

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

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Muhsin KOTEN

**GUİNEA PİGLERDE TOPİKAL RİFAMİSİN  
UYGULANIMININ OLASI OTOTOKSİK ETKİSİNİN  
ELEKTROFİZYOLOJİK VE ULTRASTRÜKTÜREL  
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

**Dr. Cihan ABAYLI**

EDİRNE-2015

## **TEŞEKKÜR**

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi artırmamda büyük destek, ilgi ve yardımını gördüğüm çok değerli hocam Prof. Dr. Ahmet R. KARASALİHOğLU'na; asistanlığım süresince her aşamada destek, ilgi ve yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Muhsin KOTEN, Prof. Dr. Mustafa K. ADALI, Prof. Dr. Cem UZUN, Prof. Dr.Recep YAğIZ, Prof. Dr. Abdullah TAŐ'a; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli araştırma görevlisi çalışma arkadaşlarıma ve katkılarından dolayı TÜBAP Birimi'ne, Yrd. Doç. Dr. Erdoğan BULUT'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>KULAK ANATOMİSİ</b> .....	<b>3</b>
<b>KOBAY (GUİNEA PİG) TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ</b> .....	<b>12</b>
<b>İŞİTME FİZYOLOJİSİ</b> .....	<b>12</b>
<b>OTOAKUSTİK EMİSYONLAR</b> .....	<b>16</b>
<b>İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI</b> .....	<b>19</b>
<b>AKUSTİK İMPEDANS ÖLÇÜMLERİ</b> .....	<b>20</b>
<b>OTOTOKSİSİTE</b> .....	<b>21</b>
<b>RİFAMİSİN</b> .....	<b>22</b>
<b>OTOKSİSİTENİN ODYOLOJİK MONİTORİZASYONU</b> .....	<b>23</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>25</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>35</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>43</b>
<b>SONUÇLAR</b> .....	<b>50</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>51</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>53</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>55</b>
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ABR</b>	: “Auditory Brainstem Response”, İşitsel Beyinsapı Yanıtları
<b>dB</b>	: Desibel
<b>DPOAE</b>	: “Distortion Product Otoacoustic Emission”, Distortion Product Otoakustik Emisyonlar
<b>DTH</b>	: Dış Tüylü Hücre
<b>Hz</b>	: Hertz
<b>İTH</b>	: İç Tüylü Hücre
<b>OAE</b>	: Otoakustik Emisyon
<b>S/ N</b>	: “Signal/Noise”, Sinyal/Gürültü
<b>SEM</b>	: Scanning Elektron Mikrokobisi
<b>TEOAE</b>	: “Transient Evoked Otoacoustic Emission”, Transient Evoked Otoakustik Emisyon

## GİRİŞ VE AMAÇ

Rifamisinler *Streptomyces mediterranei*'den elde edilmişlerdir ve Rifamisin A, B, C, D ve E olarak adlandırılan beş antibiyotik üretilmiştir. Rifamisin B' den de üç yarı-sentetik antibiyotik türetilmiştir. Rifamid, rifamisin sodyum ve rifampisin olarak adlandırılan bu antibiyotikler duyarlı bakterilerde DNA kontrolüyle yapılan mRNA sentezini RNA polimeraz enzimini inhibe ederek engellerler; bakterisid etki gösterirler. Rifamid günümüzde kullanımı terk edilmiş bir antibiyotiktir; rifamisin sodyum da parenteral ya da topikal olarak nadiren kullanılan bir ilaçtır. Rifampisin ise günümüzde antistafilokokal ilaç olarak, özellikle tüberküloz tedavisinde ve diğer bazı endikasyonlarda yaygın olarak kullanılan önemli bir ilaçtır.

Rifamisinler, gram-pozitif kokuslara (pnömokoklar, streptokoklar ve özellikle *Stafilokokkus aureus*'a), gram-negatif kokuslara (özellikle *N.meningitidis*'e), gram-negatif basillere ve *Myobacterium tuberculosis* ve *M. Leprae* gibi aside-dayanıklı bakterilere karşı etki göstermektedirler (1). Rifamisin 1963'den beri sık olarak açık ve kapalı yaraların irrigasyonunda, enfekte olmuş cerrahi ya da kutanöz yaraların tedavisinde kullanım görmüştür. Literatürde rifamisinin ilk lokal kullanımının tüberkülozu olan hastalarda akciğer kavitelerinin temizlenmesi olduğu bildirilmektedir (2). Rifamisinlerdeki yara iyileşmesi diğer lokal antibiyotiklere göre daha iyi olmakta bu nedenle rifamisin enfekte cilt yaralarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (3).

Rifamisin kullanımında görülen yan etkiler oldukça azdır. Genellikle rifamisini aralıklı alan hastalarda grip benzeri semptomlar görülmektedir. Bildirilen diğer yan etkiler ise interstisyel nefrit, trombositopeni ve hemolitik anemidir. Rifamisinin lokal uygulanmasıyla

sık olmasa da alerjik kontakt dermatitis görüldüğü benzer biçimde çok nadir olarak ilacın cerrahi yaralarda uygulanmasıyla anaflaktik reaksiyon oluştuğu bildirilmektedir (3-5).

İselin ve ark. (6) el yaralanmalarında topikal rifamisin uygulananının faydalı olduğunu, bu ilacın hem enfeksiyonu kontrol altına aldığını hem de yara iyileşmesini kontrol grubuna göre daha da hızlandırdığını belirtmektedir. Rifamisin'in yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisinin olmadığı da bir diğer çalışmada rapor edilmektedir (7). Yapılan diğer bir çalışmada ise rifamisin ile dekontamine edilen örneklerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli miktarda bakteriyel azalma saptanmıştır (8).

Rifamisin topikal olarak nonkolesteatomatöz otitis media ve eksternal otit tedavisinde kulak burun boğaz hastalıkları hekimleri tarafından kullanılmaktadır. Birçok topikal ajanın potansiyel ototoksik etkileri araştırılmış olmasına rağmen literatürde topikal rifamisin uygulananının olası ototoksik etkisi araştırılmamıştır. Kronik ve eksternal otit toplumda çok sık görülen hastalıklardan olup bu hastalıklarda topikal rifamisin kullanımı da yaygındır. Biz bundan dolayı topikal rifamisin'in uygulananının olası ototoksik etkisini guinea piglerde elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel düzeyde incelemeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### KULAK ANATOMİSİ

Kulak işitme ve dengenin periferik organıdır ve temporal kemik içine yerleşmiş, görevleri ve yapıları birbirinden farklı üç bölümden oluşur: 1- Dış kulak, 2- Orta kulak, 3- İç kulak (9).

#### Dış Kulak (*Auris Externa*)

Kulak kepçesi (*Auricula*) ve dış kulak yolu (*Meatus acusticus externus*) dış kulağın iki kısmını oluşturur (10).

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

Dış kulak yolu, konkadan kulak zarına kadar olan uzunluğu içine alır (9). Hafif "S" şeklinde oblik yerleşimi bulunan dış kulak yolunun arka-üst duvar uzunluğu yaklaşık olarak 25 mm iken, ön-alt duvar uzunluğu 31 mm'dir (9,11). Dış kulak yolunun 1/3 dış bölümünü arka üst kısmı açık bir boru biçimindeki fibroelastik bir yapı (kıkırdak) oluştururken 2/3 iç bölümü ise kemiksel yapıdadır. Dış kulak yolunun kıkırdak kısmını kaplayan deride kıl kökü yağ, ter ve serumen bezleri bulunmaktadır. Kemik kısmını kaplayan deri ise oldukça ince olup sadece periostun üzerini kaplar; yağ, kıl ve serumen bezleri bulundurmaz (9-11).

#### Orta Kulak (*Auris Media*)

Kulak zarı ile kemik labirent arasında yerleşim gösteren ve üstü müköz membranla örtülü bir bölümdür. Vertikal ve anteroposterior çapları 15 mm, mediolateral derinliği üstte yaklaşık 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm'ye kadar iner (11).

Orta kulak boşluğu, ön tarafta *tuba auditiva* (Eustachi Borusu) ile nazofarenkse açılmakta, arkada ise *aditus ad antrum* yolu ile mastoid antrum ve hücreleriyle devamlılık göstermektedir (10). Orta kulak kavitesi topografik olarak kulak zarına göre üç bölümden oluşur. Mezoimpanum kulak zarı seviyesine rastlayan, epitimpanum kulak zarının üstünde kalan ve hipotimpanum ise kulak zarının altında yer alan orta kulak boşluğu bölümüdür (9).

Orta kulak kavitesinin 6 duvarı bulunmaktadır:

**Üst duvar (*Tegmen tympani*):** Bu duvar epitimpanumun tavanını oluşturmaktadır. Orta kulak kavitesini orta kranial fossadan ayırır.

**Alt duvar:** Hipotimpanumun döşemesini oluşturur. Bulbus vena juguli ve a. Carotis interna ile komşuluğu bulunmaktadır.

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

**Arka duvar:** Orta kulak ile mastoid arasındaki duvardır. Üstteki parçasını *aditus ad antrum* oluşturur. *Eminentia pyramidalis* burada bulunur. *Eminentia pyramidalis* içinde m. stapedius yer alır. Bu bölüm fasyal sinirin ikinci parçası ile yakın komşuluk gösterir. *Chorda tympani eminentia pyramidalis* lateralinden orta kulak boşluğuna girer. *Chorda tympani* ile *Eminentia pyramidalis* arasında *recessus facialis* bulunmaktadır. *Eminentia pyramidalis* medialinde sinüs timpani yer alır (9-13).

**Dış duvar:** Bu duvarı kulak zarı ile skutum oluşturur. Skutum epitimpanumda insusura timpanikusu üstten örten skuamöz kemiğin uzantısıdır. Kulak zarı, timpanik kemiğin sulkus timpanikusuna Gerlach halkası olarak adlandırılan fibröz anulus aracılığıyla tespit edilmiştir (9,11,12,14). Anulus üst tarafta tam değildir. Posterior ve anterior malleolar ligamentlerle devam eder. Kulak zarının bu ligamentler üzerinde yer alan gevşek bölümüne *pars flaccida* (Shrapnell zarı), alttaki gergin bölümüne ise *pars tensa* adı verilir. Kulak zarı oval biçimli, yarı geçirgen ve sedef renktedir. Vertikal uzunluğu 9-10 mm olan zarın horizontal uzunluğu 8-9 mm, kalınlığıysa 0.1 mm'dir (10,14-17). Kulak zarının pars tensa bölümünde, ortada yukarıdan aşağı doğru uzanım gösteren malleusun kulak zarı içerisinde yer



alan kısmı olan *manubrium mallei* bulunur. *Manubrium mallei*'nin bitimindeki nokta biçimindeki görüntü umbo olarak adlandırılır (10-12). Umbodan başlayarak öne ve aşağıya doğru kulak zarının kenarına kadar ilerleyen üçgen biçimindeki aydınlık bölgeye Politzer üçgeni denir (13). Kulak zarının pars tensa bölümü üç tabakadan oluşmuştur. Dış yüzde dış kulak yolu derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve bunların arasında ise fibröz tabaka yer alır (9-12). Kulak zarının pars flaccida bölümünde fibröz tabaka bulunmamaktadır (10).

**İç duvar:** Orta kulağı iç kulaktan ayıran duvardır. Epitimpanum bölümünde horizontal, anterior ve posterior vertikal semisirküler kanal ile fasyal sinirin geçtiği Fallop kanalı yer alır. Mezotimpanumdaki iç duvarda ise fasyal sinirin hemen alt kısmından başlayan ve kokleanın birinci turu hizasına rastlayan promontoryum ve labirent pencereleri yer alır. Promontoryumun arka-üst kısmındaki çukurluk, oval pencere (*fossula fenestra vestibuli*) olarak adlandırılır ve stapes tabanının yerleştiği bölgedir. Promontoryumun arka alt tarafında yuvarlak pencere (*fossula fenestra cochlea*) yer alır ve *membrana secundaria* olarak isimlendirilen fibröz bir doku ile örtülüdür (9-13). Timpanik boşluğa uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına temel geçiş yeri olan yuvarlak pencere yaklaşık 1.5 mm genişliğinde ve 2-3 mm uzunluğundadır (18). Yuvarlak pencere nişinin şekli, orta kulak effüzyonlarının ve orta kulaktaki değişik maddelerin bu bölgede birikmesine sebep olur (19). Bu şekilde orta kulak sıvılarının iç kulağa difüzyonlarının artmasına neden olabilir. Bunun yanında yuvarlak pencere membranı ses iletiminde de rol alır. Promontoryumun orta kısmının yüzeyinde sinir ve damardan oluşmuş bir ağ (*plexus tympanicus*) yer alır (9-13).

Orta kulak kavitesinde malleus, inkus ve stapes olmak üzere üç adet hareketli kemikçik bulunmaktadır (10-12,15). Kemikçikler *manubrium mallei* ile kulak zarına ve anuler ligament aracılığıyla oval pencereye bağlanmışlardır. Kemikçiklerin arasında inkudo-malleolar ve inkudo-stapedial olmak üzere iki eklem bulunur. Bunun yanında kemikçikleri orta kulak duvarına bağlayan dört ligament ve iki kas bulunur. Dört ligamentin üçü malleusa, biriyse inkusa aittir. Kemikçiklere tutunan kaslar *m. stapedius* ve *m. tensor tympani*'dir (9,12,16).

### **İç Kulak (*Auris Interna*)**

İç kulak, işitme ve dengeyle ilgili reseptörlerin yer aldığı bölümdür ve temporal kemiğin petroz bölümünde yer almaktadır (9-11). Oval ve yuvarlak pencere yolu aracılığıyla orta kulakla, koklear ve vestibüler aquaduktus yolu ile kafa içiyle bağlantılıdır (9,10).

İç kulağın kan akımı *a. auditiva interna* (labirentin arter) ile gerçekleşir. *A. auditiva interna* çoğunlukla *a. cerebelli inferior anterior*' un dalıdır. Ancak, bazen direkt olarak baziler arterden hatta vertebral arterden bile kaynaklandığı olur (10,13,14,17,20). İç kulağın venöz dönüşü ise arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yoluyla meydana gelen labirentin ven sayesinde olur. Lenfatik sistem perilenf ve endolenf olarak kabul edilir (21).

İç kulak sıvıları perilenf, endolenf ve kortilenf olmak üzere üç türden oluşur. Perilenf kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıya benzer, Na<sup>+</sup>'dan zengin (Na<sup>+</sup> 148 mEq/L), K<sup>+</sup>'dan ise fakirdir (K<sup>+</sup> 4-6 mEq/L). Endolenfin yapımında stria vaskularis rol almaktadır. K<sup>+</sup> açısından zengin (K<sup>+</sup> 140-160 mEq/L), Na<sup>+</sup>'dan fakirdir (Na<sup>+</sup> 6-10 mEq/L). Kortilenf Corti tüneli ile Nuel boşluklarında yer alır. Beyin omirilik sıvısından kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde uzanım gösteren akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin K<sup>+</sup> içeriğinin yüksek olması sinirsel iletiyi engelleyeceği için Corti tünelinin içinde uzanım gösteren dış tüylü hücrelere ait lifler kimyasal açıdan perilenfe benzeyen kortilenfle sarılmıştır (17).

İç kulak membranöz (zar) ve kemik (periotik) labirent olmak üzere iki bölümden oluşur (10-13).

**Kemik labirent:** Otik kapsül olarak adlandırılan sert kompakt kemik dokusu tarafından oluşturulur. Zar labirentse bunun içinde bulunur. Aralarında perilenf denen sıvı yer alır. (20). Kemik labirent şu kısımlardan meydana gelir:

- 1- Vestibulum
- 2- Kemik semisirküler kanallar
- 3- Koklea
- 4- Aquaduktus vestibuli
- 5- Aquaduktus koklea

1- Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid şekilde boşluktur. Dış yan duvarı oval ve yuvarlak pencere aracılığıyla timpanik boşluğa; ön duvarsa kokleaya komşudur. Arka ve üst duvarda semisirküler kanallarla birleşir. İç yan duvardaysa ön altta sakkulusun yerleştiği sferik reses, arka üstte ise utrikulusun yerleştiği eliptik reses yer alır (20,21).

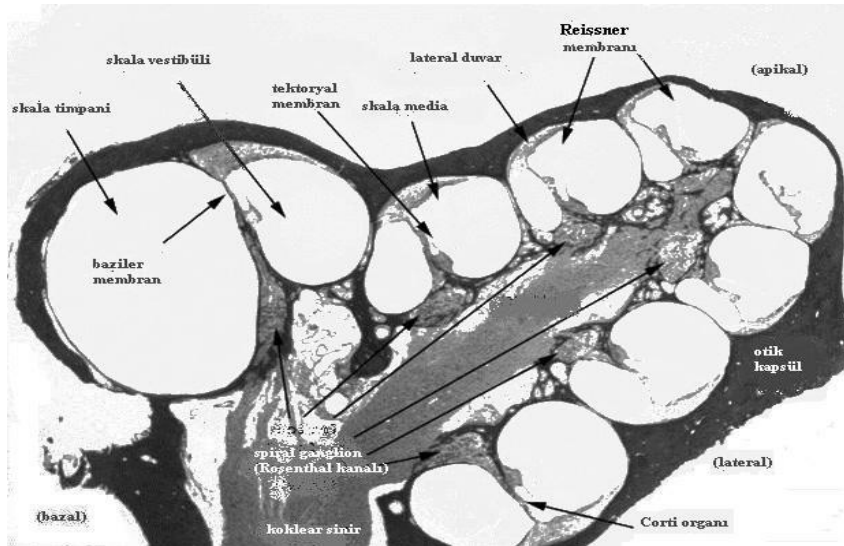
2- Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior, lateral adlı üç semisirküler kanal uzayın üç düzlemine yerleşik bulunmaktadır. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadar olan bu semisirküler kanallar vestibulumu açılır (11,20,21).

