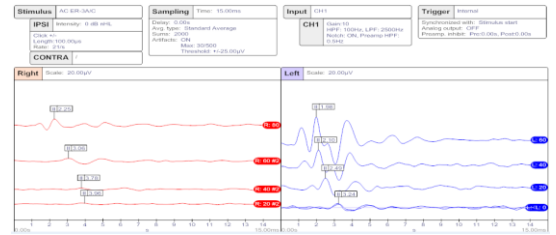
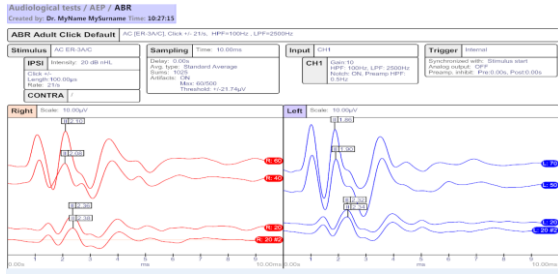
DPOAE sonucu:



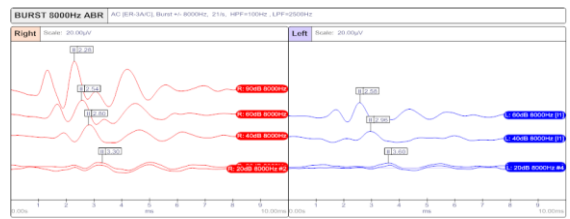
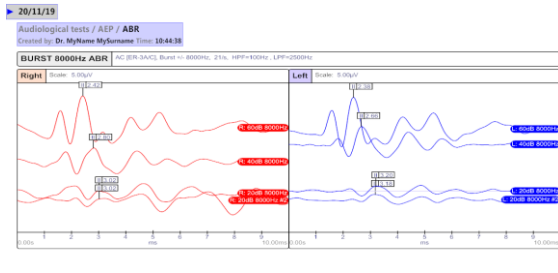
2. Grup (50 mg/ml İntratifimpanik Asiklovir Enjeksiyon Grubu)

1.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

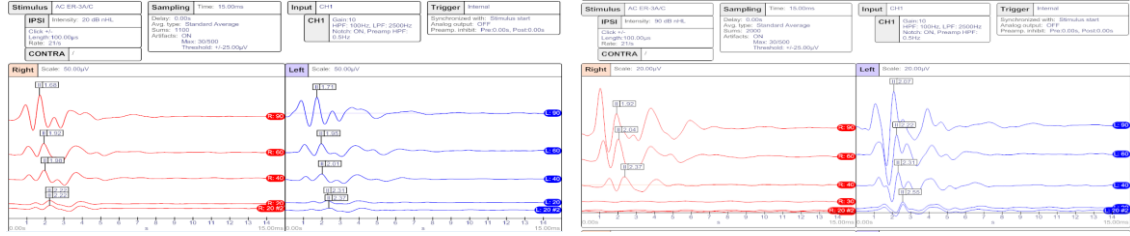


DPOAE sonucu:

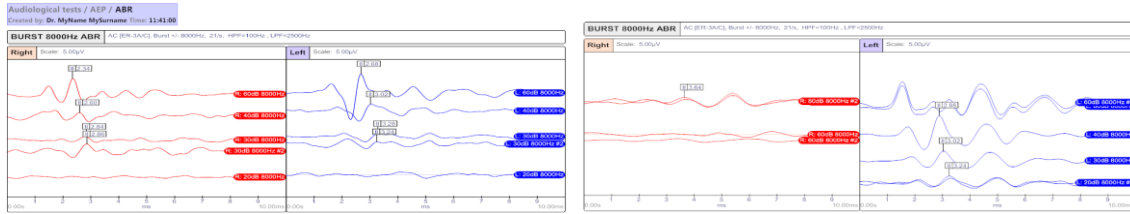


2.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

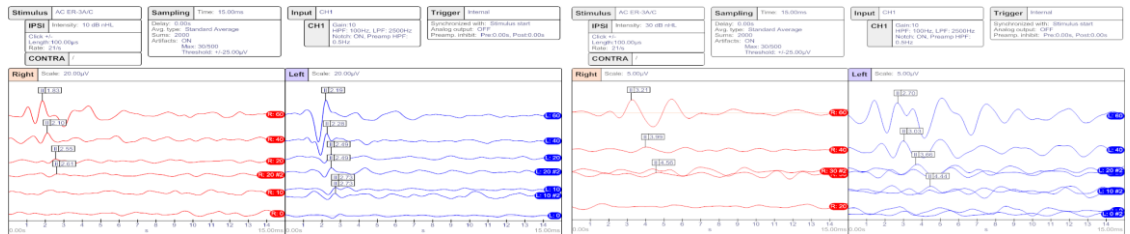


DPOAE sonucu:

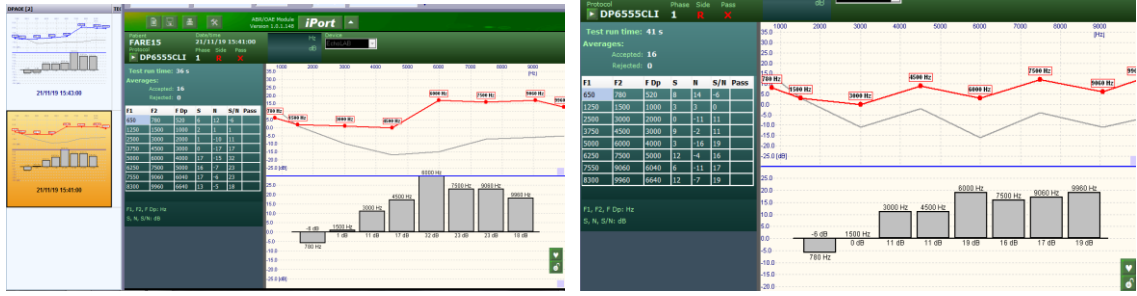


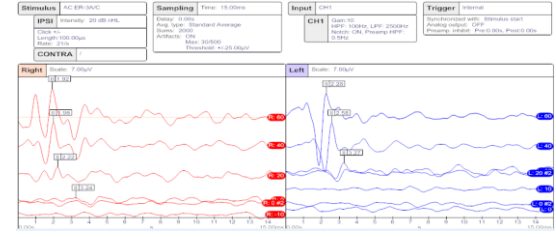
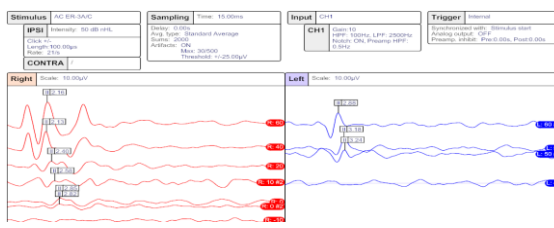
3.Rat (Enj. Kulağı: Sol Kulak)

Click ABR uyarımı:

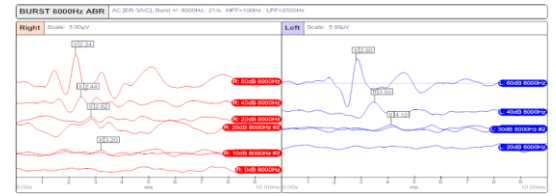
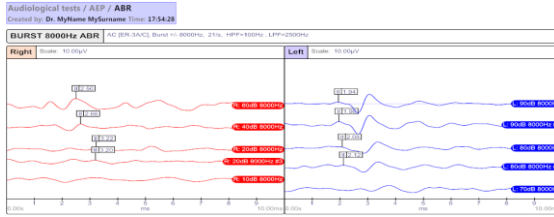


Tone Burst ABR uyarımı:

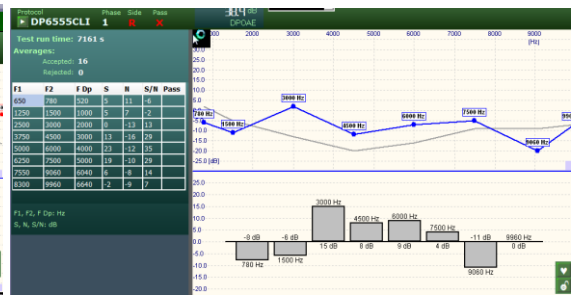




Tone Burst ABR uyarımı:

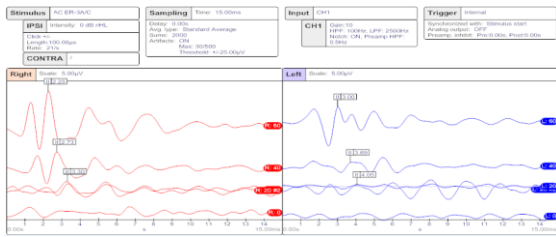
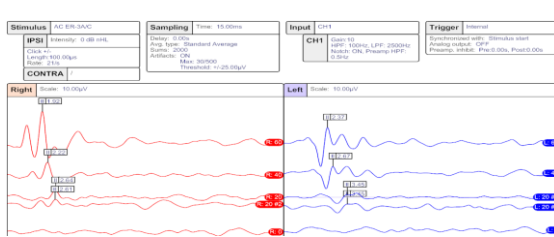


DPOAE sonucu:

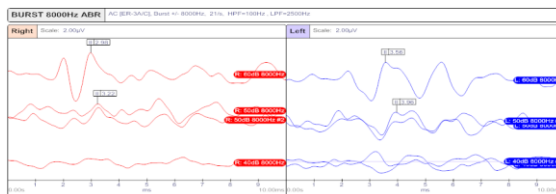
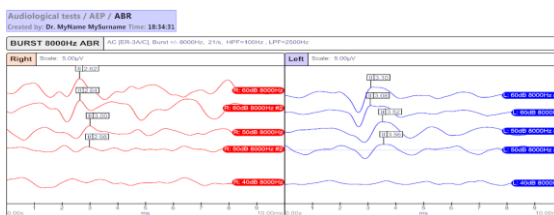


7.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:



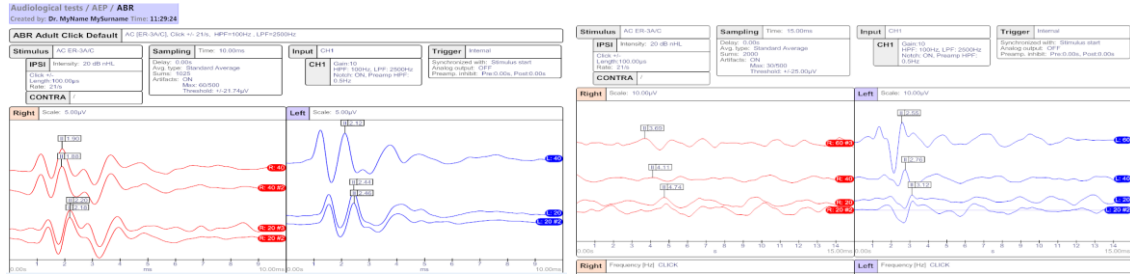
DPOAE sonucu:



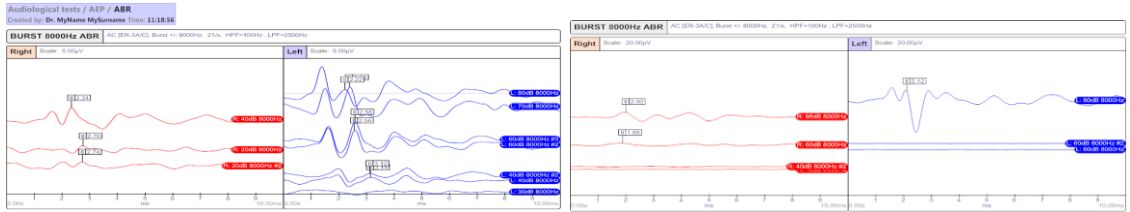
3. Grup (200 mg/ml İntratimpanik Asiklovir Enjeksiyon Grubu)

1.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

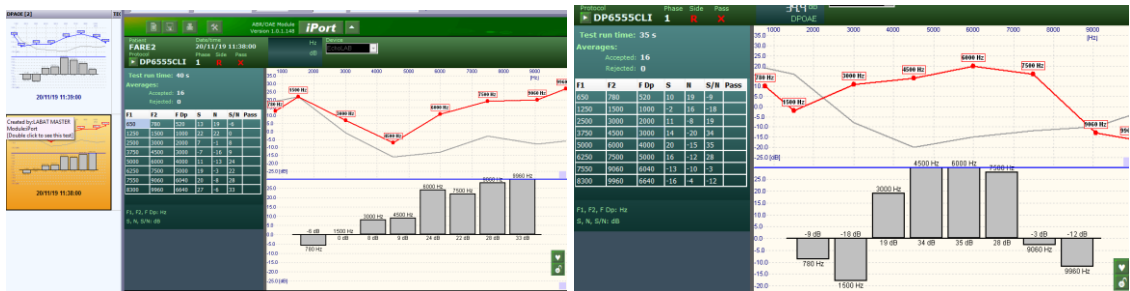
Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

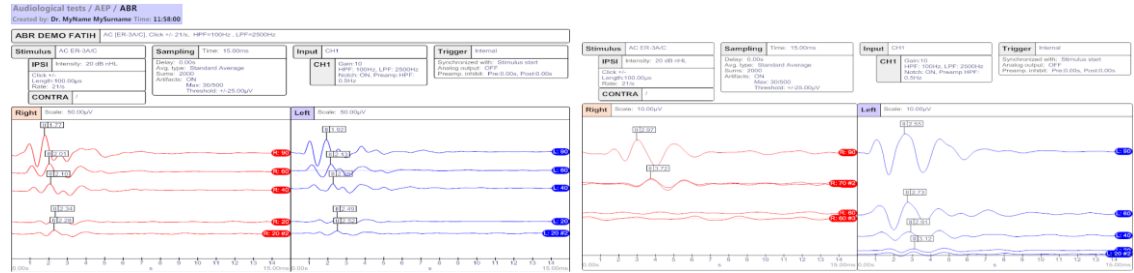


DPOAE sonucu:

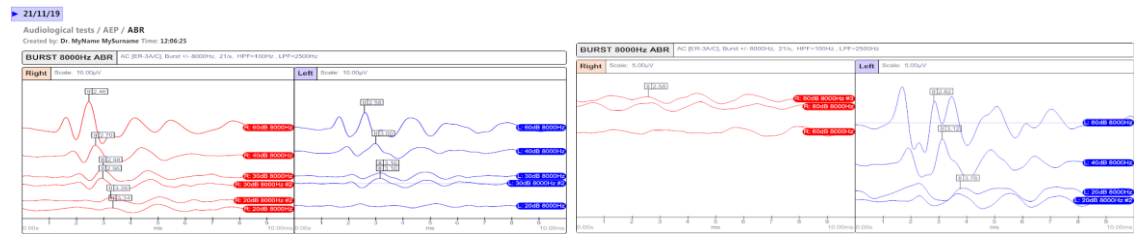


2.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

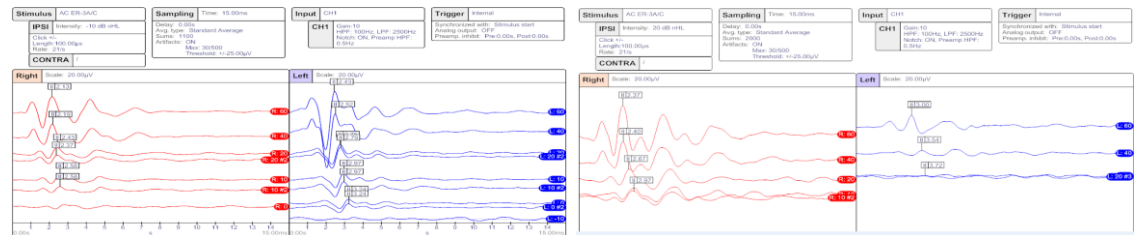


DPOAE sonucu:



3.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

Click ABR uyarımı:

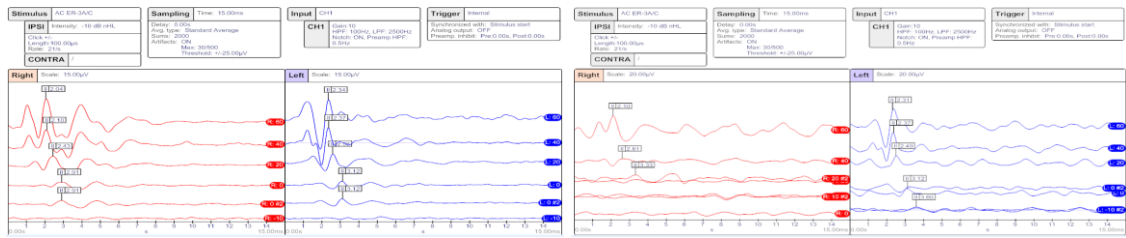


Tone Burst ABR uyarımı:

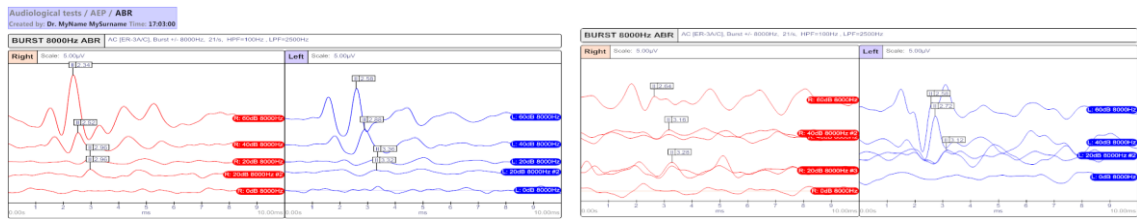


5.Rat (Enj. Kulağı: Sağ Kulak)

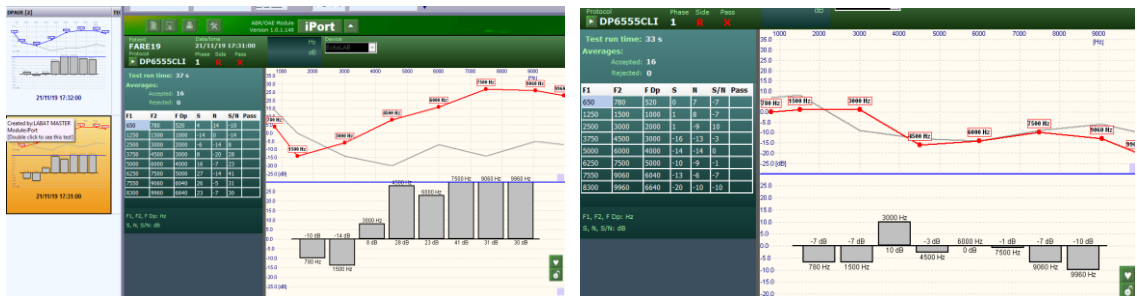
Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

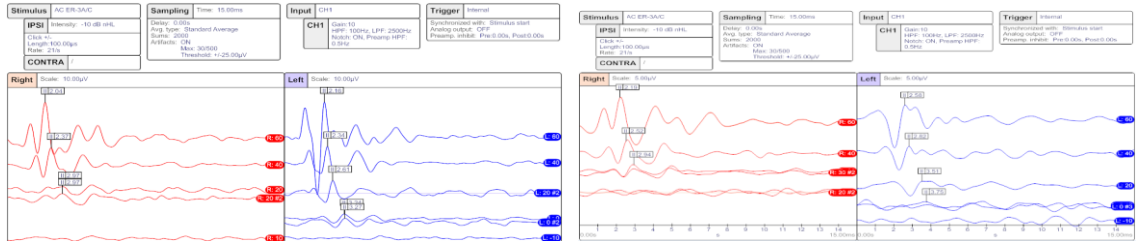


DPOAE sonucu:

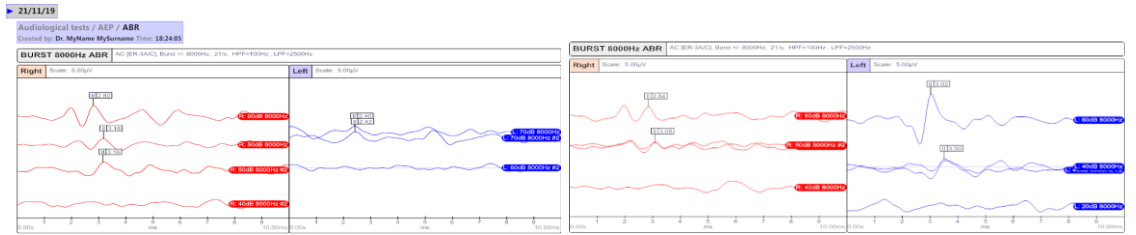


6.Rat (Enj. Kulağı: Sol Kulak)

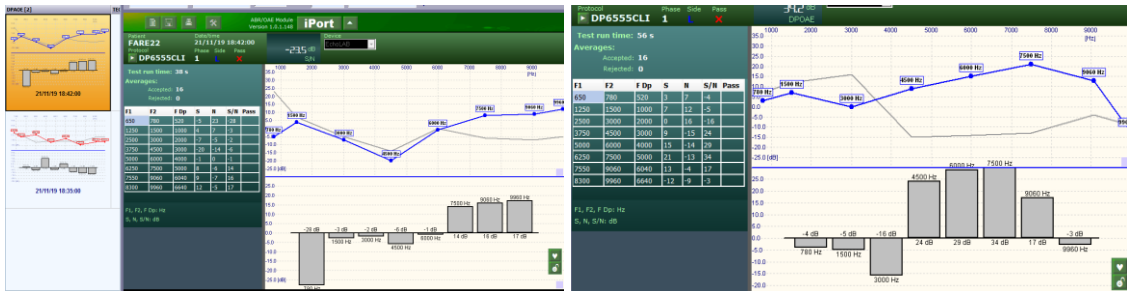
Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:

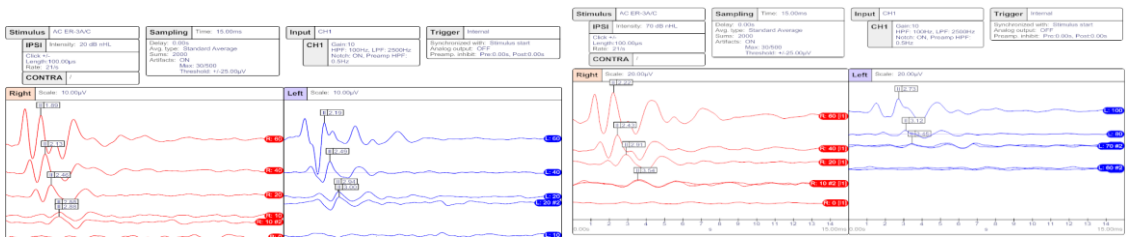


DPOAE sonucu:

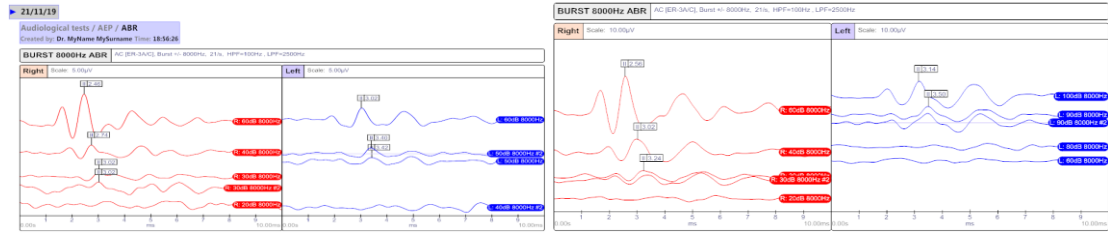


7.Rat (Enj. Kulağı: Sol Kulak)

Click ABR uyarımı:



Tone Burst ABR uyarımı:



DPOAE sonucu:



6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya katılan tüm sıçanlarda DPOAE sonuçları ve ABR dalgaları elde edilmiş çalışma buna göre yorumlanmıştır.
2. Enjeksiyon çalışmaya katılan tüm ratların tek kulağına uygulanmış ve enjeksiyon yapılan kulakların değerleri yorumlanmıştır.
3. Salin ve Asiklovir, intratimpanik enjeksiyon yoluyla lokal olarak uygulanmıştır.
4. Salin uygulanan grupta DPOAE ve ABR değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde işlem sonrası işitme kaybı saptanmamıştır.
5. 50mg/ml (rutin tedavi dozu) Asiklovir uygulanan grupta DPOAE testinde değerlendirilen 8 frekanstan sadece birinde(6040 Hz) işitme kaybı lehine bulgu saptanmış, ölçülen Click ve Tone Burst ABR dalgalarında işitme kaybı lehine anlamlı sonuç elde edilmemiştir.
6. 200mg/ml (yüksek doz) Asiklovir uygulanan grupta DPOAE testinde değerlendirilen 8 frekanstan sadece birinde(6640 Hz) işitme kaybı lehine bulgu saptanmış, ölçülen Click ve Tone Burst ABR dalgalarında işitme kaybı lehine anlamlı sonuç elde edilmemiştir.

7. DPOAE ölçümlerinde sıçanlar yüksek frekanslarda daha iyi duyduğu için en yüksek 3 frekansın (5000-6040-6640) ortalama değerleri karşılaştırıldığında işitme kaybı lehine anlamlı bulgu saptanmamıştır.
8. Gruplararası karşılaştırma yapıldığında DPOAE testinde değerlendirilen 8 frekanstan sadece birinde(6640 Hz) işitme kaybı lehine bulgu saptanmış, ölçülen Click ve Tone Burst ABR dalgalarında işitme kaybı lehine anlamlı sonuç elde edilmemiştir.
9. Click ve Tone Burst ABR ölçümlerinde saptanan dalgaların ortalama değerleri hesaplandığında; Salin, 50mg/ml Asiklovir enjeksiyonu, 200mg/ml Asiklovir enjeksiyonu gruplarının üçünde de işitme kaybı lehine bulgu saptanmamıştır.
10. Bu bilgiler ışığında yaptığımız çalışmada antivirallerin ana ilacı kabul edilen Asiklovir etken maddesinin lokal olarak intratimpanik enjeksiyonda kullanımı sonucunda ototoksik bir etkisi olmadığı düşünülmektedir.
11. Hayvanlarda uyguladığımız bu deneysel çalışmamızın daha geniş seride ve sonrasında insan modeline uyarlanmasına yönelik araştırmalara ihtiyaç vardır.
12. Asiklovir'in viral nedenli olduğu düşünülen işitme kaybı, meniere vb. hastalıklarda sistemik yan etkilerden korunma amaçlı intratimpanik lokal tedavi yöntemi olarak kullanılabileceğini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. TARTIŞMA

Ani işitme kaybı, otoskleroz, tinnitus, Meniere hastalığı vb. birçok hastalığın tedavisinde çeşitli intratimpanik enjeksiyon tedavileri gündemde yer almaktadır.¹⁻² İntratimpanik enjeksiyonlarda en fazla çalışılan ilaç grubu kortikosteroidlerdir. Steroidlerin ani işitme kaybı, meniere, tinnitus, otoskleroz vb. iç kulak ve orta kulağı ilgilendiren hastalıklarda tedavi edici etkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Sabbagh¹ ve arkadaşları yaptıkları derleme sonucunda intratimpanik uygulanan steroid ile sistemik steroid uygulamasını karşılaştırmış ve tedavide birbirlerine üstünlük sağlamadıklarını göstermişlerdir. Bu da intratimpanik lokal tedavilerin etkinliği konusunda umut vermektedir. Özellikle ani işitme kayıplı olguların çoğunda altta yatan nedenlerin saptanamaması, kayba neden olabilecek birçok hastalık olması ve acilen tedaviye başlanması gerekliliği nedeni ile en kısa sürede muhtemel birçok patolojiyi tedavi etmek için birden çok ilaç aynı anda verilmektedir.⁷¹

İşitme kaybı etiolojisinde viral enfeksiyonların etkili olduğunu destekleyen çalışmalar vardır. 1991 yılında Seltzer ve Mark⁶⁹ yaptıkları çalışmada, ani işitme kaybı (AİK) devam ettiği süre boyunca çekilen manyetik rezonans görüntüleme (MRG) incelemelerinde enflamasyonla uyumlu bulgular saptamışlardır. Semptomların azaldığı dönemde ise bulguların kaybolması etken olarak sıklıkla viral-enflamatuvar patolojinin varlığını desteklemektedir. Güncel literatürde daha çok araştırmacının oral antiviral kullanması önerilmiştir. Bununla birlikte antiviral ajan dışında interferon dahil intravenöz ajanların kullanıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur.⁷⁰ Biri valasiklovir⁷¹

diğeri asiklovirle¹⁰ iki randomize çift kör, plasebo kontrollü çalışma yapılmıştır. Hayvan çalışmalarında herpes simplex virüs labirentiti olan hayvanlara prednisolon ve asiklovir kombine tedavisi verilmesinin, kokleaya her iki maddenin tek başına verilmesine göre daha az hasar verdiği görülmüştür. Asiklovir veya valasiklovire duyarlı bir virüs ile oluşan AİK vakalarında oral antiviral kullanmak hastalığın doğal ilerleyişinden daha iyi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.⁷²

Sonraki yıllarda yapılan birçok çalışmada bahsettiğimiz vestibülokoklear sistem hastalıklarının etiyolojisinde ise viral patojenlerin -özellikle herpes grubu virüsler- yer aldığı iddia edilmiştir.³⁻⁶ Gacek ve arkadaşlarının vestibüler nöropati ve Meniere hastalığı bulunan hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 34 aylık periyotta 147 adet hasta oral asiklovir ile tedavi edilmiştir. Morfolojik ve klinik bulgular; herpes virüsünün, vestibüler nöropatinin ve Meniere hastalığının etiyolojisinde yer aldığını göstermiştir. Elektron mikroskopi görüntülerinde vestibüler gangliyon hücrelerini invaze eden herpes virüslerini ortaya koymuşlardır.³

Zadeh ve ark. steroid ve antiviral ilaçtan oluşan tedavi protokollerinin etkinliğini araştırmak amacıyla 51 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada %73 oranında işitmede iyileşme bildirmişlerdir. Bu çalışmada antiviral ilaç olarak Valasiklovir kullanılmış ve rutin tedavi dozu 4 x 500mg şeklinde oral yoldan verilmiştir. Uyguladıkları tedavinin spontan iyileşme oranlarına üstünlüğünü vurgulamışlardır.⁷²

Chau ve arkadaşlarının 144 yayından oluşan derlemesinde ise ani işitme kaybı etiyolojisinde %12.8 oranında infeksiyöz hastalıkların olduğu, infeksiyöz etiyolojinin de %17' sinin herpes grubu virüslere bağlı durumlar olduğunu belirtmişlerdir.⁵ Ani işitme kaybı sıklığını göz önünde bulundurduğumuzda viral etiyolojinin azımsanmayacak düzeyde olduğu düşünülmektedir.