3- Koklea: İç kulağın ön tarafında bulunan ve şekil olarak salyangozu andıran kemik bir tüptür. Modiolus, *canalis spiralis cochlea* ve *lamina spiralis ossea*'dan meydana gelir. Modiolus, kokleanın eksenini oluşturur. Modiolusdaki ince kanallardan koklear damarlar, sekizinci kranial sinirin lifleri uzanım gösterir. Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral biçimde olmasından dolayı modiolusun spiral kanalı olarak da adlandırılan Rosenthal kanalına açılırlar (Şekil 1). Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen Corti ganglionu yer alır.

*Canalis spiralis cochlea*, modiolusun çevresini iki buçuk defa spiral şekilde dolanan kemik bir yoldur. Bu yol, vestibulun ön alt bölümündendend başlar ve zirve veya kupula olarak da adlandırılan kapalı bir uçla son bulur.

*Lamina spiralis ossea*, modiolustan uzanım gösteren kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devamlılık bulur ve karşı duvara ulaşarak *canalis spiralis cochlea*'yı iki parçaya böler. Vestibuluma açılan üstteki parçaya skala vestibuli, fenestra koklea aracılığıyla kavum timpaniye açılan alttaki parçaya ise skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema olarak adlandırılan delikle birleşir.

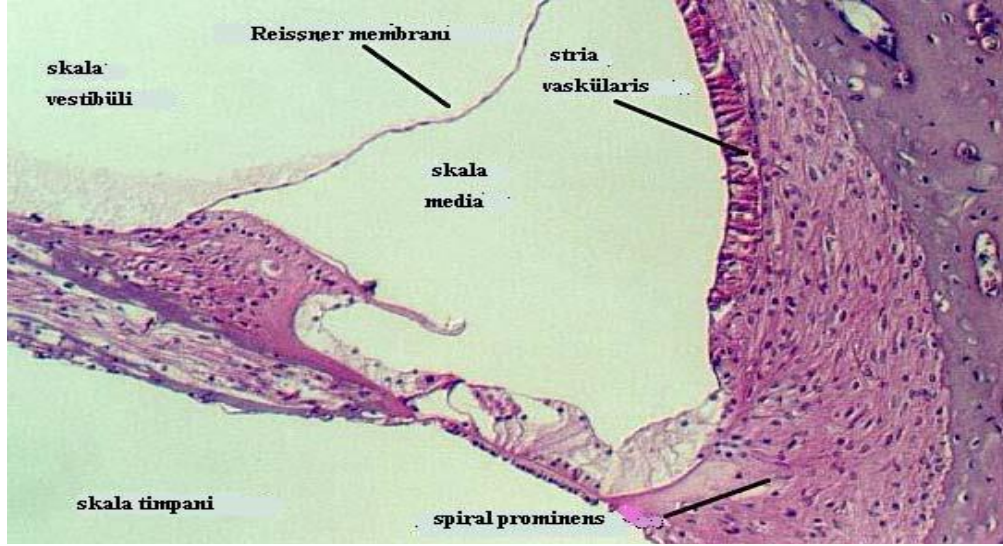
Lamina osseanın serbest kenarıyla *canalis spiralis cochlea*'nın dış yan duvarı arasındaki baziler membranın üst tarafında, Corti organı (Şekil 2) adı verilen işitme organı yer alır (20-22).



Şekil 1. Kokleanın radyal kesiti (bazal→apeks) (22)

4- Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlar ve petröz kemiğin fossa subarkuata olarak adlandırılan çukurunda son bulur. Bu kanal zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda yer alan sakkus endolenfatikus içerir (20-23).

5- Aquaduktus koklea: Skala timpaniden başlayarak petröz kemik alt yüzündeki subaraknoidal boşluğa açılım gösteren kemik yapıdaki kanaldır. Bu kanal periotik doku ile doludur ve gerçek bir kanal niteliği taşımamaktadır (9).



**Şekil 2. Koklear skalalar ve Corti organı (22)**

**Zar labirent:** Şu kısımlardan meydana gelmektedir:

- 1- Utrikulus
- 2- Sakkulus
- 3- Duktus semisirkularis
- 4- Duktus endolenfatikus
- 5- Duktus perilenfatikus
- 6- Duktus koklearis

**Utrikulus:** Hafifçe düzleşmiş oval biçimli kesektir ve vestibulun girişini işgal eder. Ön ve dış tarafında makula yer alır. Burası denge sisteminin hassas epitelini içerir.

**Sakkulus:** Sakkul de utrikulus gibi oval biçimlidir ancak daha küçüktür. Yapı bakımından utrikulusun aynısı olmasına rağmen, makulası utrikulustaki gibi yatay konumda değil, dikey olarak yerleşmiştir. Makulalar yer çekimi ve doğrusal hareketlerden etkilenirler (9).

**Duktus semisirkularis:** Kemik semisirkuler kanalların içerisinde yer alırlar. Fakat kemik kanalların sadece 1/5 kalınlığındadır. Diğer 4/5'lik kısmı ise perilenfle doludur.

Membranöz kanalların ampullalarında krista ampullaris olarak adlandırılan bölgelerde duyu epiteli yer almaktadır.

Duktus endolenfatikus: Duktus utrikulosakkularis adlı borucuktan kaynaklanır. Aquaduktus vestibuli isimli kemik kanalda ilerleme gösterir. Fossa subarkuatadaki sakkus endolenfatikus olarak adlandırılan şişlikte duramater alt tarafında son bulur.

Duktus perilenfatikus: Aquaduktus koklea içerisinde yer alır ve skala timpani ile subaraknoidal boşluğu birleştirir. İçerisinde perilenf bulunur (20,21).

Duktus koklearis: Kemik kokleanın spiral kanalını tüm uzunluğu boyunca takip eden membranöz labirentin bu parçasıdır (11). Üçgen biçimindeki koklear duktus üç bölüme ayrılabilir.

- 1- Skala media ile skala vestibüli arasındaki sınırı meydana getiren Reissner membranı
- 2- Spiral ligaman, stria vaskularis, spiral prominens ve dış sulkusu içine alan lateral duvar
- 3- Skala media ve skala timpani arasındaki sınırı meydana getiren baziler membran ile osseöz spiral lamina

Reissner membran (Vestibüler membran); Skala mediayı skala vestibüliden ayıran üç tabakalı bir oluşumdur. Bu üç tabakalı yapı, bir bazal lamina ile ayrılan iki hücre katmanından meydana gelir. Reissner membranı spiral limbusun modiolar tarafına ve lateralde stria vaskularisin apeksinde spiral ligamana tutunur.

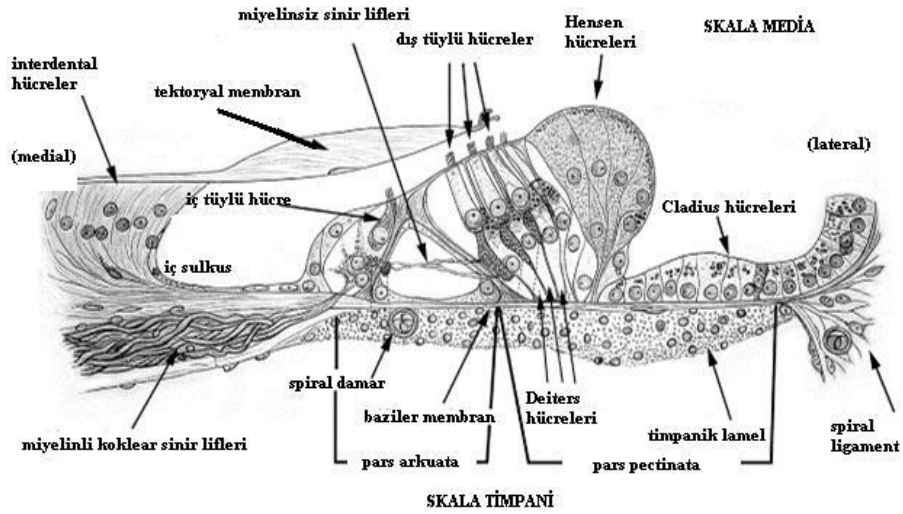
Spiral ligaman; koklear duktusun lateral duvarının en büyük bölümünü meydana getirir. Gevşek gözenekli bağ dokusu ve iyon transportunda görevli enzimleri bulunduran hücrelerden meydana gelir. Lateral sınırını otik kapsülün iç yüzü, medial sınırınıysa stria vaskularis ve spiral prominens meydana getirir. Skala vestibüli ve skala timpani içlerine kadar uzanım gösteren spiral ligaman bu iki perilenfatik kanal arasındaki ilişkinin lateral yolunu oluşturur. Spiral ligaman matriksi fibroblast benzeri hücreler ile çok sayıda ekstraselüler filaman içermektedir. Tip I fibroblast benzeri hücreler spiral ligamanda baskındır. Bununla birlikte dış sulkus hücreleri ve diğer 4 tip fibroblast benzeri hücreler (II,III,IV,V) de spiral prominens yakınlarında yer alabilir.

Stria vaskularis; reissner membranının tutunma yerinden spiral prominense kadar uzanım gösterir. Stria vaskularis bazal membran içermeyen özel bir epitel tipidir. Temel olarak üç çeşit hücre (marjinal, intermediate ve bazal hücreler) bulunduran stratifiye epitelyum ve intraepitelyal kapillerlerden meydana gelir. Stria vaskularisin temel fonksiyonel

birimi marjinal hücrelerdir. Pozitif endokoklear potansiyel üretir ve endolenfin yüksek potasyum, düşük sodyum iyon konsantrasyonunun devamlılığını sağlar.

Spiral prominens; stria vaskularis ile baziler membran arasında uzanım gösteren bir doku kenarıdır. Spiral prominensin konnektif doku matriksi omega biçiminde kapillerler ve çok sayıda tip II fibroblast hücreleri bünyesinde barındırır. İyon transportunda rol alır. Dış sulkus; spiral ligaman ile baziler membranın Cladius hücreleri tarafından meydana getirilen açık kanala denir (20).

Baziler membran; Kemik spiral laminanın lateral kenarından spiral ligaman içine kadar uzanım gösterir. İnsanda ortalama uzunluğu 31.5 mm'dir. Genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru giderek artar. Baziler membranın uzunluğu boyunca, genişliği ve kalınlığındaki değişiklikler membranın frekans spesifik maksimum vibrasyonlar ve "travelling wave" oluşumundan sorumludur. *Claudius* ve *Boettcher* hücreleri baziler membranın dış kısmında bulunur (Şekil 3). Bundan sonra Corti organı başlar (9,20,22).



**Şekil 3. Baziler membran bölgeleri ve Corti organı (22)**

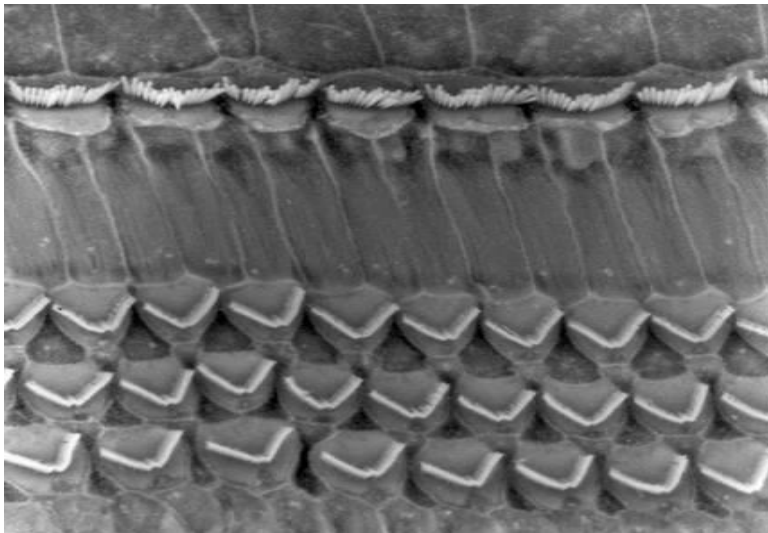
Corti organı; baziler membranın iç tarafında sıralanmış nöroepitelial yapıları bulundurmaktadır. Koklea içerisindeki toplam uzunluğu insanda yaklaşık 35 mm civarındadır. Bazaldan apekse doğru genişliği giderek artar. Dış tüylü hücreler (DTH) ve iç tüylü hücreler (İTH) olmak üzere 2 tip duyuşal hücre ve destek hücrelerini içerir (Şekil 3). DTH'nin etrafını kaplayan geniş bir ekstrasellüler boşluk (Nuel boşluğu) ve DTH ile İTH arasında tünel biçiminde bir boşluk (Corti tüneli) bulunur. Bu boşluklar destek hücrelerinin özelleşmesiyle oluşur. Boşlukların içerisinde perilemf bulunur.

Corti organı yapısında destek hücreler olarak; Hensen hücreleri, Deiters hücreleri, sütun hücreleri (pillar hücreler) ile falangeal (parmaksı) hücreler bulunmaktadır (20,22). Corti organı yapısındaki DTH ve İTH mekanik (akustik) enerjinin, elektriksel (nöral) enerjiye dönüşümünde majör rol oynar. Her iki hücre morfolojik olarak ve sinirsel innervasyon açısından bariz farklılık gösterir (9,24).

Dış tüylü hücreler; silindirik biçimde olup, nükleusları bazal alana yerleşir. 3-4 sıra halinde bulunurlar. Dış tüy hücre demetleri tipik olarak “W” biçiminde gözlenir. Tektoryal membranla temas halindedir ve 3 sıralı 46-148 adet stereosilyadan meydana gelir. DTH'nin uzunlukları kokleanın bazalinden apeksine doğru giderek artış gösterir. Stereosilyalarında da benzer biçimde bir artış izlenir.

İç tüylü hücreler; silindirik ve basık biçimdedir. Çoğunlukla tek sıra halinde yerleşim gösterirler. Bu hücrelerin tüycükleri geniş bir “U” ya da düz bir hat şeklinde dizilim gösterir. Stereosilyalar tektoryal membranla temas halinde değildir. Her hücrenin tüyleri, apeksleri modiolustan uzakta yerleşim göstermiş, 2 sıralı ve çift “V” biçiminde (Şekil 4) düzenlenmiş 120 stereosilya bulundurur (20,22).

İç tüylü hücreler afferent sinir liflerinin %90-95'i ile sinaps yapar. Bunlar Tip I nöron olarak isimlendirilir. İç tüylü hücrelerin her biri yaklaşık 15-20 Tip I nöron tarafından innerve edilir. DTH ise geri kalan %5-10'u tarafından innerve edilir. Bunlar da Tip II nöron olarak adlandırılır. Her bir Tip II nöron yaklaşık 10 dış tüylü hücrenin innervasyonunu yapar. Tip I nöronlar miyelinli liflerdir. Tip II nöronlar ise miyelin içermezler. İç ve DTH'i innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmiştir (9,11,20,24).



**Şekil 4. İç ve dış tüylü hücre stereosilya diziliminin Scanning Elektron Mikroskop görüntüsü (22)**

## **KOBAY (GUİNEA PİG) TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ**

Koklea, timpanik bullanın içinde bulunan en belirgin yapıdır ve timpanik bulla medial duvarının büyük bölümünü oluşturur. İç kulak kavitesi geniştir ve ince bir duvarla kaplanmıştır. Her üç semisirküler kanal ve koklea orta kulak boşluğunda çıkıntı oluştururlar ve böylece kolaylıkla tanınabilirler (25). Kobay kokleası insanda olduğu gibi skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç tubüler kompartmandan meydana gelir. İnsan ve kobay kulağı morfolojik bir çok yönden benzerlikler göstermesine rağmen bazı farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar şunlardır (25-27):

- Kulak zarı ve timpanik halkanın boyutları temporal kemiğin büyüklüğüne oranla insandakine nazaran daha büyüktür. Kobay kulak zarında pars flaksida bulunmamaktadır.
- Havalı hücre sistemi daha basit yapıda olup dört büyük hücreden meydana gelir ve insandaki trabekülasyon mevcut değildir.
- Kobaylarda timpanik bulla olarak isimlendirilen çok geniş ve muntazam bir orta kulak kavitesi bulunmaktadır.
  - Malleoinkudal kompleks ve stapes olmak üzere iki kemikçik yapısı yer almaktadır.
  - Kobaylarda internal akustik kanal yoktur.
  - Koklea bullanın içine projekte olur. Timpanik bullanın medial duvarının büyük bölümünü meydana getirir.
  - Östaki tüpü tamamen kıkırdak yapıdan oluşmaktadır.
  - Kobaylarda koklea 3.25 veya 4.25 tur dönüş yaparken insanda bu dönüş sayısı 2.5-2.75'dir.

## **İŞİTME FİZYOLOJİSİ**

Aurikulanın toplamış olduğu ses enerjisinin, kulağın çeşitli kısımlarında değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri halinde beyine gönderilip burada ses halinde algılanması olayı işitme olarak tanımlanır (10). İşitme, işitme sistemi (auditory system) olarak adlandırılan geniş bir alanı ilgilendirir. İşitme merkezi, dış, orta ve iç kulak ve merkezi işitme yolları bu sistemin parçalarıdır (9). İşitme organı fonksiyonel açıdan iki bölümden incelenir:

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

İletim aygıtı; dış kulak ve orta kulak, persepsiyon aygıtı ise iç kulak, işitme siniri ve onun santral bağlantıları ile işitme merkezinden meydana gelir (10).



Ses dalgalarının Corti organına iletilmesi sürecinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici etkileri vardır (11). İşitme fonksiyonu dış kulak yoluna ses dalgalarının girmesi ile başlar. Dış kulak yolu ses dalgalarını sıkıştırır ve gergin olan kulak zarına iletim fonksiyonunu yerine getirir. Hava yolu olarak adlandırılan bu sisteme karşılık kafa kemikleri de iç kulağa kadar titreşimleri ulaştırabilmektedir. Bu kemik yolu olarak isimlendirilmektedir. Normal bir kulakta hava yolu ile işitmenin, kemik yolu ile işitmeden ortalama iki kat fazla olduğu belirtilmektedir (10).

İşitme fonksiyonu için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden Corti organına aktarılması gerekmektedir (iletim-kondüksiyon). Bu mekanik bir hadisedir ve sesin bizzat kendi enerjisi ile elde edilir. İkinci olarak Corti organında, ses enerjisi bazı biyokimyasal olaylar ile sinir enerjisi haline dönüştürülür (dönüşüm-transdüksiyon). İç ve dış titreşim tüylerinde oluşan elektrik akımı üçüncü olarak kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış hale getirilir. Bu olay *neural coding* ya da *relay* olarak adlandırılır. En son olarak da işitme merkezinde tek tek gelen bu sinir iletimleri birleştirilir ve çözülür (9).

### **Dış Kulak Yolu Fizyolojisi**

Kulak kepçesi, konumu ve şekliyle çevredeki sesleri toplamaya, yönlendirmeye yarar. Konka ise megafon görevi görür ve dış kulak yolunda ses dalgalarını yoğunlaştırır. Bu şekilde ses dalgalarının şiddetini 6 desibel (dB) arttırdığı düşünülmektedir. Ses dalgalarının atmosferde yayılması ile dış kulak yolundaki yayılması karşılaştırıldığında yetişkin bir insanda sesin şiddetinin arttığı ve bu artışın 1000-8000 Hz frekansları arasında olduğu anlaşılmıştır. Normal yetişkinlerde bu şiddet artışı 3500-4000 Hz frekansında en yüksek değerine ulaşmaktadır (9,24,28,29).

### **Orta Kulak Fizyolojisi**

Ses enerjisinin dış kulak yolundaki hava ortamından kokleadaki sıvıya iletim rolünü orta kulak üstlenir (24,30). Hava ve perilyen arasındaki rezistans farkından dolayı ses dalgaları ortam değiştirirken yaklaşık 30 dB kayba uğrar. Orta kulağın göreviyse ortam değişiminden kaynaklanan bu kaybı karşılamak yani sesin şiddetini 30 dB artırmaktır (9,30). Orta kulak burada transduser rolü oynayarak impedans adaptasyonu sağlar ve koklear sıvılara geçen akustik enerji amplifiye olur (28,30).

Orta kulak sesin şiddetini üç mekanizma yoluyla artırır (9):

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

Kulak zarı bir çeşit ses alıcısı ve transformatördür. Titreşim bakımından kemik anulus ve manibrium mallei olmak üzere kulak zarının iki sabit noktası vardır. Kulak zarı kemiğe sıkıca tutunduğu için anulusda titreşim olmaz, ancak ince olan orta kısımda titreşim gerçekleşir. Böylece ses enerjisi kısmen daha hareketli manubriuma büyüyerek geçmiş olur. Bu "catenary lever" olarak adlandırılmaktadır. Sonuç olarak dış kulak yolunda kulak zarına gelen ses enerjisi kemikçik sistemine amplifiye edilerek ulaştırılır (9). Kemik zincirinin manivelası lentiküler çıkıntı ile malleus başı arasındadır. Umbo ve procesus brevis arasındaki doğru ile incusun uzun kolunun birbirine oranından bu sistemin yükseltici etkisi ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde kemikçik sisteminin yükseltici etkisi 1.3/1 olarak hesap edilmiştir. Bu yolla yaklaşık 2.5 dB'lik artış sağlanır (9,10,24). Orta kulağın amplifikatör etkisinde en önemli rol ise hidrolik mekanizmaya aittir. Bu mekanizma kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki yüzey alan farkından kaynaklanmaktadır. Kulak zarının titreşime katılan kısmı 55 mm<sup>2</sup>, oval pencere membranının yüzölçümü 3.2~3.5 mm<sup>2</sup> 'dir. Bunun ikisinin arasındaki oran 17/1 'dir. Bu oran yaklaşık 25 dB'lik bir artışa sebep olur (10).

Ses iletimini orta kulak kaslarının da etkilediği aşıkardır, ancak bu etkinin derecesi ve ayrıntıları hala tam olarak bilinmemektedir (24). *M. stapedius* ve *m. tensor tympani*'nin kontraksiyonları şiddetli sesleri söndürme (attenuation) etkisi ile iç kulak yapılarını koruyucu etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (29,30).

Genel olarak bakıldığında, orta kulak, sesleri iç kulağa geçiren pasif bir mekanik sistemdir. Orta kulağın mekanik bakımdan lineer özellikleri mevcuttur. Yani sesin şiddeti yükseldiği zaman iç kulağa iletilen enerji miktarı da aynı şekilde yükselir. Orta kulağın bu görevi transfer fonksiyonu olarak adlandırılır. Alçak frekanslar için lineer özellikler değişmese bile yüksek frekanslarda kulak zarı titreşimleri düzensiz bir hal alır ve şiddet yükselmesiyle paralel olmayan bir enerji iç kulağa aktarılır (24,30).

### **İç Kulak Fizyolojisi**

Kemik zinciriyle iletilen ses, oval pencere yoluyla kokleadaki iç kulak sıvısına girer. Normal şartlarda kulak zarı ve kemikçik sistemi ile oval pencereye ulaşan ses enerjisi hem hızlı hem de yukarıda sözü edilen üç sistemin yükseltici etkisinden dolayı, hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşan ses enerjisinden daha fazladır. Pencerelelere ulaşan iki farklı ses

dalgası arasında iletim hızının aynı olmaması yüzünden faz farkı oluşur. Bu faz farkı sonucunda, ses dalgalarının perilenfe geçmesiyle perilenf hareket kazanır ve baziler membranda titreşimler ortaya çıkar (9,10). Bu titreşimler bazal turdan apikal tura kadar uzanım gösterir. Bekesy tarafından bu hareket gezinen dalga "travelling wave" olarak isimlendirilmiştir (9).

Baziler membran bazal turda daha gergindir ve baziler membran genişliği artış gösterdikçe gerginlik de giderek azalır. Ses dalgasının bu fark nedeniyle bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile götürülmesi sağlanmış olur. Bekesy'nin belirttiği diğer bir konuysa, baziler membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Sesin frekansına göre baziler membran amplitüdü farklılık gösterir. Çoğunlukla baziler membran amplitüdüleri yüksek frekanslı seslerde bazal turda en yüksek seviyededir. Buna karşın baziler membran amplitüdü alçak frekanslarda apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır (9,10,24,30). Bundan dolayı yüksek frekanslı seslerde gezinen dalga bazal turda kalır ancak alçak frekanslı seslerde bazal turdan başlangıç göstererek apikal tura kadar devam eder (9,24). Orta kulaktaki lineer özelliklerin tersine baziler membrandaki titreşim amplitüdüleri non-lineer özellik gösterir. Yani şiddetin artmasıyla amplitüd aynı derecede artış göstermez ve bu özellik yüksek frekanslarda daha barizdir (30).

Corti organının dış ve iç tüylü hücreleri mekanik (akustik) enerjinin elektriksel (nöral) enerjiye dönüşümünde (transduction) major rolü üstlenir. Dönüşüm olayının oluşumunda titreşim tüy ve sterosilya kompleksinin rolü olduğu herkes tarafından kabul görmektedir. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları mevcuttur. Sterosilyaların hareketleriyle bu kanallar açılır veya kapanırlar. Baziler membranın hareketleri ile sterosilyalar harekete geçer ve iyon kanalları hareketin yönüne göre açılır veya kapanırlar. Sonuç olarak, baziler membran hareketlerinin elektriki akıma dönüşümü sağlanmış olur ve bu elektriki potansiyel kendileriyle ilişkili olan afferent sinir liflerine iletilir. Sinir lifleriyle hücreler arasında spesifik bir nörotransmitterin olup olmadığı henüz bilinmemektedir. İlgili oldukları titreşim tüylü hücrelerin özelliklerini sinir lifleri aynen yansıtırlar. Non-lineer özellikler ve karakteristik frekans aynı şekilde sinir liflerinde de görülür. Bu şekilde sinir enerjisinin frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanması sağlanmış olur (24,28). Bu enerji de sinir impulsları oluşturarak VIII. sinir lifleriyle sesin merkeze iletilmesine neden olur. Taşıdıkları frekanslara göre ses uyarımları beyinde değişik alanlarda sonlanır. Yüksek tonlar işitme merkezinin derinliklerinde son bulurken düşük tonlar yüzeylelerinde sonlanır (10). İşitme merkezi, temporal lobun Sylvian yarığında yerleşmiştir (24).

## **OTOAKUSTİK EMİSYONLAR**

Otoakustik emisyonlar (OAE), kokleadaki aktif süreçlerin bir yansıması şeklinde ortaya çıkan ve dış kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli seslerdir. İlk olarak Kemp tarafından 1978 yılında tanımlanmışlardır (31).

Koklea içerisinde dış tüylü hücre hareketi mekanik bir enerji meydana getirir. Bu enerji, oval pencereyle orta kulağa, daha sonraysa timpanik membrana ve kulak kanalına doğru aktarılır. Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) meydana gelir ve bu sinyal duyarlı bir mikrofon yardımıyla ölçülebilir (32-34).

Otoakustik emisyonların ölçülmesi periferik işitsel fonksiyonu değerlendirmede duyarlı bir göstergedir. İşitme kaybının koklear komponentini saptamasının yanında diğer odyolojik metodlarla saptanamayan, kokleanın durumundaki küçük değişiklikleri objektif olarak izlemeye de olanak verir. Uygulanmaları kolay ve oldukça hızlıdır. Hasta tarafından kolay tolere edilebilir, objektif sonuca dayalı, girişimsel olmayan testlerdir. Yaşlılar, çocuklar, ototoksik ilaç kullanan ağır durumdaki hastalar, yabancı bir dili konuşanlar, subjektif testler için yeterli işbirliğini gösteremeyen vakaların işitme fonksiyonunun araştırılmasında OAE'lar önemli bir yere sahiptir (35-37). Normal ya da normale yakın işitmesi olan tüm kulaklarda uyarılmış otoakustik emisyonlar kaydedilebilir (31). DTH yapısal olarak tahribata uğradığında veya fonksiyon yapamadıklarında emisyonlar üretilemez (32). Bunun dışında otoakustik emisyonların saptanmasında orta kulağın iletim fonksiyonu da önem taşır. Çünkü hem akustik uyarı hem de koklea tarafından üretilen sesler orta kulağı geçmek durumundadırlar. Sonuç olarak, emisyonların saptanması koklea ve orta kulak sistemlerinin normal veya normale yakın fonksiyon göstermesiyle ilintilidir (32,35).

Emisyonların sınıflandırılması işlemi ortaya çıkarılmaları için kullanılan stimulus türüne göre yapılmıştır. Buna göre emisyonları spontan ve uyarılmış (evoked) emisyonlar adı altında iki sınıfa ayırmak mümkündür (32,34).

### **Spontan Otoakustik Emisyonlar**

Dışarıdan bir uyarı olmaksızın Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE) ortaya çıkarlar ve dışarıdan bir uyarı olmaksızın insan kulağında %40-60 oranında elde edilebilirler (34,37). Koklear fonksiyonu değerlendirme açısından klinikte pratik değildir (38).

## **Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar**

Kulak kanalından bir dış akustik uyarın varlığında ölçülen düşük seviyeli akustik sinyallerdir (35). Kullanılan uyarının cinsine göre üç türe ayrılırlar:

- 1- Uyarı frekansı OAE (Stimulus frequency OAE, SFOAE)
- 2- Distortion product OAE (DPOAE)
- 3- Transient evoked OAE (TEOAE)

**1- Uyarı frekansı otoakustik emisyonlar:** Pür ton uyarıya kokleanın, uyarıyla aynı frekansa kendiliğinden oluşan yanıtlarıdır. Uyarı frekansı emisyonların kaydedilmeleri zordur ve yararlanımları klinik olarak sınırlıdır (32,34,39).

**2-Distortion product otoakustik emisyonlar:** Koklea içerisinde, eş zamanlı olarak uygulanan iki pür tonun non-lineer etkileşiminden kaynaklanan ve kulak kanalından ölçülebilen akustik enerji şeklinde tanımlanırlar (34).

Dışarıdan verilen iki frekans tonuyla içeride üçüncü bir frekans meydana getirilir. Emisyon uyarıcı iki ton  $f_1$  ve  $f_2$  primerleri olarak isimlendirilir. En belirgin emisyon yanıtları insanda  $f_2/f_1$  oranı 1.2'ye eşit olduğunda sağlanır. Teknolojik olarak ölçümü en kolay emisyonlar DPOAE'dir; nispeten parazitsizdir ve ölçüm sonrası işlem gerektirmez. Mikrofon bulunduran bir prob diğer emisyon ölçümlerinde olduğu gibi lazım olmaktadır. Fakat iki farklı frekansta uyarıyı vermek için iki kanal gerekmektedir. Kulak yolunda uyarılar karışmaktadır. Kulak yolu ses basıncı ortalamaları gürültü eşiğini azaltmak, primerlerin seviyelerini ve distortion ürününün analizini yapmak için alınır. DPOAE'ların gürültüden fark edilmesini sağlayan en düşük primerler seviyesi, eşik seviyesini vermektedir. 50-60 dB'e ulaşan sensorinöral işitme kayıplarında DPOAE çoğunlukla yoktur. Ölçümde primerler iki yolla manipüle edilir; seviye sabit tutulurken frekans değişir, frekans sabit tutulurken seviye değişir. Birincinin sonucuna "distortion product (distortion ürünü) odyogram" denir. İkincisiyse input/output (I/O) işlevini verir. I/O işlevi DPOAE eşiklerini verir. En uygun uyarı değişkeni klinik uygulamalarda henüz kesinleşmemiştir. Uyarı değişkenlerindeki çeşitlilikten dolayı da DPOAE'ların tanısallık anlamlılığı netlik kazanmamıştır. DPOAE odyogramları geniş bir frekans alanında fakat çoğunlukla sadece 1-2 seviyede bilgi sağlar (32,40-42).

**3-Transient evoked otoakustik emisyonlar:** Tone bipler veya klikler gibi kısa süreli uyarılarla ortaya çıkarılırlar. Stimulus çoğunlukla 80 dB SPL civarında kullanılır. Kulak

kanalındaki duyarlı mikrofonla koklea tarafından üretilen emisyon yanıtları ölçülür ve arka plandaki gürültüden ayrılarak ortalaması alınır. Non-linear yanıtlar sinyallerin incelenmesinde dikkate alınır, akustik prob ve dış kulak yolunun lineer cevabı iptal edilir. Non-linear uyarı dörtlü bir gruptan meydana gelir. Bu dörtlü grup içerisindeki ilk üç stimulus aynı fazda sunulurken, dördüncüsü ters fazda ve ilk üçünün amplitüdlerinin 3 katı olarak sunulur. Sonuç olarak  $260 \times 4 = 1040$  geçici yanıt her bir hafıza bankasında toplanır. Ortalaması alınan yanıtlar iki farklı hafıza bankasında depolanır ( $1040 \times 2 = 2080$ ) ve iki farklı dalga formu meydana gelir. Bu dalga formlarının elde edilmesi için depolanan stimulus sayısı toplam 2080' dir. "Reprodüktibilite" yüzdesini iki ayrı hafıza bankasındaki dalga formları arasındaki çapraz korelasyon verir (33,43). Reprodüktibilitenin %50-60 veya üzerinde olması klinik pratikte "yanıt var" anlamına gelir (32-34,44).

Reprodüktibilite değeri, emisyon amplitüdüleri (echo level, response level, emission strength) ve signal/noise (S/N) oranları transient evoked otoakustik emisyonların yorumlanmasında incelenebilir. Response level (emission strength) TEOAE amplitüdünün dB cinsinden ifadesidir. Eğer düzeltilmiş response level (response level- noise) de 2.4 dB ve üzeriyse "yanıt var" anlamına gelir (44). S/N oranını bulmak için, çeşitli uyarılara karşı alınan yanıtların ortalaması hesaplanır. Yanıtın ilk 2.5 msn'si uyarıdan ayırmak amacıyla dışlanır (43,45).

İşitme eşiğinin 35 dB'den düşük olduğu durumlarda transient evoked otoakustik emisyonlar genellikle mevcuttur (46). Normal işiten kişilerde ise transient evoked otoakustik emisyonların hemen daima var oldukları kabul edilir. Normal işiten bir insanda eğer TEOAE yanıtları yoksa bu; ya subklinik bir işitsel disfonksiyona ya teknik sorunlara ya da çevresel şartların uygun olmayışına bağlı olabilir (32).