Stokroos ve arkadaşları 12 rat üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada idiopatik sensörinöral işitme kaybı tedavisinde Asiklovir' in etkinliğini araştırmak üzere 12 adet hayvanda deneysel HSV-1 labirentit modeli geliştirmişlerdir. Çalışmanın ortaya çıkma sorusu, steroidlerin ani işitme kaybı üzerine iyileştirici etkisinin bilindiği halde antiviraller konusunda yeteri kadar bilgi sahibi olunmamasıdır. Bu çalışmada, 3 hayvana tedavi verilmemiş, 3 hayvana sadece steroid tedavisi verilmiş, 3 hayvana da sadece antiviral tedavi uygulanmıştır. Fakat yapılan bu tedavilerde bizim çalışmamızdan

farklı olarak, Prednizolon ve Asiklovir enjeksiyonu intraperitoneal yolla verilmiştir. Çalışmada en etkin iyileşme Prednizolon-Asiklovir kombinasyon tedavi alan grupta meydana gelmiştir.⁷ Yine Stokroos ve arkadaşları tarafından yapılan prospektif randomize ve çift körlü çalışmada 44 hasta üzerinde intravenöz yolla uygulanan antiviral tedavinin idiyopatik sensörinöral işitme kaybı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 22 hastaya Prednizolon-Asiklovir kombinasyonu uygulanmış, 22 hastaya ise plasebo ve Prednizolon uygulaması yapılmıştır. Çalışmaya katılanların %30'u yakın zamanda üst solunum yolu enfeksiyonu geçirmiş, %26'sı herpes labialis enfeksiyonu geçirmiş, %7'si ise herpes zoster geçirmiş bir gruptan seçilmiştir. Bu çalışmada ise Asiklovir kombine grubun daha iyi prognoza sahip olduğu gözlemlenmiştir.¹⁰ Bahsedilen çalışmalar ve literatürde yaptığımız birçok farklı araştırmada Asiklovir' in tedavi edici etkisinin olduğunu ancak bu ilacın lokal intratimpanik uygulamasının araştırılmadığını saptadık. Tüm bu çalışmalar, vestibulokoklear hastalıkların sebepleri arasında viral enfeksiyonların önemli bir yer aldığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda Asiklovir'in tercih edilme sebebi herpes grubu virüslerin temel ilacı kabul edilmesidir. Asiklovir moleküler ağırlığı 225,2 mg/mol, biyokimyasal formülü $C_8H_{11}N_5O_3$ olan bir moleküldür. Pürin nükleozitlerinin analogu olarak görev yapar, HSV 1-2, VZV, diğer herpes grubu virüslerin viral DNA polimerazı inhibe ederek etki gösterir. Metabolizasyonu hücre içinde olmaktadır, Guanin aminoasiti derivesi olan Oxopürin'e metabolize olur, atılımı ise böbreklerden olmaktadır. Bu nedenle Asiklovir'in nefrotoksik ve nörotoksik yan etkileri üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlar böbrek hastalığı bulunan veya diyaliz bağımlı hastalarda daha sık karşımıza çıkmaktadır. Asiklovir, Herpes Menenjit'i'nde sıklıkla kullanılan bir ajan olarak karşımıza çıkmakta ve kan beyin bariyerini geçtiğini gösteren çalışmalar mevcuttur.⁶⁶

Riviera ve arkadaşları sensörinöral işitme kayıplarında iç kulağa ilaç iletimi üzerine yaptıkları çalışmada intratimpanik veya intrakoklear uygulama sonrası yuvarlak pencereden ve kan-koklea bariyerinden ilaç emilimini araştırmışlardır. Kan-Beyin bariyerini geçen ilaçların iç kulağa emiliminin olduğunu belirtmişlerdir.⁶⁷ Bu bilgiler ışığında ilacın orta kulağa enjeksiyonu sonrası yuvarlak pencereyi aşarak kokleaya ulaşacağını düşündük. İlacın moleküler özellikleri ile de bu hipotezimizi destekledik.

White ve arkadaşları 36 adet Guinea Pig üzerinde Sidofovir'in deneysel olarak oluşturulan CMV' ye bağlı işitme kaybı modelindeki etkinliğini araştıran bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada kanda PCR ile CMV analizi inokülasyon oluşturulan iki grupta çalışma boyunca takip etmişlerdir. Çalışmada ilk gruba hiçbir şey verilmemiş, ikinci gruba yuvarlak pencereye cerrahi olarak ulaşım steril sıvı verilmiş, 3-4. gruba ise öncelikle akciğere CMV inokülasyonu yapılmış ardından cerrahi olarak yuvarlak pencereye ulaşım iç kulağa CMV inokülasyonu yapılmıştır. 3. gruba intraperitoneal salin, 4. gruba intraperitoneal Sidofovir enjeksiyonu yapılmıştır. Bu çalışmanın bizim çalışmamıza üstünlüğü histopatolojik olarak koklea incelenip koklea sıvısı PCR' da değerlendirilmiştir. 3. grupta belirgin DNA hasarı bulunurken 4. Gruptaki hayvanlarda hiç DNA hasarı gözlenmemiştir. 4. gruptaki hayvanlarda histopatolojik bulgu Reissner membran kalınlaşması ve Skala Media' da birikmiş lenfositlerin gösterilmesi olmuştur. İntraperitoneal olarak yapılan Sidofovir tedavisinin tam kür sağladığı histopatoloji sonucunda gösterilmiştir. ABR sonucunda ise 3. grupta belirgin işitme kaybı gözlenmiş, bu gruptaki iki hayvanda kalıcı işitme kaybı saptanmıştır. 4. Gruptaki tüm hayvanların ABR değerlerinde düzelme saptanmıştır. Bu çalışma antiviral ilacın tedavi edici etkisi üzerinde belirgin bir deneysel çalışma olmuş ve diğer çalışmaların önünü açmakla beraber bu tedavinin intratimpanik de yapılabileceği sorusunu akıllara getirmiştir.¹⁴

Ardından Ward ve arkadaşları intratimpanik delivery yöntemi ile bir antiviral ilaç olan Sidofovir etken maddesinin güvenliğini ve etkinliğini 88 adet Guinea Pig ile araştırmışlardır. Bu araştırmada deneysel olarak CMV' ye bağlı işitme kaybı oluşturulmuştur. CMV ile indüklenen işitme kaybı ABR ile belirlenerek öncelikle CMV' nin ototoksik etkisi gösterilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubuna Salin, diğer gruplara Sidofovir enjeksiyonu intratimpanik yolla yapılmıştır. Bu çalışmanın bizim çalışmamıza üstün olan tarafı ise histopatolojik inceleme yapılmış ve iç kulakta CMV ve Sidofovir'in varlığı-konsantrasyonu özel yöntemlerle ispatlanmıştır. 7 günlük enjeksiyon tedavisi uygulanmış, ABR ile işitme değerlendirmesi yapılmıştır. 28. Günde yapılan incelemede hem ABR hem de Histopatolojik incelemede anlamlı oranda kür sağlandığı gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada Sidofovir' in bilinen nefrotoksik etkisi de serum kreatinin düzeylerinin artışı gösterilerek ispatlanmıştır. Bu çalışma ışığında Asiklovir'in lokal olarak tedavi edici etkisi olabileceği bizi düşündürmüş ve öncelikle ototoksisite değerlendirmesi yapmamızda yol gösterici olmuştur. Sidofovir' in de

Asiklovir ile benzer yapıda olması yani her iki ilacın da nükleozid analogu olması benzer özellikleridir. Bu bağlamda Sidofovir' in intrakoklear sıvıda varlığının yani yuvarlak pencereden ve kan-koklea bariyerinden geçtiğinin ispatlanması çalışmamızda Asiklovir' in geçirgenliğini destekleyen başka bir bulgu olmaktadır.¹³

İlaçlar işitme ve denge bozukluğuna neden olan önemli nedenlerden biridir. Ototoksik ilaçlara bağlı meydana gelen başlıca klinik yakımlar; işitme kaybı, denge bozukluğu, tinnitus ve vertigodur.⁶⁵ Çalışmamızda hayvan deneyi modeli oluşturduğumuz için biz ototoksik etki incelemesi yaptık ve bunu DPOAE ve ABR testleri ile inceledik. İlerleyen zamanlarda güncel araştırma yöntemleri ile çalışmamızın vestibüler sistem üzerine toksik etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi bu konuda daha fazla yol aldığımızı gösterecektir.