Günümüzde en fazla TEOAE ve DPOAE'ların kullanım alanları bulunmaktadır ve başlıca kullanım alanları şunlardır (41,47):

I- Tanısal amaçla:

1- İşitme kaybının koklear lokalizasyonunu objektif olarak doğrulamak amacıyla;

- a) Gürültüye bağlı işitme kaybı
- b) Presbiakuzi
- c) Ailesel işitme kaybı
- d) İdiopatik işitme kaybı

2- İşitme kaybının koklear komponentinin belirlenmesi amacıyla;

- a) Meniere hastalığı

b) Ani idiopatik sensorinöral işitme kaybı

c) Akustik nörinoma

II- Tarama amacıyla:

1- Yenidoğan taraması

2- Oyun çocuğu taraması

3- Mesleki işitme kaybı riski olanlarda tarama

III- Monitorizasyon amacıyla:

1- Ototoksik ilaç kullanımı

2- Gürültüye bağlı işitme kaybı

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

4- İntraoperatif monitorizasyon (akustik nörinoma cerrahisi).

## **İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI**

İşitsel beyinsapı yanıtları (Auditory brainstem response, ABR), işitme sinirinin başlangıcından ponsun en üst bölümüne kadar olan anatomik alanda işitme yollarındaki elektriksel akımın senkronize aktivitesini kaydedebilen elektrofizyolojik bir test yöntemidir. İşitsel uyarılma potansiyellerinin kayıt tekniği, temelde işitme sistemi ve beynin bir ses uyarısına verdiği yanıtın elde edilmesi olduğundan; yapılan kayıtlarda ses uyarısı ile bu uyarının özellikleri önemli bir rol oynar (48).

İşitsel beyinsapı yanıtları kayıtlarında en çok tercih edilen tip amplitüdü dB olarak ölçülen klik uyarı tipidir (49,50). Kokleanın tüm frekans alanlarının klik uyarılarla aynı anda uyarıldığı kabul edilir. Bundan dolayı frekansa özgü ABR kayıtları yapabilmek için kısa süreli tonal uyarılar kullanılır ki bu tip ses uyarıları tone-burst veya tone-bip olarak adlandırılır.

Uyarılmış işitme potansiyellerinin kaydı yapılırken elektrotların konumları; kaydedilen cevabın varlığını ve kalitesini doğrudan etkiler. Verteks aktif elektrot için sık olarak tercih edilen bir elektrot yerleştirme noktasıdır. Referans elektrotlarsa mastoid proces veya aurikula lobülüne koyularak horizontal yerleşim tamamlanır (48,51,52). İşitsel uyarılma potansiyellerine alınmış olan cevaplar; latensleri esas alınarak erken, hızlı, orta ve geç olmak üzere altgruplara ayrılır (48,49,52).

İşitsel beyinsapı yanıtları, akustik sinirle birlikte beyinsapındaki nükleusların biyoelektriksel aktivite gösteren dalga serilerinden meydana gelir. Bu seri insanda 7 pozitif tepeden oluşur; bu tepelerin orijinleri 1970'den bu yana farklı şekillerde adlandırılmış, son

yıllarda yapılan araştırmalara göre her ABR dalgasının birden fazla beyinsapı işitme nükleusundan ve işitme yollarını oluşturan sinir liflerinden meydana geldiği neticesine varılmıştır (48,51). Son görüşe göre; I. dalga işitme siniri distalinden, II. dalga işitme siniri proksimalinden, III. dalga koklear nkleusdan, IV. dalga superior olivar kompleksden, V. dalga lateral lemniscusdan, VI. ve VII. dalgalar inferior colliculus'dan kaynaklanmaktadır (49).

Eşik altındaki uyarı seviyelerinde cevap trasesi neredeyse düz bir formdayken, eşiğin hemen üstünde V. dalga latensi meydana gelmektedir. Orta düzeydeki ses şiddetlerinde III. dalga belirgin hale gelirken; I. II. ve IV. dalgalar sadece yüksek şiddetlerde belirginleşmektedir. Bunlardan II. ve IV. dalgalar değişkendir ve herkeste elde edilmeyebilir. Benzer biçimde VI. ve VII. dalgalar da bu değişkenlik özelliği mevcuttur. I. III. ve V. dalgalar bundan dolayı klinik uygulamalarda tanı aracı olarak kullanılırlar (49).

Periferik eşik hassasiyetinin llmesinde işitsel beyinsapı yanıtları işitme fonksiyonunun objektif bir değerlendirme yöntemidir (48).

İşitsel beyinsapı yanıtlarıyla eşik tayini adayları; davranış odyometrisi tekniklerinin uygulanmasının mümkün olmadığı vakalardır. Bu vakaların çoğunluğunu yenidoğanlar, zihinsel engelliler, küçük çocuklar, deneysel kobay çalışmaları ve simülasyonla kendilerini hasta göstermeye çalışanlar oluşturur. Objektif oluşu, ABR'nin deneysel modelde eşik tayini açısından araştırıcıya büyük kolaylık sağlamaktadır (48,49).

## **AKUSTİK İMPEDANS ÖLÇÜMLERİ**

İmpedans odyometri; orta kulak, koklea, VIII. kranial sinir ve beyin sapı işitme yolları hakkında bilgi veren, bebek ve çocuklarda hastanın koopere olmasını gerektirmediği için de fonksiyonları kolayca gösterme özelliği olan objektif bir odyometri yöntemidir. Akustik impedansmetreler; timpan zarı seviyesindeki akustik impedansı, stapes kasının kasılmasını ve dış kulak yolundaki hava basıncı değişimlerini ölçer ve kaydeder.

### **Timpanometri**

Orta kulak sisteminin değişkenliğinin ölçümü timpanometridir. Timpanometrinin sonuç grafiği timpanogram olarak adlandırılır.  çeşit timpanogram bulunmaktadır.

A tipi timpanogram; kulak zarının 0 mmH<sub>2</sub>O atmosfer basıncında maksimum komplians (uyum) gösterdiği zamanki timpanogram çeşididir. Yani orta kulak sistemi bu tipte en uygun konumdadır.



B tipi timpanogram; Düz eğri şeklinde elde edilen, sivri bir tepesi olmayan timpanogram tipidir. Ayrıca yüksek impedans ve düşük komplians söz konusudur. Tip B timpanogram çoğunlukla orta kulaklarında sıvı olan hastalar için karakteristiktir.

C tipi timpanogram; -100 ve -400 mmH<sub>2</sub>O basınçlar arasında maksimum komplians noktasının var olduğu timpanogramdır tipidir. Orta kulak boşluğunda negatif basıncın olduğuna işaret eder. Bu tip östaki borusu disfonksiyonu olan hastalar için tipiktir (53).

## **OTOTOKSİSİTE**

Çeşitli eksternal faktörlere bağlı olarak iç kulak zarar görebilir. Bu faktörler gürültü, travma, ilaç ve enfeksiyonlardır (54). Herhangi bir terapötik ajan veya kimyasal maddenin, iç kulak dokularında özellikle VIII. Kraniyal sinir ve son organlarında hücresel hasar ve fonksiyonel bozukluğa neden olması ototoksisite şeklinde ifade edilmiştir (54,55). Yüzyıllardan beri iç kulağın çeşitli kimyasal maddelere karşı duyarlılığının olduğu bilinmektedir (12). Günümüzde de ototoksisite, işitme kaybı ve denge bozukluğuna sebep olan önemli nedenlerden biridir.

Ototoksisite semptomları, yeni gelişen tedavi ajanlarının uzun klinik kullanımları sonrasında ortaya çıkmaktadır ve bu yeni klinik kullanımdaki ajanların da ototoksik etkilerinin olabileceği gözönünde bulundurularak, bu konuyla ilgili her türlü bilgiye ulaşmaya çalışılmalıdır (9,12,56).

Günümüzde, ototoksisiteye neden olduğu bilinen ajanlar temel başlıklar halinde antibiyotikler, diüretikler, antineoplastik ilaçlar, antimalaryal ilaçlar, antienflamatuarlar, şelat yapıcı ajanlar, ototopik ilaçlar ve diğerleri şeklinde sıralanabilir (54,57).

Antibiyotik kullanımına bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları şunlardır: Tinnitus, işitme kaybı ve vertigo. Tinnitus çoğunlukla en sık görülen semptomdur ve ardından oluşabilecek pek çok toksik etkinin de erken habercisidir. Tinnitus, çoğunlukla yüksek perdeli ve 4000-6000 Hz arasında değişen frekansdadır. Genellikle işitme kaybından önce çıkar ve onun yerini alır. Tinnitusun tam olarak kaybolması sık değildir. Fakat, zamanla nöral elemanların dejenere olmasıyla tinnitusun şiddetinde azalma olabilmektedir.

Geri dönüşümlü tinnitus ve işitme kaybı salisilatlar ve kinin kullanımıyla meydana gelir. Lup diüretikleri de akut işitme kaybına yol açarlar fakat tedavinin kesilmesi ile düzelme gözlenir. Bunun dışında geçici işitme kaybı, aminoglikozid grubu antibiyotiklere bağlı olarak da görülür. Ancak kayıp sıklıkla kalıcı olur. Antibiyotik kullanımıyla oluşan işitme kaybı genellikle 3-4 gün sonra oluşur fakat ilk doz sonrası da ortaya çıkabilir. Kalıcı ototoksik

işitme kaybı tedavinin bitiminden günler haftalar ya da aylar sonra bile oluşabilir.

İşitme kaybı ve tinnitus sıklıkla bilateral ve hemen hemen simetriktr bununla beraber bu semptomlar unilateral olduğunda ototoksisite yoktur denemez. Ototoksik işitme kaybı nörosensöriyel tiptedir. Antibiyotikler yüksek frekanslarda dik eğimli bir kayıp meydana getirirken, diüretikler çoğunlukla düz veya hafif eğimli odyometrik kayba sebep olur (54,57,58).

Ototoksisite için bazı hastalar daha yüksek risk taşır. Odituar toksisite için, karaciğer, böbrek ve bağışıklık yetersizliği durumları, ileri yaşta olma, daha önce ototoksisite olma öyküsü, ototoksik olduğu bilinen ajanların aynı zamanda kullanılması, gürültüye maruziyet, önceden sensörinöral işitme kaybı olması ve kollajen-vasküler hastalıklar potansiyel olarak daha yüksek risk durumları sayılır (54,57).

## **RİFAMİSİN**

### **Rifamisin**

Rifamisinler *Streptomyces mediterranei*'den elde edilmiştir ve Rifamisin A, B, C, D ve E olarak isimlendirilen beş antibiyotik üretilmiştir. Rifamisin B' den de üç yarı-sentetik antibiyotik türetilmiştir. Rifamid, rifamisin sodyum ve rifampisin olarak adlandırılan bu antibiyotikler DNA kontrolü altında yapılan mRNA sentezini RNA polimeraz enzimini inhibe ederek duyarlı bakterilerde, bozarlar; bakterisid etkide bulunurlar. Rifamid kullanılması terk edilmiş bir ilaçtır; rifamisin sodyum da parenteral ya da topikal olarak kullanılan bir ilaçtır. Rifampisin ise özellikle tüberküloz tedavisinde, ayrıca antistafilokokal ilaç olarak ve diğer bazı endikasyonlarda sık olarak kullanılan önemli bir antibiyotiktir.

Rifamisinler, gram-negatif kokuslara (özellikle *N.menengitidis*' e), gram-pozitif kokuslara (streptokoklar, pnömokoklar ve özellikle *Stafilokokkus aureus*'a), *Myobacterium tuberculosis* ve *M.Leprae* gibi aside-dayanıklı bakterilere ve gram negatif basillere karşı etkilidirler (1).

Rifamisin sodyum suda fazla çözünen kırmızı renkli bir ilaçtır. Gastrointestinal kanalda çok az rezorbe olmasından dolayı ağızdan kullanılmaz; sadece parenteral kullanılması uygundur. Buna karşın, rifampin, gastrointestinal kanaldan iyi emilime uğrar ve esas olarak ağızdan kullanılır. Rifampin vücut sıvılarına iyi dağılım gösterir, serebrospinal sıvıya yeterli derecede geçmesi mümkün olur. Ancak rifamisin serebrospinal sıvıya geçmez. Her iki ilaç da

büyük oranda karaciğerden safra içine atılır. Plazmadakine göre safradaki konsantrasyonları çok daha yüksektir (1).

Rifamisin'in 1963 yılından beri özellikle enfekte olmuş cerrahi ya da kutanöz yaraların tedavisinde, açık ve kapalı yaraların irrigasyonunda kullanımı mevcuttur. Tüberkülozlu hastalarda akciğer kavitelerinin temizlenmesinin rifamisin'in ilk lokal kullanımını olduğu belirtilmektedir (2). Yara iyileşmesi, rifamisin kullanımında diğer lokal antibiyotiklere göre daha iyi olmakta ve bu sebeple enfekte kutanöz yaraların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (3).

Rifamisin'in yan etkileriyle oldukça az karşılaşmaktadır. İlacı aralıklı alan kişilerde bazen grip benzeri semptomlar görülmektedir. Rapor edilen diğer yan etkiler arasında trombositopeni, interstisyel nefrit ve hemolitik anemi bulunur. Rifamisin'in lokal uygulanmasıyla sık olmayarak alerjik kontak dermatitis görüldüğü anlaşılmıştır benzer biçimde çok nadir olarak rifamisin'in cerrahi yaralarda uygulanmasıyla anafilaktik reaksiyon geliştiği rapor edilmektedir (3-5). İselin el yaralanmalarında topikal rifamisin kullanımının faydalı olduğunu belirtmiştir. Ayrıca rifamisin'in hem yara iyileşmesini kontrol grubuna göre hızlandırdığını hem de enfeksiyonu kontrol altına aldığını rapor etmektedir (6). Bir diğer araştırmada da rifamisin'in yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisinin olmadığı belirtilmektedir (7).

Ortopedik protezlerle bağlantılı kemik doku içerisine yayılım gösteren enfeksiyonlar ile osteomyelit tedavisinde rifamisin'in yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir (59,60). Yapılan diğer bir çalışmada kontrol grubuna göre rifamisinle dekontamine edilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ölçüde bakteriyel azalma olduğu saptanmıştır (8).

## **OTOKSİSİTENİN ODYOLOJİK MONİTORİZASYONU**

Ototoksitenin odyolojik monitorizasyonu oldukça karmaşık bir konu halini almıştır. Bilinen ototoksik ajanların sayısı ve sinerjistik faktörler gün geçtikçe artış göstermektedir. Ototoksik tedavi alan hastalarda risk derecesini saptamak için çeşitli faktörlerin de göz önünde bulundurulması gerekir. Bunlar sadece ototoksik ajanın dozu ve uygulama süresi değildir. Bunların yanında, hastanın yaşı, birlikte kullanılan ilaçlar, daha önce ototoksik ilaç kullanıp kullanmadığı gibi faktörler de dikkate alınmalıdır. Ototoksite monitorizasyonu için mevcut odyolojik metotların sayısı giderek artış göstermiştir. Bununla beraber bu metotların sensitivite, spesifiteleri iyi tespit edilememiştir. Ototoksik ilaç alan populasyon çoğunlukla

ciddi hastadır ve uzamış test süresi çok stresli olabilir. Bundan dolayı günümüzde ototoksisite monitorizasyonunda kesin kılavuzlar yoktur (61).

Aminoglikozit kullanan hastalarda hastanın işitme kaybından yakınmasını beklemek, en etkisiz monitorizasyon yöntemidir. Çünkü, bilindiği üzere, birey tarafından fark edilebilmesi işitme kaybının en az 30 dB olması gereklidir. Bu sebeple ototoksik ilaç kullanan yüksek riskli hastalarda işitmenin monitorizasyonu için Kulak Burun Boğaz kliniklerinde belli periyotlar ile hastaların konvansiyonel odyometri, konuşmayı ayırt etme skoru ve ABR ile izlenmesi gerekmektedir (9,61).

Konvansiyel odyometri veya ABR ile ototoksisitenin monitorizasyonunda en önemli tartışma konusu belki de belirgin değişiklik kriterinin seçimi hususudur. Ototoksisite üzerine yapılan ilk yayınlarda, bir veya daha fazla frekansta 15 dB'i geçen ya da tek frekansta 20 dB'i geçen eşik değişiklikleri belirgin değişiklik göstergesi kabul edilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda ise bu kriterlerin ototoksik ilaç almayan kişilerde bile aşılabileceği ileri sürülmüştür (61).