Sistemik antiviral ilaçlar, sistemik steroidler ve intratimpanik steroidler günümüzde orta kulak ve iç kulak kaynaklı birçok hastalığın rutin tedavisinde kullanılmaktadır.⁸⁻¹⁰ Sistemik antiviral ilaçların da sistemik yan etkileri üzerine ise birçok çalışma mevcuttur.¹¹⁻¹²

Ototoksisite insidansını etkileyen faktörler arasında; ilaçların uygulanım şekli, kümülatif doz, ileri yaş, diyet faktörleri, serum protein seviyeleri, genetik faktörler, diğer ototoksik ajanlarla birlikte kullanılması, gürültü, düşük renal fonksiyon, daha önce işitme kaybı öyküsü yer almaktadır. Ototoksik etki diğer ajanlarda genellikle tedavi başlangıcının ikinci günü ortaya çıkar ve tedavi kesildikten yedi gün sonraya kadar devam edebilir. Her ilacın ototoksisite paterni farklılık gösterebilmektedir. Çalışmamızda ise sıçanlara ilk 5 gün Asiklovir enjeksiyonu yapıp 7 gün beklenerek ototoksisite araştırması yapılmıştır, ototoksik etkisi çalışmalarla kanıtlanan ajanların ototoksisite paterni çalışmanın planlanmasında ve testlerin yapılma zamanının seçilmesinde etkili olmuştur.⁶³⁻⁶⁴

Çalışmamızda bu ajanın ve intratimpanik uygulama yolunun seçilme nedenleri; deksametazon ve diğer steroidlerin intratimpanik uygulamasının son zamanlarda tedavi protokolleri arasında yer alması, intratimpanik tedavinin etkinliğinin birçok çalışma ile desteklenmesidir. ABR ve DPOAE testinin kullanılma nedenleri, literatürde ototoksisite çalışmalarında en sık kullanılan testler olması, hayvanın aldığı

anesteziden minimal düzeyde etkilenmesi, uygulanabilirliğinin olması, klinik pratikte de uygulandıkları için bu alındaki çalışmalarla desteklenme olasılığının yüksek olması olmuştur.¹⁸⁻²⁰

Çalışmamızda tercih edilen ilaç dozları ve uygulama miktarının belirlenmesi daha önce yapılan çalışmalar ve klinik uygulamalar baz alınarak yapılmıştır. Daha önceden intratimpanik Asiklovir uygulaması yapılmadığı için intravenöz tedavide uygulanan doz ve ilaç formları intratimpanik olarak uygulanmıştır.

Odyolojik olarak iç kulak dış saçlı hücreleri değerlendiren testimiz Otoakustik Emisyon (OAE) testidir. Odyolojik olarak işitme yollarını değerlendirdiğimiz testimiz Auditory Brainstem Response (ABR) testidir.¹⁸⁻²⁰

Sonuç olarak çalışmamızda herpes grubu virüslerin ana ilacı kabul edilen Asiklovir'in intratimpanik lokal uygulaması sonrası meydana gelen ototoksik bir etki olup olmadığını araştırdık. Sistemik olarak rutinde kullanılan bu ilaçların lokal uygulama sonrası da diğer ilaçlarda gözlendiği gibi etkin bir tedavi yapacağını düşünerek bu deneysel çalışma modelini oluşturduk. İlacın tedavi etkinliğinden önce ototoksik olup olmadığının çalışılması gerekli olduğu için çalışma modelimizi ototoksik etkinin araştırılması üzerine kurduk.

Çalışmamızın sonuçlarında da gördüğümüz üzere; yapılan DPOAE ve ABR testlerinin sonuçlarından Asiklovir'in lokal uygulamada erken dönemde ototoksik olmadığı verilerini elde ettik. Bu çalışmayı son zamanlarda yaygın olarak kullanılan intratimpanik enjeksiyon tedavisinde antiviral ilaçların da yerinin olabileceğinin önünü açmak için yaptık.

21 sıçan üzerinde deneysel olarak yaptığımız; antiviral ilaç olan Asiklovir etken maddesinin lokal intratimpanik uygulamasının ototoksik etkisi olmadığını gözlemledik. Bu çalışma literatürde Asiklovir'in intratimpanik uygulamasının deneysel modelinin oluşturulduğu ilk çalışmadır. Ancak çalışmamızın kısıtlılıkları mevcuttur. DPOAE ve ABR cihazları ile maksimum veriyi elde etmeye çalışmamıza rağmen elimizdeki cihazların kısıtlılıkları nedeniyle sıçanların daha iyi duydukları 8000 Hz' in üstündeki frekansları araştırma imkanımız bulunmamıştır. Ayrıca çalışmamızda kullanamadığımız

histopatolojik testler ile çalışmayı desteklemek, çalışmamızın değerini arttırıp hipotezimizin ispatını güçlendirebilirdi. Daha sonraki çalışma modellerinde bu ilacın tedavi edici etkisinin incelenmesi gerekmektedir. Antiviral ilaçların sistemik yan etkilerinden korunması ve kulak hastalıklarında lokal olarak spesifik ve yüksek etki oluşturmaları açısından çalışmalar devam etmelidir.

8. ÖZET

Giriş/amaç: İntratimpanik ilaç uygulamaları son yıllarda iç kulak hastalıklarının tedavisinde giderek artan bir şekilde kullanılmaya başlamıştır. Etiyolojisinde viral ajanları düşündüğümüz iç kulak hastalıklarında sistemik antiviral ilaçları rutin tedavide kullanmaktayız. Çalışmamızda amaç; iç kulak enfeksiyonlarına neden olan herpes grubu virüslerin ana ilacı kabul edilen Asiklovir’ in intratimpanik uygulamasının olası bir ototoksik etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal/Method: Çalışmamızda 21 adet, 4-6 aylık ve ortalama 300-350 gr ağırlığında erkek Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Her grupta 7 sıçan olacak şekilde 3 gruba bölünmüştür. Her hayvanın 2 kulağına da işlem öncesi değerlendirmede DPOAE ve ABR testleri yapıldı. Her hayvanın daha iyi sonuç alınan kulağı enjeksiyon için çalışmaya dahil edildi. İlk gruba intratimpanik salin enjeksiyonu, ikinci gruba 50 mg/ml Asiklovir enjeksiyonu, üçüncü gruba 200 mg/ml Asiklovir enjeksiyonu uygulandı. Enjeksiyonlar 5 gün boyunca uygulandı, ardından hayvanlar 7 gün bekletilerek anestezinin etkisinin tamamen geçmesi beklendi. Çalışma başlangıcından sonraki 12. Günde tüm sıçanlara ABR ve DPOAE yapıldı.

Sonuç: Yapılan çalışma sonucunda DPOAE ve ABR değerleri karşılaştırıldığında Asiklovir’ in iç kulak üzerinde belirgin ototoksik etkisi saptanmamıştır.

Tartışma: Antiviral ajanlar birçok iç kulak hastalığının tedavisinde oral ve intravenöz yolla kullanılmaktadır. Ancak antiviral ajanların intratimpanik kullanımı üzerine literatürde çalışma bulunmamaktadır. İç kulak hastalıklarında tedavi edici etkisi birçok çalışmada gösterilen antiviral ilaçların lokal tedavide etkili olabileceği düşünülmüştür. Öncelikle intratimpanik uygulamanın ototoksik etki yapıp yapmadığını araştırmak gerektiği için bu çalışmayı tasarladık. Amacımız daha sonra yapılacak intratimpanik tedavi çalışmalarının önünü açmasıdır. Ancak bu konuda histopatolojik olarak desteklenmiş yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. ABSTRACT

Introduction/Objective: Intratympanic injection treatments on inner ear diseases have increased in recent years. We routinely use systemic antiviral treatments when we consider viruses as ethiology of disease. The aim of our study; Acyclovir has been known as major drug of the herpes infections and we research the ototoxic effects of intratympanic administration of the Acyclovir.

Materials/Methods: In this study; twenty-one male, adult (3-5 months of age) Sprague Dawley albino rats model were used by separating into 3 equal groups. ABR and DPOAE tests were performed on both ear of all groups before the procedures. The ear which has better ABR and DPOAE results of each animal has included in the study for injections. Intratympanic saline injection was applied to the first group, as also intratympanic 50 mg/ml Acyclovir injection to the second group, intratympanic 200 mg/ml Acyclovir injection to the third group. The injections were administrated for 5 days, after that animals were kept for 7 days for the effect of anesthesia was expected to disappear. On the 12th day of the experiment, all rats were performed with ABR and DPOAE.

Result: DPOAE and ABR test results did not shown statistically significantly ototoxic effect of Acyclovir treatment on the inner ear.

Conclusion: Antiviral drugs are routinely used orally and intravenously in the treatment of inner ear diseases. However, there are no studies in the literature on the intratympanic use of antiviral agents. The therapeutic effect of antiviral agents on inner ear diseases is thought to be effective in local treatment of antiviral drugs shown in many studies. First of all, we designed this study because it was necessary to determine whether the intratympanic administration had an ototoxic effect. The aim of study is to pave the way for further intratympanic treatment studies. However, these results of study need to be supported by histopathological studies.

10.KAYNAKLAR

1) El Sabbagh NG, Sewitch MJ, Bezdjian A, Daniel SJ, et al. Intratympanic dexamethasone in sudden sensorineural hearing loss: A systematic review and meta-analysis. *Laryngoscope*.2017 Aug;127(8):1897-1908.

2) Garduno-Anaya MA, Coutino De Toledo H, Hinojosa-Gonzalez R, Pane-Pianese C, Rios-Castaneda LC, et al. Dexamethasone inner ear perfusion by intratympanic injection in unilateral Meniere's Disease: a two-year prospective, placebo-controlled, double-blind, randomized trial. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005 Aug;133(2):285-94.

3) Gacek RR. Meniere's disease is a viral neuropathy. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2009;71(2):78-86.

4) Cohen BE, Durstenfeld A, Roehm PC, et al. Viral causes of hearing loss: a review for hearing health professionals. *Trends Hear*. 2014 Jul 29;18.

5) Chau JK, Lin JR, Atashband S, Irvine RA, Westerberg BD, et al. Systematic review of the evidence for the etiology of adult sudden sensorineural hearing loss. *Laryngoscope*. 2010 May;120(5):1011-21.

6) Linthicum FH Jr, Doherty J, Berliner KI, et al. Idiopathic sudden sensorineural hearing loss: vascular or viral? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013 Dec;149(6):914-7.

7) Stokroos RJ, Albers FW, Schirm J, et al. Therapy of idiopathic sudden sensorineural hearing loss: antiviral treatment of experimental herpes simplex virus infection of the inner ear. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1999 May;108(5):423-8.

- 8) Awad Z, Huins C, Pothier DD, et al. Antivirals for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Aug 15;(8):CD006987.
- 9) Gacek RR. Recovery of Hearing in Meniere's Disease after Antiviral Treatment. *Am J Otolaryngol*. 2015 May-Jun;36(3):315-23.
- 10) Stokroos RJ, Albers FW, Tenvergert EM, et al. Antiviral treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss: a prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Acta Otolaryngol*. 1998 Jul;118(4):448-95.
- 11) Gnann JW Jr, Barton NH, Whitley RJ, et al. Acyclovir: mechanism of action, pharmacokinetics, safety and clinical applications. *Pharmacotherapy*. 1983 Sep-Oct;3(5):275-83.
- 12) Izzedine H, Launay-Vacher V, Deray G, et al. Antiviral drug-induced nephrotoxicity. *Am J Kidney Dis*. 2005 May;45(5):804-17.
- 13) Ward JA, Sidell DR, Nassar M, Reece AL, Choo DI, et al. Safety of cidofovir by intratympanic delivery technique. *Antivir Ther*. 2014;19(1):97-105.
- 14) White DR, Choo DI, Stroup G, Schleiss MR, et al. The effect of cidofovir on cytomegalovirus-induced hearing loss in a Guinea pig model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 Jun;132(6):608-15.
- 15) Ozdogan F, Ensari S, Cakir O, Ozcan KM, Koseoglu S, Ozdas T, Gurgun SG, Dere H, et al. Investigation of the cochlear effects of intratympanic steroids administered following acoustic trauma. *Laryngoscope*. 2012 Apr;122(4):877-82.
- 16) Lee JJ, Jang JH, Choo OS, Lim HJ, Choung YH, et al. Steroid intracochlear distribution differs by administration method: Systematic versus intratympanic injection. *Laryngoscope*. 2018 Jan;128(1):189-194.
- 17) McGill F, Griffiths MJ, Solomon T, et al. Viral meningitis: current issues in diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis*. 2017 Apr;30(2):248-256.
- 18) Campbell KCM, Le Prell CG, et al. Drug- Induced Ototoxicity: Diagnosis and Monitoring. *Drug Saf*. 2018 May;41(5):451-464.
- 19) Crundwell G, Gomersall P, Baguley DM, et al. Ototoxicity (cochleotoxicity) classifications: A review. *Int J Audiol*. 2016;55(2):65-74.

- 20) Ganesan P, Schmiedge J, Manchaiah V, Swapna S, Dhandayutham S, Kothandaraman PP, et al. Ototoxicity: A Challenge in Diagnosis and Treatment. J Audiol Otol. 2018 Apr;22(2):59-68.
- 21) Akyıldız NA. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi Vol 1 Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 1998; Temporal Kemik ve İşitme Organının Anatomisi s: 22-57
- 22) ÇAKIR N. Otolaringoloji, Baş ve Boyun Cerrahisi. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri 1999. Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi 2-15.
- 23) Gray, A. A. : Otosclerosis Problem, Proc. Roy. Soc. Med. 27:1179-1205 (July) 1934.
- 24) Trowbridge, B.C. (1944) Injection of the Tympanum for Chronic Conductive Deafness and Associated Tinnitus Aurium: A Preliminary Report on the Use of Ethylmorphine Hydrochloride. Archives of Otorhinolaryngology, 39, 523.
- 25) Leonard P, Kanno H. Ototoxicity. Ballenger J.J. ed. Otorhinolaryngology head and neck surgery. Maryland. Williams&Wilkins 1996;102-07.
- 26) Kerr AG, Booth JB. Scott-Brown's Otolaryngology. London: Butterworth International Editions. 1987. part 3 (otology). p.465.
- 27) Picton TW, Hillyard SA, Krausz HI, Galambos R. Human auditory evoked potentials: Evaluation of components. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 36: 179-190, 1974.
- 28) Hall JW. Handbook of Auditory Evoked Responses. Massachusetts: Allyn and Bacon; 1992
- 29) Picton TW, Hillyard SA, Krausz HI, Galambos R. Human auditory evoked potentials: Evaluation of components. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology; 36: 179-190,,1974.
- 30) Muş N, Gülhan M. İşitsel Beyin Sapı Cevaplarının Frekans Spesifitesi. In: Muş N, Özdamar Ö. İşitsel Beyin Sapı Cevapları."Temel Bilgiler ve Klinik Uygulamaları". Ankara: ODTÜ Matbası; 1996. s.15-40