Ototoksik emisyonlar spontan ya da akustik stimulusa cevap olarak kulak tarafından üretilen sinyallerdir. Yapılan son araştırmalar neticesinde OAE'ların koklea, muhtemelen de dış tüylü hücreler tarafından oluşturulduğuna inanılmaktadır. Çoğu ototoksinin iç kulakta dış tüylü hücreleri etkilemesinden dolayı, teorik olarak OAE'ların ototoksisite tespitinde faydasının olması gerekir. Ototoksisite monitorizasyonunda OAE kullanımının avantajları, hızlı, non-invaziv olması ve hastanın aktif katılımını gerektirmemesidir. Fakat hastada daha önceden mevcut olan işitme kaybı OAE'ların monitorizasyon amaçlı kullanımında sınırlayıcı bir faktördür. Ayrıca, OAE ölçümlerinde, orta kulak fonksiyonu dikkatli bir şekilde monitorize edilmelidir, OAE'daki bir değişiklik ototoksisiteye atfedilmeden önce normal orta kulak fonksiyonu tespit edilmelidir (61).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul onayı (Ek-1) alındıktan sonra Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP)'ne sunulmuş ve TÜBAP-2014-62 no'lu proje ile gerekli kimyasal ve sarf Malzemelerin alımı sağlanmıştır (Ek-2). Bu çalışma için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilen, 4-8 aylık ve ağırlıkları 200-600 gr. arasında değişen 20 adet auropalpebral refleksli, pigmente hartley cinsi erişkin kobay (Guinea pig) kullanılmıştır. Kobaylar %50 nem, 16-21 °C ısı koşullarında pelet yem ve C vitamini (mevsimsel taze sebze ve meyve şeklinde) ile beslenerek barındırılmıştır. Çalışmamızda uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyulmuştur.

Kobaylarda elektrofizyolojik ölçümler ve intratimpanik enjeksiyonlar anestezi altında gerçekleştirildi. Anestezi, ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg intramusküler (i.m) ve xylazine hidroklorür (Rhompun ampul, Bayer, İstanbul) 5 mg/kg/i.m ile sağlandı. Tekrarlayan anestezi dozu gerektiğinde, ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin hidroklorür i.m olarak uygulandı.

Anestezi altında toplam 20 kobayın 40 kulağının otomikroskopik bakısı yapıldı, dış kulak yolundaki debris veya buşonlar temizlendi. Bütün kobaylarda normal timpanik membran görüntüsü saptandı. Tüm kobay kulaklarında intratimpanik ilaç enjeksiyonları öncesinde DPOAE ile emisyon varlığı ve ABR testi ile normal işitmenin varlığı değerlendirildi. DPOAE ve ABR testleri sonucunda, emisyon varlığı ve normal işitme saptanan toplam 20 kobayın 40 kulağı çalışma kapsamına alındı ve randomize olarak 3 gruba

ayrıldı. Bu 3 grubun 1'i çalışma grubu 2'si kontrol (pozitif ve negatif) grubu olarak planlandı. Çalışma grubundaki kulaklara, intratimpanik olarak rifamisin [rifamisin SV (rifocin 100mg 0 ml kulak damlası, Sanofi Aventis, İstanbul)], pozitif kontrol grubundaki kulaklara gentamisin (genta göz kulak damlası İ.E. Ulagay, İstanbul), negatif kontrol grubundaki kulaklara ise serum fizyolojik (%0.9 NaCl) enjekte edildi. Tüm gruplarda intratimpanik enjeksiyonlar 1 gün ara ile 5 defa şeklinde uygulandı.

**Grup 1 (çalışma grubu):** 12 kulağa rifamisin 0,1ml, 1 gün ara ile 5 kez yapıldı.

**Grup 2 (pozitif kontrol grubu):** 8 kulağa gentamisin 0,1ml, 1 gün ara ile 5 kez yapıldı.

**Grup 3 (negatif kontrol grubu):** 20 kulağa serum fizyolojik (%0.9 NaCl) 0,1ml, 1 gün ara ile 5 kez yapıldı.

Intratimpanik enjeksiyonlar, insülin (PPD) enjektör pistonu ucuna dental iğne takılarak timpanik membranların arka alt kadrantlarına ~0.08-0.1 ml hacminde (orta kulak dolana kadar) yapıldı (Şekil 5).



**Şekil 5. Otomikroskopi altında intratimpanik enjeksiyon**

Enjeksiyonlar her defasında aynı saatlerde tekrarlandı. Kobaylar enjeksiyon yapıldığı süre içinde dehidrate bırakılmamaya özen gösterildi. Son ilaç uygulanmasından 5 gün sonra DPOAE ve ABR ölçümleri tekrarlandı. Ölçümlerin hemen sonrasında scanning elektron mikroskopisinde incelenmek üzere yüksek doz ketamin ve xylazın enjeksiyonunun ardından dekapitasyon yapıldı.

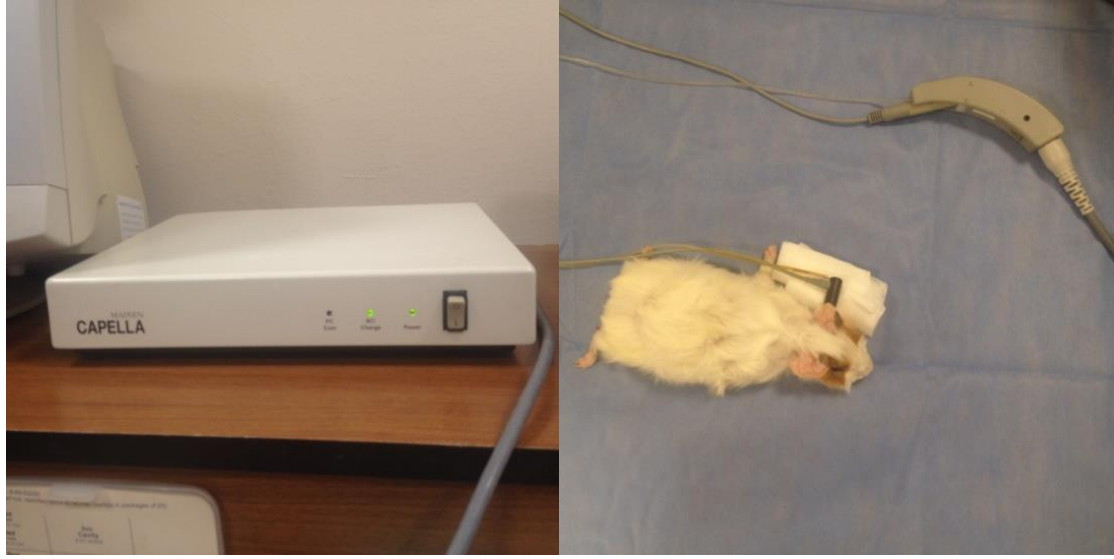
## **ELEKTROFİZYOLOJİK TESTLER**

### **Timpanometrik Ölçüm**

Timpanometrik inceleme Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda, GN Otometrics A/S Capella-MADSEN (Taastrup-Denmark) Otoakustik emisyon cihazında Tympanometry modunda yapıldı. Capella Madsen probu (Madsen-OAE probu) ucuna yenidoğan için kullanılan timpanometri plastik prop uçlarından küçük boy bir uç (no: 1-2), bunun ucuna da kobay dış kulak yoluna uygun bir plastik tüp adaptör (1 cm'lik) takılarak kobay dış kulak yoluna yerleştirildi. Timpanometri probunun tonu 75 dB SPL' de 1000 Hz' e ayarlandı. Pompa hızı 100 daPa/sn idi. Ölçüm basınç aralığı ise pompa yönü pozitif- negatif olmak üzere +200 ve -200 daPa arasına ayarlandı. Prob uygun pozisyonda iken ölçümlere başlandı. İncelemede "A" tipi timpanogramlar normal tip timpanogramlar olarak değerlendirildi.

### **Distortion Product Otoakustik Emisyon Ölçümü**

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (2f1-f2 kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) Capella-MADSEN (GN Otometrics A/S Taastrup, Denmark) cihazı kullanılarak DPOAE modunda ölçüldü. Kobayın dış kulak kanallarına uygun 1 cm'lik plastik tüp adaptörlerinin ucuna timpanometri plastik prob uçlarından yenidoğan için kullanılan küçük boy bir uç (no:1-2) takıldı. Bunun kalın kısmına da Capella-Madsen erişkin OAE probu yerleştirildi (Şekil 6).



**Şekil 6. Distortion Product Otoacoustic Emission ölçüm cihazı ve örnek bir kobayda ölçümü**

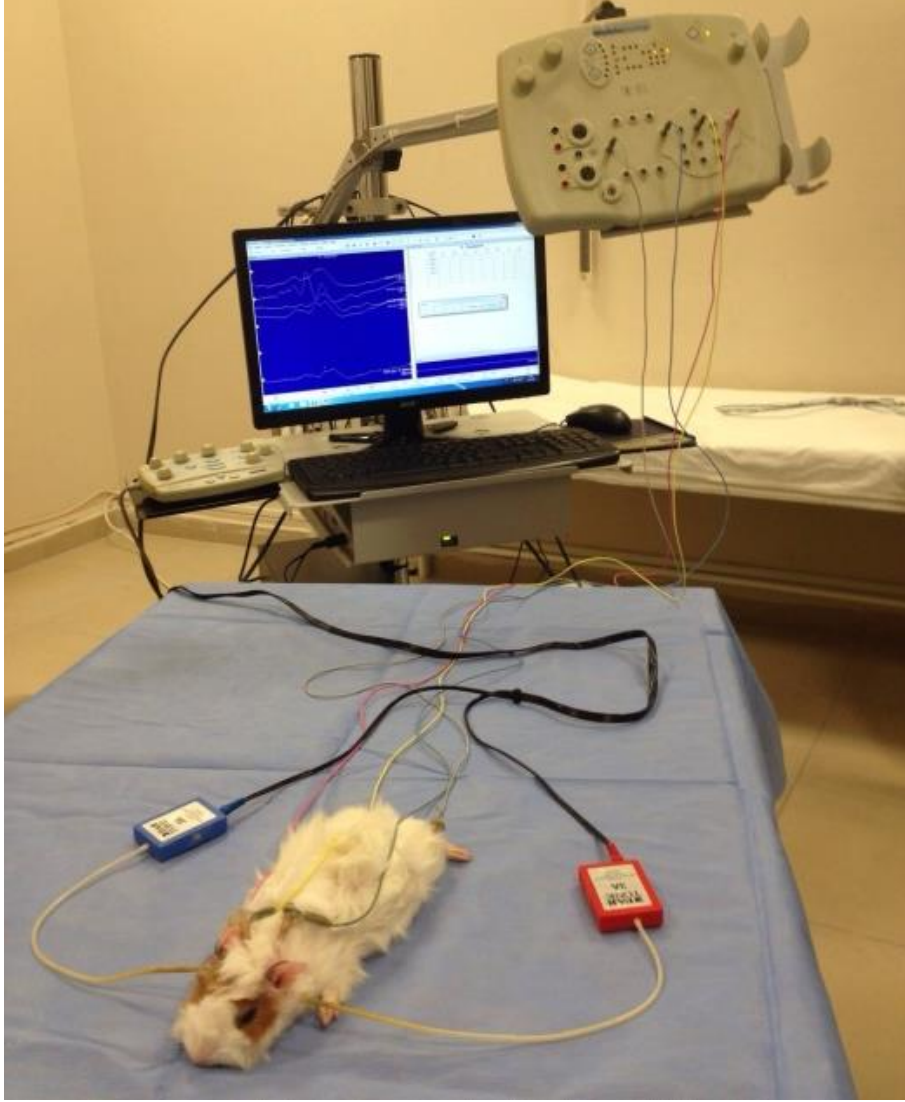
F2 ve f1 frekansları arasındaki oran ( $f2/f1$ ) 1.22 olacak şekilde tutuldu. Uyarın şiddeti f1 frekansı için L1 ve f2 frekansı için L2 olarak alındı ve L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 Db SPL (L1=65dB SPL, L2=55dB SPL) düzeyinde tutuldu. Sonuçlar birincil tonların (f1 ve f2) geometrik ortalamasında gösterildi. Otoakustik emisyonlar dış kulak kanalındaki iki adet uyarın (f1 ve f2) için iki farklı hoparlör kullanılarak uyarıldı. DPOAE'lar dış kulak kanalındaki mikrofon ile  $2f1-f2$  frekansında ölçüldü ve f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frekanslarında kaydedildi. Test süresi yaklaşık 60 sn idi. DPOAE amplitüdlerinin gürültü eşiğinin 3 dB üstündeki değerleri anlamlı kabul edildi (32,62). Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde; elde edilen  $2f1-f2$  kübik distorsiyon ürünleri f1 ve f2'nin geometrik ortalamasında yani 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frekans bantlarında oluşan sinyal gürültü oranı "Signal/Noise-Ration (S/N-R)" esas alındı. S/N-R oranı DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilirdir (62). Çalışmamızda bu S/N-R oranları her kobay için frekansa özgü olarak değerlendirildi. S/N-R frekans eğrileri çizildi.

### **İşitsel Beyinsapı Yanıtları Ölçümü**

İşitsel beyinsapı yanıtları ölçümleri Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda, BRA2-05/95 versiyon 5.XX Danplex-Germany marka beyinsapı analizör kullanılarak yapıldı. Kobayın dış kulak kanalına uygun 1 cm'lik plastik tüp adaptör, E-A-R Tone 3 A kanal içi

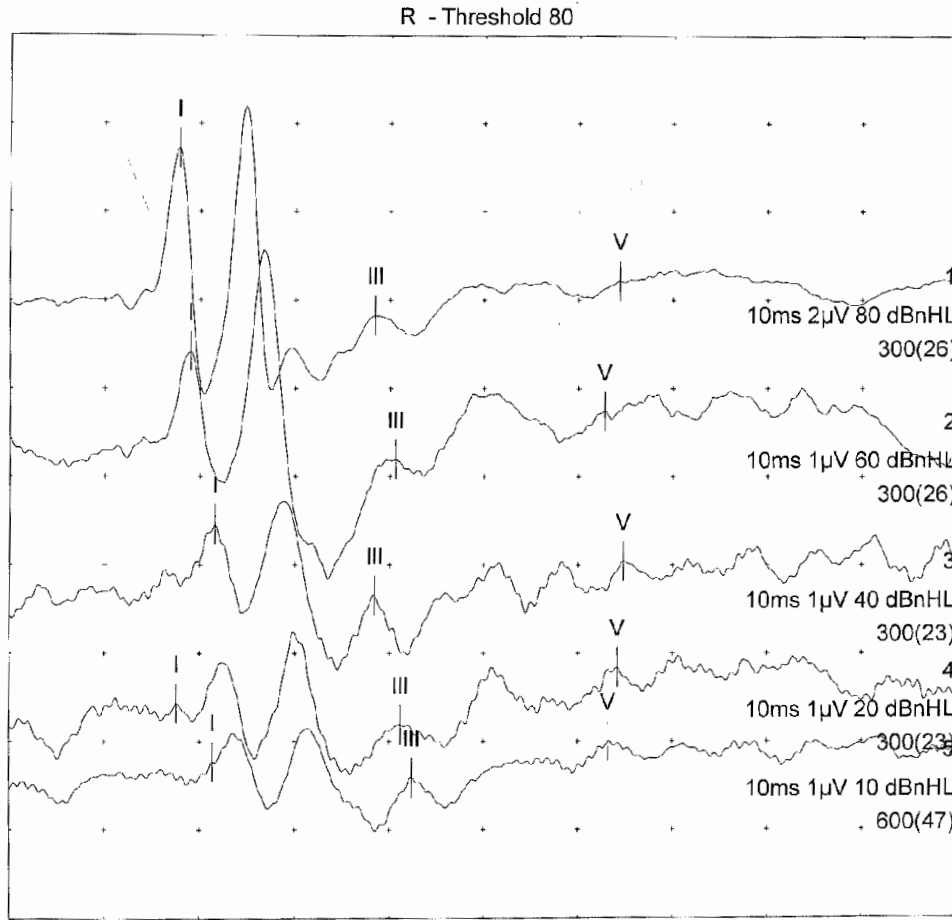


kulaklıkların ses tüplerine bağlandı. Gümüş iğne elektrotların negatif olanı test edilen kulağın mastoidine, pozitif olanı alına, toprak olanı da karşı kulağın mastoidine yerleştirildi (Şekil 7).



**Şekil 7. Örnek bir kobaya ait işitsel beyinsapı yanıtları kaydı**

Elektrotların uygun bağlanıp bağlanmadıkları cihaz üzerindeki elektrot testi (impedansmetre) ile kontrol edildi. Saniyede 10 klik uyarı verildi ve 300 cevabın ortalaması alındı. 80 dB HL'den başlanıp 10'ar dB azaltılarak eşik belirlendi ve 10 dB HL'de normal ABR konfigürasyonu saptandığında bu normal işitme olarak değerlendirildi (Şekil 8).



**Şekil 8. Bir kobay kulağına ait örnek işitsel beyinsapı yanıtları kaydı**

### **TEMPORAL KEMİK DİSEKSİYONU ve ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME**

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ve ABR testleri tamamlandıktan sonra kobaylar yüksek doz yüksek doz ketamin ve xylazin enjeksiyonun ardından kurban edildi. Her gruptan rastgele seçilen kulakların temporal kemik diseksiyonları, koklea ve iç kulak yapılarına hızlı erişim sağlayacak bir teknik ile gerçekleştirildi. Oksipital bölgeden horizontal ensizyon yapıldı ve cilt öne doğru eleve edildi. Her iki taraftaki temporal kas ve periost önce parietal kemiğin, ardından temporal skuamöz parçasının üzerinden eleve edildi. Aurikula laterale ekarte edilerek kıkırdak dış kulak yolu, keskin diseksiyon ile timpanik halkadan ayrıldı. Subperiosteal planda kas dokularının elevasyonuna devam edilerek, temporal kemiğin mastoid ve timpanik parçaları (bulla) ortaya konuldu. Bundan sonraki aşamada mastoid parça oksipital kemikten; skuamöz parça parietal, frontal, palatin ve etmoid kemiklerden; bulla oksipital ve sfenoid kemiklerden; petröz parça sfenoid kemikten disseke edildi. Ortaya konan VII. ve VIII. kranial sinirlerin ekstratemporal kısımları kesildikten sonra temporal kemik,

çevre kas dokularından da disseke edilerek kafatasından ayrıldı. Temporal kemikler pH'sı 7,3 olarak ayarlanan, %2,5 glutaraldehit içeren fosfat tamponuna alınarak 12 saat bekletildi. Bu prefiksasyon işlemi sonrasında, kemik doku fosfat tamponunda (PBS) 1 gün bekletilerek yıkandı. Sonrasında dokular pH'sı 7,3 olan 0,1M Na-EDTA (Sigma-Germany) solüsyonunda 2 hafta süreyle oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. Dekalsifiye olan temporal kemiklerden timpanik bullaları açılarak, kohlear yapıya ulaşıldı. İzlediğimiz metod, temporal kemikte disseksiyonla kohleaya ulaşım şekline göre daha koruyucu bir metottur (63,64). Temporal kemik disseksiyonları Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde yapıldı.

### **Elektron Mikroskopisi**

Temporal kemik dekalsifikasyonu sonrası, kohlear yapılar otik kapsül ile çevrili olduğundan dekalsifikasyon bir kez daha tekrarlandı. Bu amaçla dokular; 0,1 M PBS'te 1 gün bekletildikten sonra, 0,1 M Na-EDTA (pH= 7,3) ile 1 hafta daha oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. "Scanning" Elektron Mikroskopisi (SEM) görüntülenmesi için kohlear yapıları örten otik kapsül, asimetrik olarak bazalden apekse doğru disseke edildi (Şekil 9) ve bu yapılar 3 gün +4°C PBS'de bekletilerek rutin SEM takibine (Tablo 1) alındı.



**Şekil 9. Modiolar eksende bazalden apekse doğru kohlea X11,4**

**Tablo 1. Rutin scanning elektron mikroskopi takip protokolü**

<b>İŞLEM</b>	<b>KULLANILAN MADDE</b>	<b>SÜRE</b>
<b>1. Tespit</b>	% 2,5 Glutaraldehit fosfat	4 saat
<b>Yıkama</b>		12 saat
<b>2. Tespit</b>	% 1'lik Osmium tetraoksit	1 saat
<b>Yıkama</b>	PBS	15 dakika
<b>Dehidratasyon</b>	% 50 Alkol	5 dakika
	% 70 Alkol	10 dakika
	% 90 Alkol	10 dakika
	% 96 Alkol	10 dakika
	% 100 Alkol	15 dakika
	% 100 Alkol	15 dakika
<b>İnkluzyon materyaline gömme</b>	2/1 Alkol-Amilasetat	15 dakika
	1/1 Alkol-Amilasetat	15 dakika
	1/2 Alkol-Amilasetat	15 dakika
	Saf Amilasetat	
<b>Kritik Kurutma</b>	Karbonmonoksit (CO)	
	Tutucuya Yapıştırma	

Hazırlanan dokular kritik kurutma noktasında karbonmonoksit (CPD 010, Balzer Union- Liechtenstein) ile kurutuldu (Şekil 10a). Karbon tutucular ile pirinç bloklar üzerine sabitlendi (Şekil 10b). SEM değerlendirmesinde öncelikle Corti organı yüzey anatomisi incelendi. Yüzey anatomisinde genel hücre morfolojisi ile dış tüylü hücre stereosilya morfolojisi Tablo 2'deki parametreler kullanılarak değerlendirildi (65). Değerlendirilen parametreler kohlear frekans bandlarında bazalden apekse doğru ağırlıklı olarak dış tüylü hücre stereosilya morfolojisinin dizilimi incelendi (Şekil 10c). Rutin takip, dokuların hazırlanması ve SEM görüntülenmesi Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma Geliştirme Merkezi (TÜTAGEM)'de yapıldı.



Şekil 10. Rutin scanning elektron mikroskopi takibi öncesi hazırlık aşamaları ve scanning elektron mikroskopisinde iç tüylü hücreler ile dış tüylü hücrelerin görünümü.

Tablo 2. Scanning elektron mikroskopisi ile Corti organında yüzey anatomisi değerlendirme parametreleri (65)

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

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi. Grup 1, Grup 2 ve Grup 3’de ABR, DPOAE değerlerinin ilk ve son ölçümlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon sign rank test kullanıldı.

İşitsel beyinsapı yanıtları, DPOAE değerlerinin ilk ve son ölçümleri arasındaki fark değerleri hesaplanarak gruplar arasında karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı, fark saptandığında bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemede Bonferroni post-hoc testi kullanıldı.

İstatistiksel analizler T.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi.

## **BULGULAR**

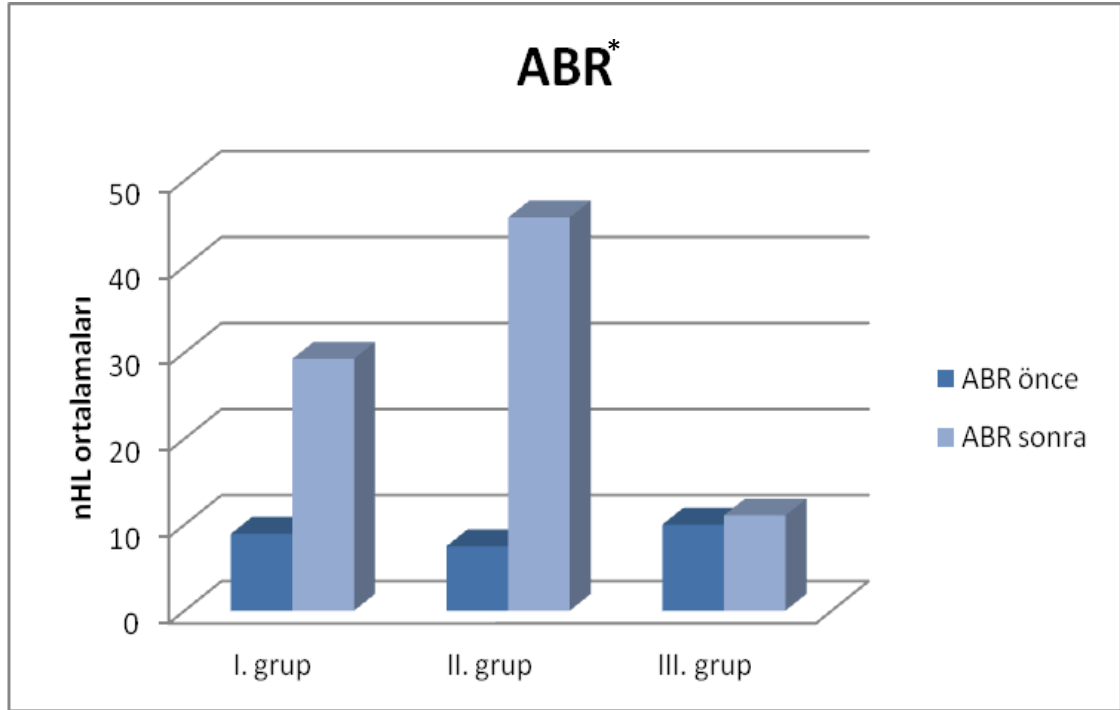
### **ELEKTROFİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER**

Çalışmamızda 3 grupta toplam 40 kobay kulağının elektrofizyolojik test sonuçları (DPOAE ve ABR olarak) değerlendirildi. Grup 1’de 12, Grup 2’de 8, Grup 3’de 20 kobay kulağı değerlendirildi. Çalışmanın başlangıcında tüm 20 kobayın 40 kulağında ve intratimpanik uygulamalar sonrası; her üç gruptaki tüm 20 kobayın 40 kulağında tekrar DPOAE ve ABR ölçümleri yapıldı. Elektrofizyolojik ölçümlerde ABR eşik değerleri ve DPOAE 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarda S/N oranları karşılaştırıldı.

Çalışma öncesi ve sonrası ABR eşik değerleri öncelikle her grup için gruplar içinde karşılaştırıldı. Grup 1’de ilaç uygulaması öncesi ABR eşik değerleri ortalama  $10.8 \pm 2.8$  dB, ilaç uygulaması sonrası ABR eşik değerleri ortalama  $18.3 \pm 8.3$  dB olarak saptandı ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Grup 2’de ilaç uygulaması öncesi ABR eşik değerler ortalama  $11.2 \pm 3.5$  dB, ilaç uygulaması sonrası ortalama ABR eşik değer  $45 \pm 9.2$  dB olarak saptandı ve ABR eşik değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Grup 3’de ilaç uygulaması öncesi ortalama ABR eşik değeri  $10.5 \pm 2.2$  dB, ilaç uygulaması sonrası ortalama ABR eşik değeri  $12 \pm 4.1$  dB olarak saptandı, bu değerler arasında ki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ).

Grup 1 ve grup 2’de ilaç uygulaması öncesi ve sonrası ABR eşik değer farkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Grup 1 ile grup 3 arasındaki ABR eşik değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Grup 2 ve grup 3 arası ABR eşik değerler karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak

anlamli fark saptandi ( $p<0.05$ ). Tüm bu ABR eik değer karşılaştırma sonuçları Şekil 11’de gösterilmektedir.

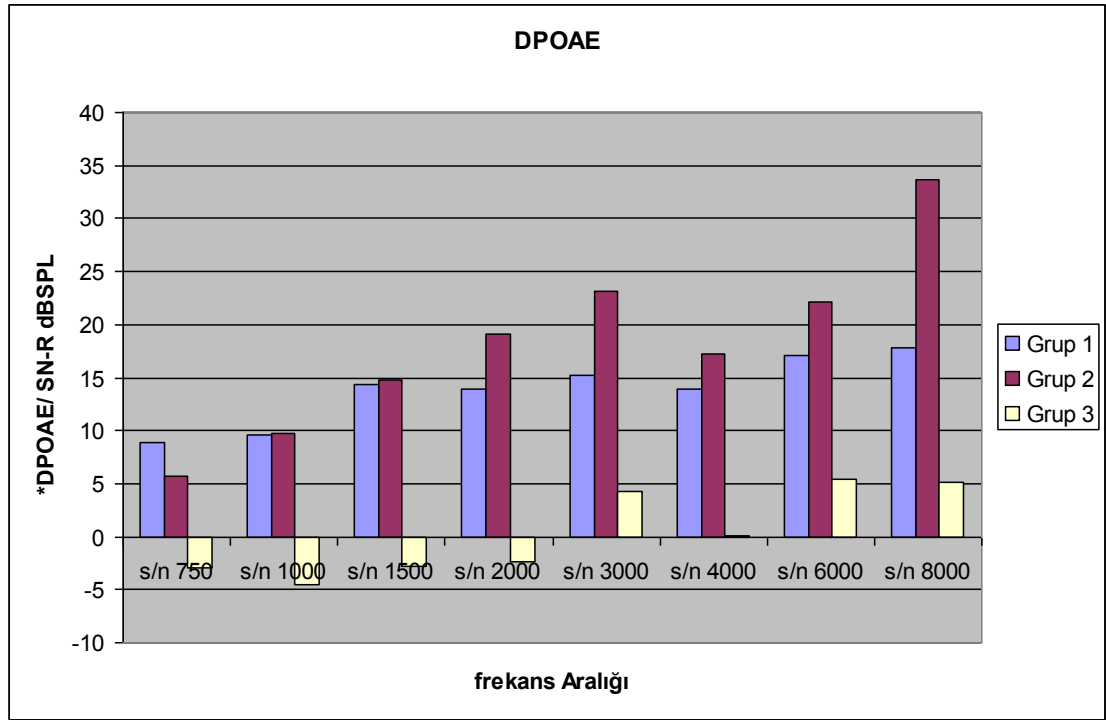


**Şekil 11. Gruplar arası ilaç uygulaması öncesi ve sonrası işitsel beyinsapı yanıtları eşik yanıtları (nHL)**

\*ABR: İŞitsel beyinsapı yanıtları

Grup 1’de ilaç uygulaması öncesi ve sonrası DPOAE S/N oranları grup içinde karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamli bir dŐ saptandı ( $p<0.05$ ). Grup 2’de ilaç uygulaması öncesi ve sonrası S/N oranları karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamli bir dŐ saptandı ( $p<0.05$ ). Grup 3’de ilaç uygulama öncesi ve sonrası S/N oranları karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz frekanslarında anlamli bir dŐ saptanmadı ( $p>0.05$ ). Her üç grubun da ilaç uygulaması öncesi ve sonrası S/N oranları Şekil 12’de gösterilmiştir.





**Şekil 12. 1. 2. ve 3. Gruplar arası ilaç uygulaması öncesi ve sonrası S/N oranlarının frekanslara göre karşılaştırılması (signal/noise, SN-R dBSPL).**

\*DPOAE S/N-R dB: "Distortion Product Otoacoustic Emission", sinyal/noise-oranı, desibel.

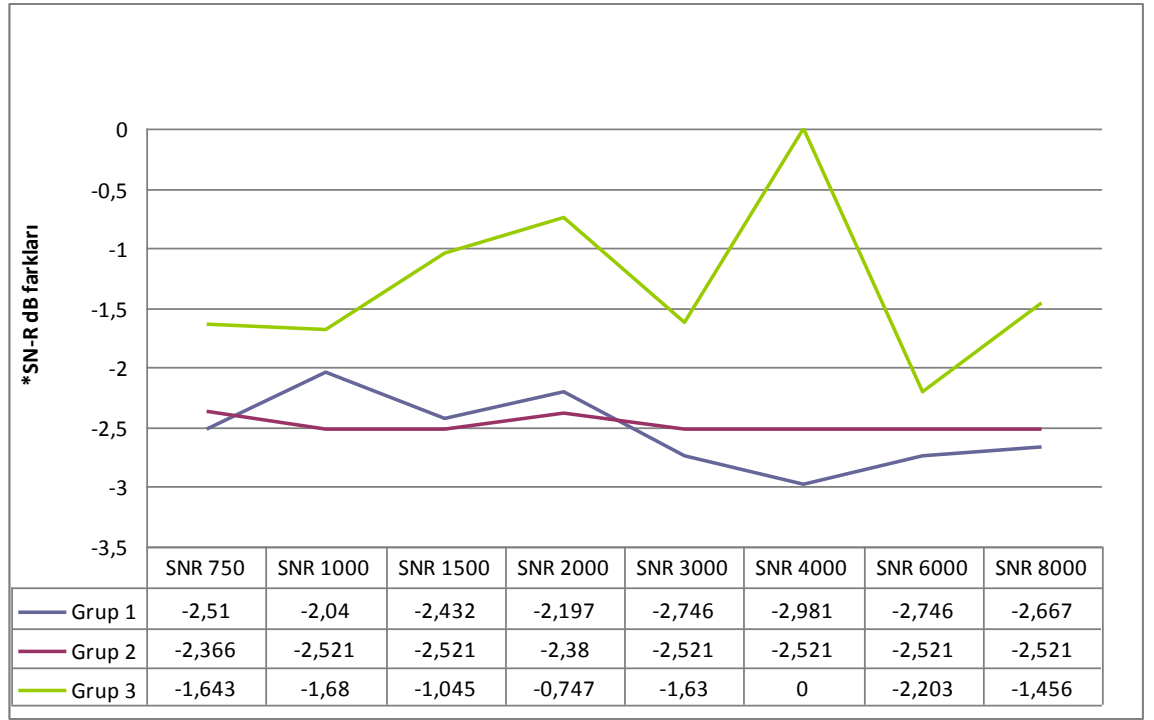
Çalışmamızda Grup 1'de yer alan toplam 12 kobay kulağının 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında DPOAE ile S/N oran farkları Grup 2 ve 3 ile karşılaştırıldı.

Grup 1'in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası arasında ki S/N oranları farkı Grup 2 ile karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.05$ ).

Grup 2'nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası arasındaki S/N oranları farkı grup 3 ile karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.05$ ).

Grup 2 ile Grup 3 arasında S/N oranlarının düşüş oranları karşılaştırıldığında ise 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarının tamamında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.05$ ).

Her üç grubun ilaç uygulaması öncesi ve sonrası S/N ortalamaları arasındaki farkın karşılaştırılması şekil 13'de gösterilmiştir.