- 31) Erbek S. İşitsel Uyarılmış Potansiyellere Giriş.Temel Odyoloji (Belgin E, ed). Ankara, Güneş Kitabevi.123-133,2015.
- 32) Katz J. Handbook of Clinical Audiology. Williams & Wilkins, Baltimore, 317-386,1994.
- 33) Hood LJ. Clinical Applications of the Auditory Brainstem Response. San Diego: Singular Publishing Group; 1998.
- 34) Proctor, T.B., Velde, T.M., Dayal, V.S., Bhattacharyya, T.K., Arthwol, J, Towle, V.L.Auditory brainstem response in young and old guinea pigs. The American Journal of Otology, 19; 226-229,1998.
- 35) Yumuşakhuylu A.C. Kobaylarda sistemik resveratrol tedavisinin sisplatin ototoksitesi üzerine koruyucu etkilerinin ABR ile incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz ve Baş-Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul 2010.
- 36) Khovels R, Freeman S, Sohmer H. Transient Evoked Otoacoustic Emissions Can Be Recorded in the Rats. Hearing Research. 1996; 97:120-126
- 37) Moulin A, Bera JC, Collet L. Distortion Product Otoacoustic Emissions and Sensorineural Hearing Loss. Audiology 1994; 33: 305-326
- 38) Norton SJ. Cochlear Function and Otoacoustic Emissions. Semin. Hearing. 1992; 13: 1-14
- 39) Probst R, Lonsbury BL, Martin M, Martin GK. A Review of Otoacoustic Emissions. Jou. Acous. Som. 1991; 89: 2027-2067
- 40) Whitehead M, Lonsbury-Martin BL. Relevance of Animal Models to the Clinical Applications of Otoacoustic Emissions. Semin Hear. 1992; 13: 81-100

- 41) Lonsbury-Martin BL, Whitehead ML, Henley CM. Differential Effects of Sodium Salicylate on the Distinct Classes of Otoacoustic Emissions in Rabbit and in Monkey. *Ass. Res. Otolaryngol. Abst.* 1991; 14: 67.
- 42) Lonsbury BL, Martin GK Otoacoustic Emissions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000 11: 361-366
- 43) Lonsbury-Martin BL. Introduction to Otoacoustic Emissions. *American Journal of Otology.* 1994; 15: Suppl 1: 1-3
- 44) Martin GK, Jassir D, Stanger BB, Lonsbury-Martin BL. Effects of loop diuretics on the suppression tuning of distortion product otoacoustic emissions in rabbits. *J Acoust Soc Am.* 1998 Aug;104(2 Pt 1): 972-83.
- 45) Martin GK, Lonsbury-Martin BL, Probst R. Spontaneous Otoacoustic Emissions in a Non-Human Primate.I. Basic Features and Relations to other Emissions. *Hear. Res.* 1988; 33: 49-68
- 46) Harris FP, Lonsbury-Martin BL, Stenger BB, Coats AC, Martin GK. Acoustic Distortion Products in Humans: Systemic Changes in Amplitudes as a Function of f2/f1 Ratio. *Journal of Acoustic Society of America.* 1989; 85: 220-229
- 47) Lonsbury-Martin BL, Harris FP, Stanger BB, Hawkins MD, Martin GK. Distortion Product Otoacoustic Emissions in Humans. I. Basis Properties in Normally Hearing Subjects. *Ann Otol. Rhinol. Laryngol.* 1990; 11: 144-154
- 48) Brown AM, McDowell B, Forge A. Acoustic Distortion Products can be Used to Monitor the Effects of Chronic Gentamycine Treatment. *Hear. Res.* 1989; 42: 143-156
- 49) Martin GK, Ohlms LA, Franklin DJ. Distortion Product Otoacoustic Emissions in Humans. III. Influence of Sensorineural Hearing Loss. *Ann. Otol Rhinol Laryngol (suppl)* 1990; 147: 3-42
- 50) Nakamura M, Yasamoba T, Kaga K. Changes in Otoacoustic Emissions in Patient with Idiopathic Sudden Deafness. *Audiology* 1997; 36:121-135

- 51) Kimberley BP. Applications of Distortion Product Emissions to an Otological Practice. *Laryngoscope*, 109: 1908-1918, 1999
- 52) McCoy MJ, Franklin D, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Evoked Otoacoustic Emissions Test-Retest Reliability. *ASHA* 1990; 32: 156pp
- 53) Schmiedt RA, Adams JC. Stimulated Acoustic Emissions in the Ear canal of the Gerbil. *Hear Res*. 1981; 5: 295-305
- 54) Banfils P, Ava P, Francis M, Troteux J, Norey P. Distortion Product Otoacoustic Emissions in Neonates. Normative Data. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1992; 112: 739-744
- 55) Brown AM, Acoustic Distortion from the Rodent Ears: a Comparison of Responses from Rats, Guinea Pigs and Gerbils. *Hear Res* 1987; 31: 25-38
- 56) Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head and Neck Surg*. 1997; 117: 438-47
- 57) Fleischer G. Evolutionary Principles of the Mammalian middle ear. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1978; 55: 1-70
- 58) Zimmer WM, Deborah FR, Saunders JC. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anatomical Record* 1994; 239:475-84.
- 59) Daniels HJ, Fulgham RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of Eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982; 91:82-9.
- 60) Hellström S, Stenfors LE. The pressure equilibrating function of pars flaccida in middle ear mechanics. *Acta Physiol Scand* 1983; 118:337-41
- 61) Albiin N, Hellström S, Stenfors L-E, Cerne A. Middle ear mucosa in rats and humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986; 126:2-15

62) Hellström S, Salén B, Stenfors LE. Anatomy of the rat middle ear. A study under the dissection microscope. *Acta Anat* 1982; 112:346-52

63) Sakamoto M, Kaga K, Kamio T. Extended high-frequency ototoxicity induced by the first administration of cisplatin. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:828–33.

64) Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin induced ototoxicity and prevention. *Hear Res.* 2007 Apr;226(1-2):157-67.

65) Yumusakhuylyu AC, Yazici M, Sari M, Binnetoglu A, Kosemihal E, Akdas F, Sirvanci S, Yuksel M, Uneri C, Tutkun A. Protective role of resveratrol against cisplatin induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2012;76:404–408.,

66) Birkmann A, Zimmermann H. HSV antivirals – current and future treatment options. *Curr Opin Virol.* 2016 Jun;18:9-13.

67) Rivera T, Sanz L, Camarero G, Varela-Nieto I. Drug delivery to inner ear: strategies and their therapeutic implications for sensorineural hearing loss. *Curr Drug Deliv.* 2012 May;9(3):231-42.

68) Loregian A., Gatti R., Palu G. ve De Palo E. F., 2001. Separation Methods for Acyclovir and Related Antiviral Compounds. *J. Chromatogr.*, 764:289-311.

69) Seltzer S, Mark AS. Contrast enhancement of the labyrinth on MR scans in patients with sudden hearing loss and vertigo: evidence of labyrinthine disease. *American Journal of Neuroradiology* 1991;12(1):13-6.

70) Kanemaru S, Fukushima H, Nakamura H, et al. Alphainterferon for the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;254:158-62.

71) Tucci DL, Farmer JC, Kitch RD, et al. Treatment of sudden sensorineural hearing loss with systemic steroids and valacyclovir. *Otol Neurotol* 2002;23:301-8.

72) Zadeh MH, Storper IS, Spitzer JB. Diagnosis and treatment of sudden-onset sensorineural hearing loss: a study of 51 patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;128:92-8.