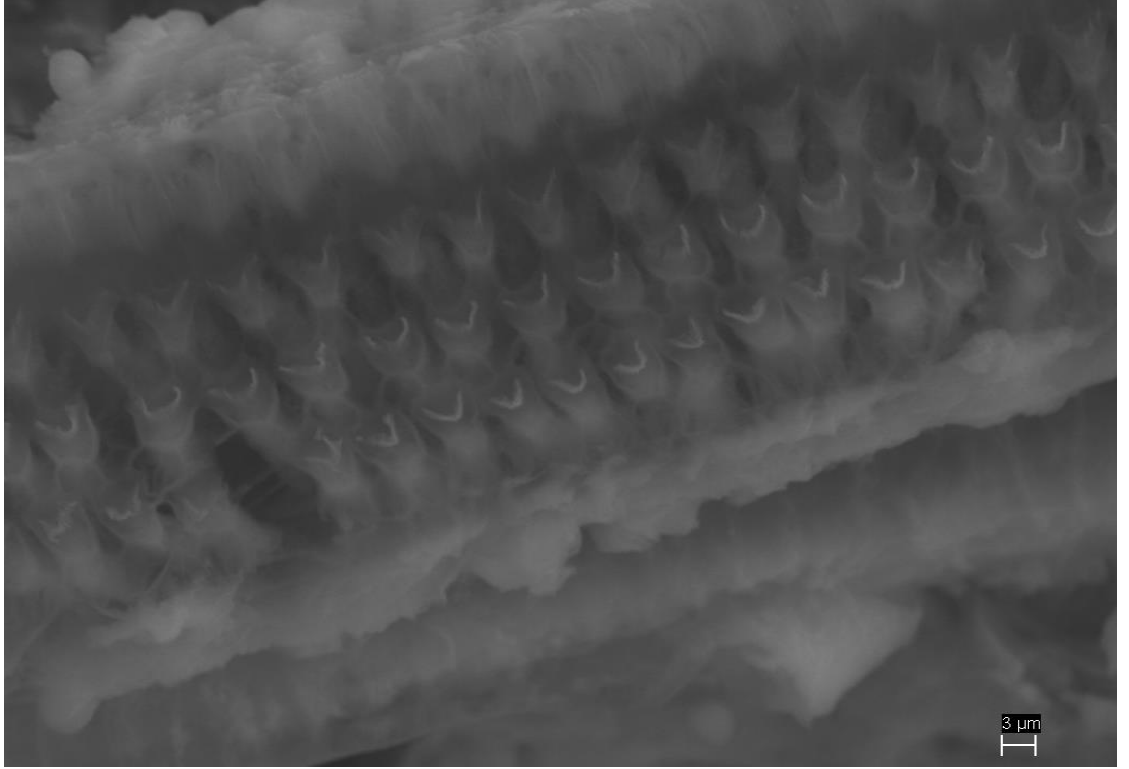


**Şekil 13. İlaç uygulaması öncesi ve sonrası frekanslara göre S/N oran farklarının gruplar arasında karşılaştırılması (signal/noise, S/N-R dB SPL)**

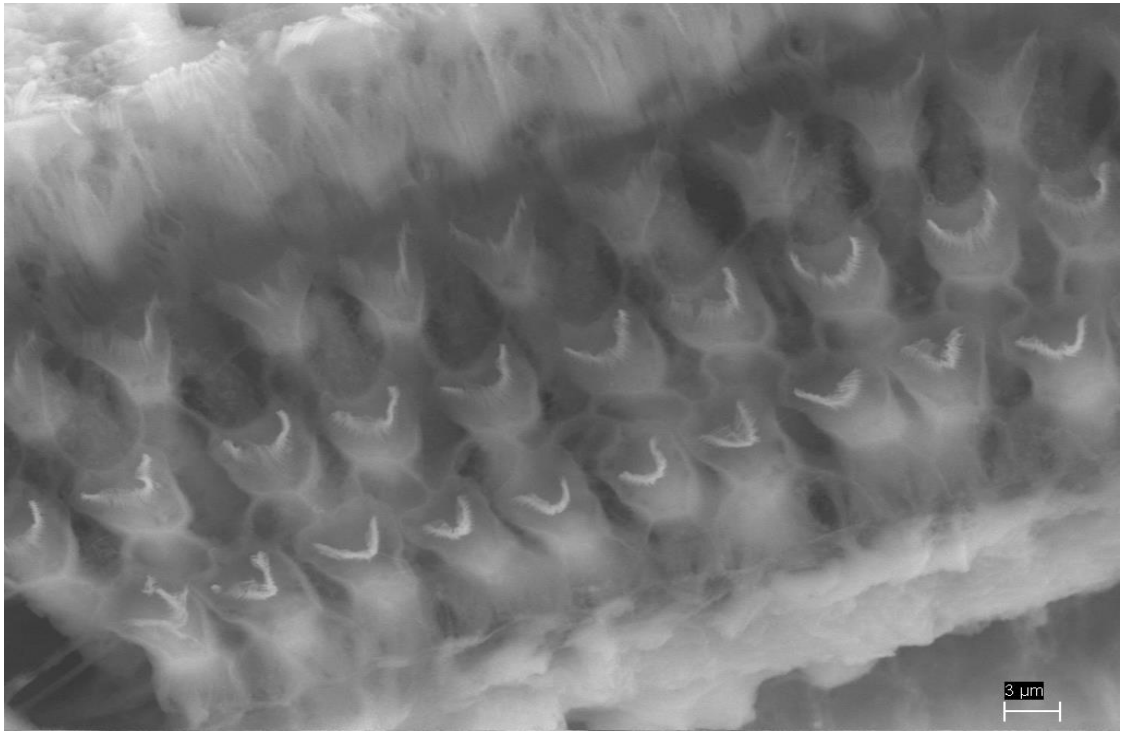
\*SN-R dB farkları: sinyal/gürültü desibel oran farkları.

## ULTRASTRÜKTÜREL DEĞERLENDİRMELER

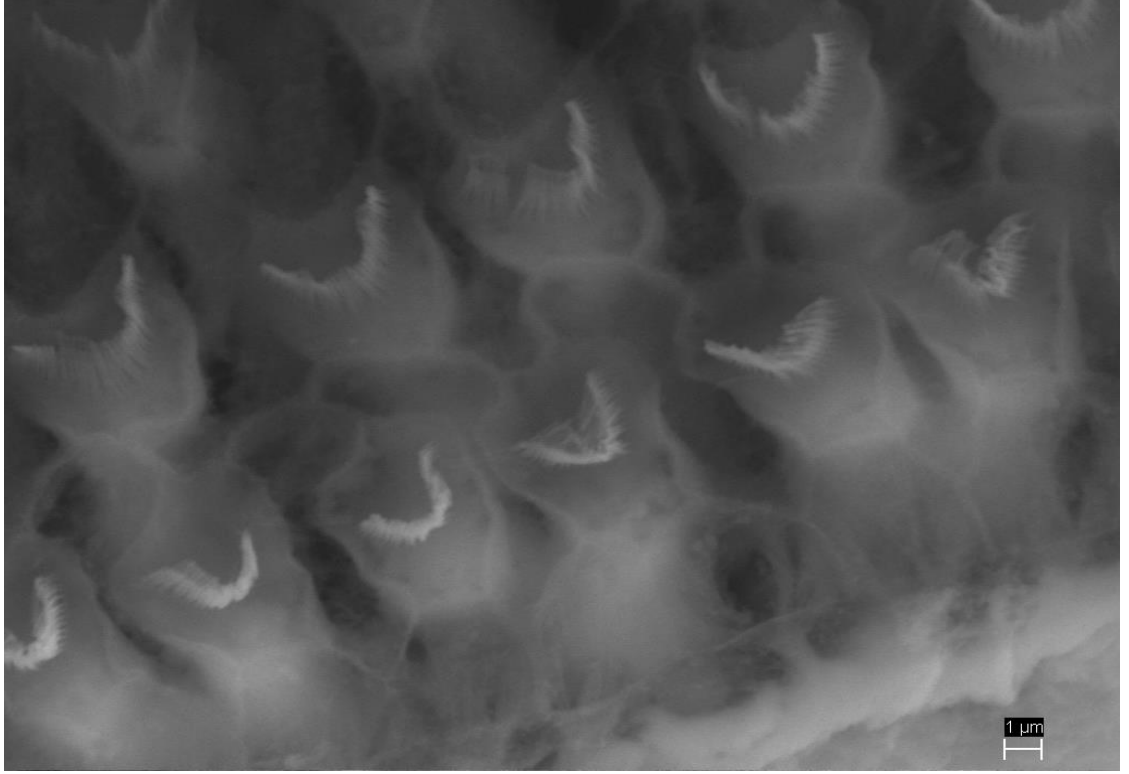
Grup 1 (Rifamisin grubu)' de Corti organı yüzeyi incelemesinde; 6 kokleada dış tüylü hücrelerinin sterosilyalarında düzensizlik ve parsiyal kayıplar mevcut idi. 2 kobay kokleasında ise kokleanın 1/3'ünde dış tüylü hücrelerinin sterosilyalarında düzensizlik mevcut idi (Şekil 14-16). 4 kobay kokleasında ise dejenerasyon tespit edilmedi. Böylece 4 koklea 3 puan, 4 koklea ise 2 puan ile (ortalama= 1,66) değerlendirildi. Grup 3 (Serum fizyolojik grubu) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Grup 2 (Gentamisin grubu) ile karşılaştırıldığında da hafif dereceli dejenerasyonlara rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $p<0.05$ ).



**Şekil 14. Grup 1 (Rifamisin grubu)'de örnek bir kobaya ait Corti organı yüzeyindeki dış tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlikler gözlenmektedir X3000.**

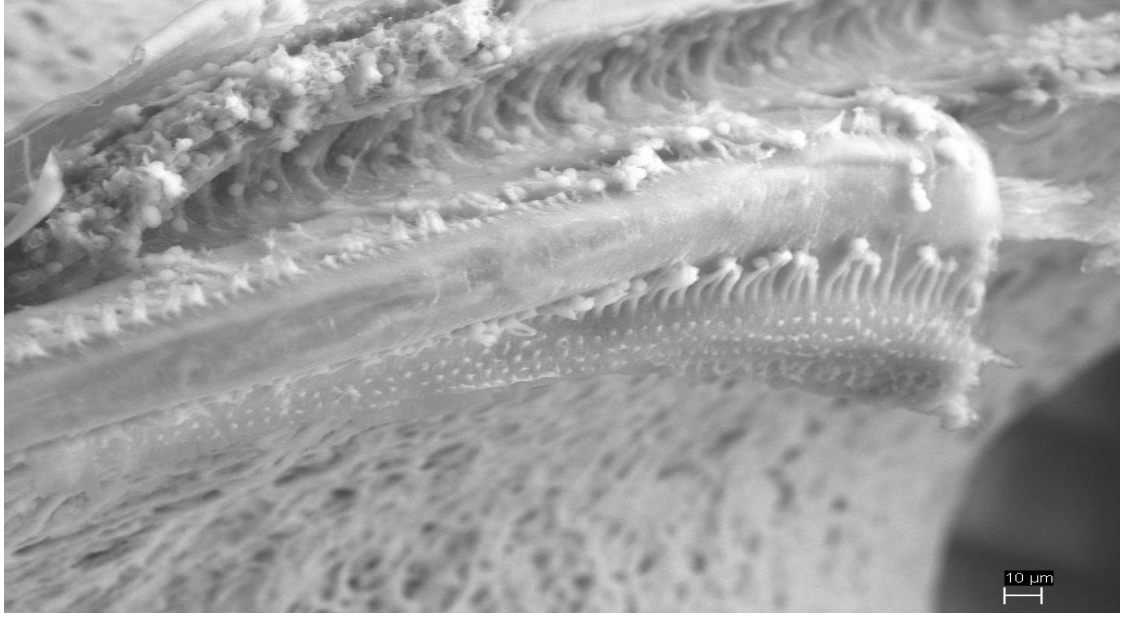


**Şekil 15. Grup 1'de örnek bir kobaya ait Corti organı yüzeyindeki dış tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlikler gözlenmektedir X5000.**

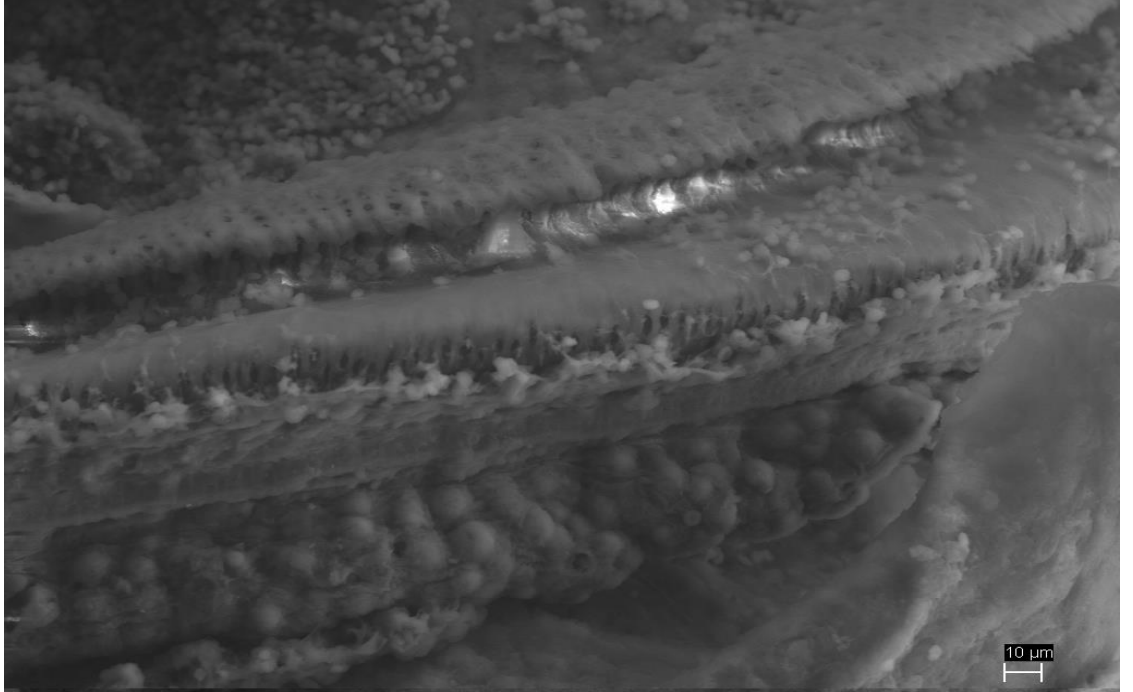


**Şekil 16. Grup 1’de dış tüylü hücre stereosilyaları X10000**

Grup 2 (Gentamisin grubu)’ de Corti organı yüzeyi incelemesinde; 4 kokleada kokleanın 2/3’ ünde dış tüylü hücrelerinin stereosilyalarında düzensizlik, yan yüzey bağlantılarında düzenli ayrılma tespit edildi. 4 kokleada ise stereosilyalarda parsiyel ve tam kayıplar mevcut idi (Şekil 17-18). Böylece 4 koklea 5, 2 koklea 6, 2 koklea ise 8 puan ile (ortalama= 6) değerlendirildi. Grup 3 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).



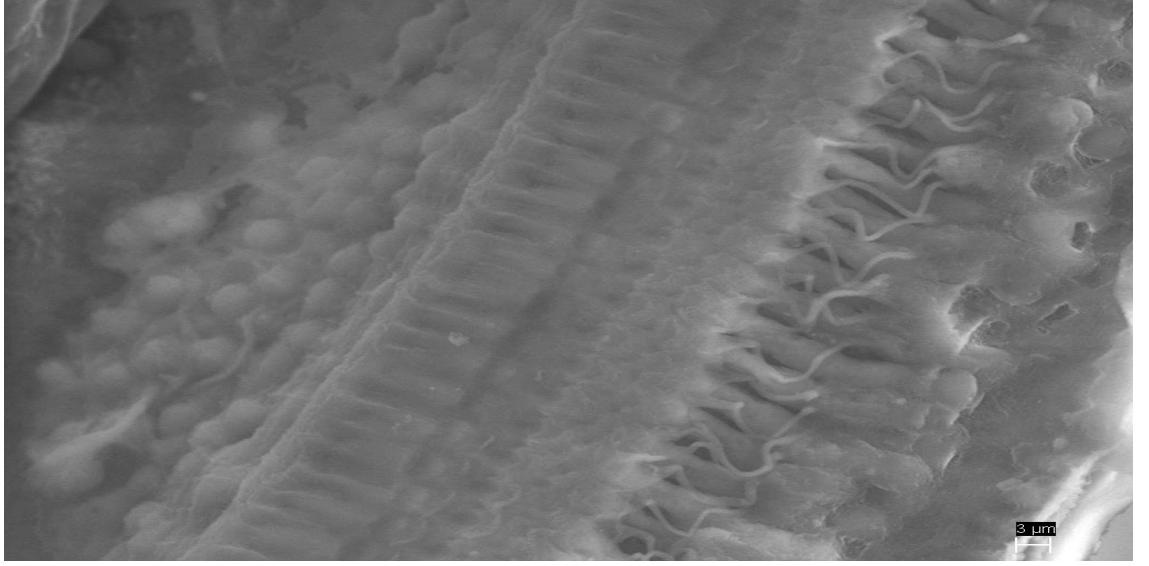
**Şekil 17. Grup 2 (Gentamisin)'de örnek bir kobaya ait Corti organı yüzeyindeki dış tüylü hücre stereosilyalarının yer yer tamamen kaybolduğu gözlenmektedir X1000.**



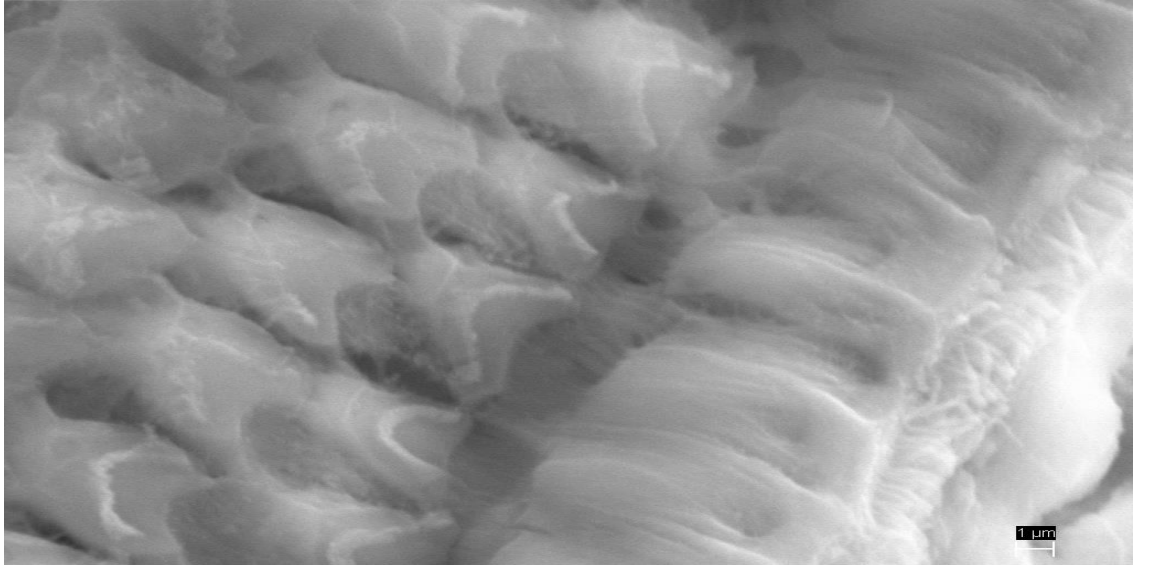
**Şekil 18. Grup 2'de örnek bir kobaya ait Corti organı yüzeyindeki dış tüylü hücre stereosilyalarında total kayıplar gözlenmektedir X1000.**

**Grup 3 (Serum fizyolojik grubu)**' de Corti organı yüzey anatomisi incelemesinde; 20 kokleada tüm koklea boyunca hücreler normal olarak değerlendirildi. 4 koklea dış tüylü hücre stereosilyalarında düzensizlik mevcut idi. Histolojik skorlama sonucunda; 16 koklea 0 puan

ve 4 koklea 1 puan (ortalama=0.2) ile değerlendirildi. Dış tüylü hücre sterosilya morfolojisi dizilimi değerlendirildiğinde dejenerasyon tespit edilmedi (Şekil 19-20).



**Şekil 19. Grup 3 (Kontrol grubu)'e ait bir kobayın Corti organı yüzeyinin normal iç, dış tüylü hücre sterosilya ve deiters hücrelerinin görüntüsü X3000**



**Şekil 20. Grup 3'e ait bir kobayın Corti organı yüzeyinin normal iç ve dış tüylü hücre sterosilya görüntüsü X10000**

Çalışmaya dahil edilen kobayların verileri Ek 3'te verilmiştir.

## TARTIŞMA

Ototoksisite, işitme ve dengeyi bozan önemli nedenlerden biri olmaya devam etmektedir. Ototoksik maddelere bağlı olarak meydana gelen başlıca yakınmalar; işitme kaybı, tinnitus, dengesizlik ve vertigodur. Biz çalışmamızda ototoksisitenin değerlendirilmesi açısından işitme kaybını ele aldık.

Rifamisin topikal olarak nonkolesteatomatöz otitis media ve eksternal otit tedavisinde kulak burun boğaz hekimleri tarafından reçete edilen bir antibiyotiktir. Birçok topikal ajanın potansiyel ototoksik etkileri araştırılmış olmasına rağmen literatürde topikal rifamisin uygulamasının olası ototoksik etkisi araştırılmamıştır. Kronik ve eksternal otit toplumda çok sık görülen hastalıklardan olup bu hastalıklarda topikal rifamisin kullanımı da yaygındır. Biz bundan dolayı topikal rifamisin uygulamasının olası ototoksik etkisini kobaylarda elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel düzeyde incelemeyi amaçladık.

Bu çalışmamızda elektrofizyolojik olarak ototoksisitenin monitorizasyonu için DPOAE ve ABR odyometri tekniklerini kullandık. Çalışmanın ultrastrüktürel kısmı ise scanning elektron mikroskopisi yardımıyla gerçekleştirildi.

Klinik kullanımda OAE ölçümleri invaziv olmaması, ağrısız olması, anestezi gerektirmemesi, hastanın genel durumundan bağımsız olup çocuk (özellikle yenidoğanlarda koklear fonksiyonları değerlendirilmede faydalı) ve mental retarde hastalara rahatlıkla uygulanabilmesi, objektif bir test olması, hassas bir ölçüm olması, sonucun kesin olması, test süresinin kısa olması ve geniş hasta gruplarının taranabilmesi gibi avantajları nedeniyle sık tercih edilmektedir (9,66-68).

Sağlıklı koklea, belli bir uyarı ile akustik enerji yayar. Bu akustik enerji objektif olarak dış kulak yolundan ölçülebilir. Koklear hasarın en sensitif göstergesi olan, kokleanın hassas

Otoakustik Emisyon yapıları dış tüylü hücrelerin durumu OAE ile monitorize edilebilir (69). OAE'lar kokleadan kaynaklanıp kemik zincir, kulak zarı ve dış kulak yolu tarafından iletilen vibratuvar enerjidir. OAE'lar koklear dalgaların güçlü doğal bir yan ürünü olması sebebiyle, kulak zarı hareketi ile birlikte tüm orta kulak kemikçik zincirin, oval pencere ve stapesin normal hareketini gösterir (70,71). Orta kulaktaki negatif ve pozitif basınç değişikliklerinde otoakustik emisyon amplitüt ve dalga tekrarlanabilirliği olan "reproduksibilit" oranlarında belirgin değişiklikler meydana gelir. Bu sebeple herhangi bir nedenle otoakustik emisyon ölçümü yapılırken orta kulağın durumu mutlaka değerlendirilmelidir (72). Biz de çalışmamızda OAE ölçümü yapmadan önce kobaylara otoskopik muayene yaptık. Akut otit ve/veya timpanik membran retraksiyonu tesbit edilen kobayları çalışmaya dahil etmedik.

Otoakustik emisyonların üretim yeri dış titreşim tüylü hücrelerdir. Ototoksik ilaçlar, hipoksi ve akustik travma ile dış titreşim tüylü hücrelerin tahribi otoakustik emisyonların üretimini engelleyecektir. Otoakustik emisyonların elde edilebilmeleri için sağlıklı bir orta kulak yapısı gereklidir. Sağlıklı bir orta kulak yapısında bile kokleadan yansıyan enerjinin yaklaşık 12 dB kayba uğradığı bilinmektedir (68). Çalışmamıza başlamadan önce yetişkin kobayların iç kulak fonksiyonlarını ve işitmelerini DPOAE cihazı kullanarak değerlendirdik, yaptığımız ölçümlerde emisyon değerleri normal olan sağlıklı kobayları çalışma grubumuza dahil ettik. Uyarılmış otoakustik emisyonlar ototoksik ilaçların etkisini hemen görmek için kullanılabilir (73). Eğer bir ilaç koklea hasarı yaparsa o frekanstaki etki OAE ile hemen yakalanabilir (frekans spesifiktir) (74).

Brown ve ark. (75) kobaylar üzerinde uzun süreli gentamisin uygulaması sonrası dış kulak kanalından akustik distorsiyonları ölçtüler. İlaç uygulanan ve fonksiyonel değişiklikler gösteren tüm hayvanlarda dış tüylü hücre morfolojisinde değişiklikler saptadılar. Daha da önemlisi distorsiyon değişikliklerini yüzey tüylü hücrelerinin morfolojisindeki değişiklikler görülmeden önce saptadılar. Böylece OAE ölçümünün, ototoksitenin erken aşamalarında corti organının hassas kısımlarındaki fonksiyonel bozulmaya eşlik eden altta yatan yapısal değişiklikleri ortaya çıkarmak için gerekli bir yöntem olduğunu ileri sürdüler.

Otoakustik emisyonların varlığı normal şekilde çalışabilen iç kulağın genel anatomik ve fizyolojik yapısını doğrular. Bu baziler membran, corti organı, stria vaskularis hareketine bağlı endolenfin ve dış tüylü hücrelerin sağlığını gerektirir. OAE'lar bu sistemler zarar gördüğünde baskılanır. Bununla birlikte OAE kullanılarak koklear disfonksiyon veya patolojilerin tipleri arasındaki farklılaşma belirlenemez (70,71).



Kokleadaki küçük fonksiyon defektleri DPOAE ile daha odyogramda belli olmadan önce yakalanabilir. Arnold ve ark. (76), azalmış koklear fonksiyonu tespit etmek için DPOAE yeteneğini test ettiler. DPOAE ve ultra yüksek frekans işitme arasındaki ilişkiyi araştırdılar. 4000–8000 Hz’de DPOAE seviyelerinin pure ton ortalaması (PTA) ile önemli ölçüde bağlantılı olduğunu, bununla birlikte 4000–8000 Hz için olan pure ton ortalamalarının DPOAE seviyelerindeki değişikliklerin yaklaşık %14’ünü açıkladığını ortaya çıkardılar. Sonuç olarak ultra yüksek frekans işitmenin DPOAE’ları etkilediğini ve bu bölgede pure ton eşikleri ile henüz tespit edilmemiş olan dış tüylü hücrelerdeki küçük değişikliklere emisyonların daha hassas olduğunu bildirdiler.

Kim ve ark. (77), bir kulağın test frekansındaki DPOAE seviyesini pure ton duyma eşğine karşı değerlendirdiler. Testin duyarlılığını, özgünlüğünü ve tahmini yeterliliğini 4000 ve 6000 Hz’de %85–89, 2000 Hz’de %82–83 ve 1000 Hz’de %78–79 olarak buldular. Koklear fonksiyonların değerlendirmesinde DPOAE’nin yararlı frekans özelliği olan objektif bir test olabileceğini bildirdiler. OAE’ların bu özelliklerini göz önünde bulundurarak, biz de çalışmamızda rifamisin iç kulak ve işitme üzerine etkilerini araştırırken DPOAE’dan yararlandık.

Yağız ve ark. (78) yaptıkları bir çalışmada ginea pig orta kulağına povidon-iyot uygulamışlar ve bu ilacın olası ototoksik etkisini TEOAE ile araştırmışlar, çalışmanın sonucunda ilacın ototoksik olabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Hotz ve ark. (79) da yaptıkları bir çalışmada amikasin sülfat tedavisi alan hastalarda TEOAE ile ototoksisiteyi araştırmışlar ve TEOAE’nin ototoksisitenin erken tanınması ve işitmenin korunması için etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Wit ve Ritsma deney hayvanlarında kokleanın kısa olması nedeniyle emisyon latansının çok kısa olacağını ve emisyonların alınamayacağını iddia etmişler (80). Buna karşılık yapılan diğer çalışmalarda deney hayvanlarında TEOAE (transient evoked otoakustik emisyon) başarıyla alınabilmektedir. DPOAE için ise bu tartışma söz konusu değildir. Küçük deney hayvanlarında bile rahatlıkla alınabilmektedir (81). Ancak kobaylarda otoakustik emisyon ölçümü yaparken karşılaşılan en önemli sorun kobayların dış kulak yolunun çok dar olması ve bu nedenle probun yerleştirilmesinde zorlukla karşılaşılmıştır. Biz de çalışmamızda probu dış kulak yoluna sıkıca oturtabilmek için, cihazın probunun ucuna, en küçük boyda timpanometri probu yerleştirdik ve herhangi bir artefakt olmadan rahatlıkla emisyon alabildik.

Yapılan çalışmalarda insanlarda ve hayvanlarda otoakustik emisyon ölçümlerinin anatomik ve fizyolojik farklara bağlı olarak çeşitlilik gösterebileceği saptanmıştır. Örneğin kobay, tavşan, fare, sıçan gibi hayvanlarda en iyi işitilen frekans insanlardakinden daha yüksektir. İnsan deneyleriyle hayvan modelleri arasındaki diğer bir önemli fark, hayvanlarda ölçüm sırasında anestezi verilmesi zorunluluğudur. Bu durum östaki borusunun çalışmasını engellemekte ve orta kulakta negatif basınç oluşturmaktadır. Negatif basınç altında yapılan ölçümlerin koklea sağlam bile olsa sonuç vermeyebileceği çalışmalarda kanıtlanmıştır. Bu durum guinea piglerde sorun oluşturmakla birlikte tavşan, fare ve sıçanlarda problem teşkil etmez. Ayrıca fare gibi anestezi sırasında vücut ısısı düşen küçük hayvanlarda emisyon alımının azaldığı gösterilmiştir (82). Sonuç olarak otoakustik emisyon ölçümünün deneysel hayvan modellerinde kullanılmasının belirli koşulların (deneklerin 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda tutulması, ortam sıcaklığının 21 santigrat derecede olması, arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'in altında olması) yerine getirilmesiyle uygun olduğu belirtilmektedir (83). Çalışmamızda bu koşullar sağlanmıştır.

İyi bir sedasyon ve probun sağlam yerleştirilmesiyle aynı uyarın verilerek oluşturulan distorsiyon farklı zamanlarda yapılan kayıtlarda  $\pm 5$  dB'lik bir fark yaratabilir (75). Farklı zamanda yapılan iki farklı ölçümde DPOAE ve gürültü eşiği değişecektir. S/N oranı DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilirdir. Biz de çalışmamızda bu oranı esas aldık (75,84).

Çalışmamızda 3 grup oluşturduk. İlaç uygulanması öncesinde her grubun DPOAE ve ABR ölçümleri yapıldı. Ölçümlerde işitme seviyeleri normal bulunan kobaylar çalışmaya alındı. Tüm gruplarda intratimpanik enjeksiyonlar 1 gün ara ile 5 defa şeklinde uygulandı. Grup 1'de 12 kulağa rifamisin 0,1ml , grup 2'de 8 kulağa gentamisin 0,1ml, grup 3'te ise 20 kulağa serum fizyolojik (%0.9 NaCl) 0,1ml uygulandı. Son ilaç uygulanmasından 5 gün sonra DPOAE ve ABR ölçümleri tekrarlandı. Ölçümlerin hemen sonrasında scanning elektron mikroskopisinde incelenmek üzere dekapitasyon yapıldı.

Bizim çalışmamızda rifamisin, gentamisin ve serum fizyolojik uygulanıp sonrasında yapılan DPOAE ölçümlerinde S/N oranlarında en fazla düşüş gentamisin kullanılan grupta olup istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). Çalışma grubumuz olan rifamisin uygulanan grupta (Grup 1) ise S/N oranlarında düşüş gentamisin uygulanan gruba (Grup 2) oranla daha az olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). Serum fizyolojik uygulanan grup 3'te ise anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Rifamisin, gentamisin ve serum fizyolojik uygulanan gruplar arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ).

Ototoksisite moniterizasyonu için odyometrinin kullanımında en önemli tartışma konusu belirgin değişiklik kriterinin seçimi noktasındadır. Campbell ve Durant (85) literatürde ototoksisite üzerine yapılan ilk çalışmalarda, bir veya daha fazla frekansta 15 dB'i aşan ya da tek frekansta 20 dB'i aşan eşik değişikliklerinin belirgin değişiklik göstergesi kabul edildiğini ancak daha sonraki çalışmalarda bu kriterlerin ototoksik ilaç almayan kişilerde bile aşılabildiğini ileri sürmüşlerdir.

Meyerhoff ve ark. (86) tobramisin sülfat veya vankomisin kullanılan 44 olguluk çalışmalarında, ototoksisite için bir frekansta en az 15 dB'lik eşik değişikliğini esas aldıklarında, elde ettikleri sonuçlara göre ototoksisite açısından tek frekansta 15 dB'lik değişiklik kriterinin güvenilir olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca, test edilen frekanslarda ortalama 5 dB'lik eşik değişikliklerini hem artış hem de azalma yönünde tespit etmişlerdir.

Aminoglikozid antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan antimikrobiale ajanlardan biridir. Ucuz ve geniş antimikrobiyal spektruma sahip ajanlar olmaları tercih edilmelerinin nedeni iken, ototoksik etkileri ilk aminoglikozid antibiyotik olan streptomisin keşfinden bu yana bilinmektedir. Bu grupta yer alan ilaçlar değişik oranlarda da olsa ototoksik etkiye sahiptir. Aminoglikozidlerin ortalama ototoksisite oranının %5-10 arasında olduğu bildirilmektedir (87). Nefrotoksik etki genellikle geri dönüşümlü olup, ototoksik etki (vestibüler ve koklear) irreversibldir. Streptomisin, dihidrostreptomisin ve gentamisin primer olarak vestibulotoksik iken, amikasin, kanamisin ve neomisin primer olarak kokleotoksiktir.

Kokleotoksik etki klinik olarak öncelikle tinnitus ve yüksek frekansları tutan sensörinöral işitme kaybı ile kendini gösterir. Bu durum koklea bazalindeki dış tüylü hücrelerin hasarıyla oluşmaktadır (88). Erken toksisite birçok hasta tarafından belirtilmeyebilir. Zamanla dış tüylü hücrelerin apikal bölgeye doğru hasarının devam etmesi ve iç tüylü hücrelerin tutulması ile konuşma frekanslarını tutan sensörinöral işitme kaybı gelişir.

Aminoglikozidlere bağlı oluşan ototoksisitenin iç kulakta oluşturduğu hasarın yeri ve buna bağlı oluşan klinik ve patolojik değişiklikler hakkında yeterli bilgimiz olsa da henüz ototoksisitenin moleküler mekanizması üzerinde ortak kabul gören bir görüş bulunmamaktadır.

Aminoglikozidlere bağlı ototoksisite nedenlerinden birinin serbest oksijen radikalleri olduğu düşünülmektedir. Aminoglikozidlerin hücre içinde serbest oksijen radikallerinin oluşturması demir iyonu ve elektron vericisi olarak poliansature yağ molekülü gerektirir. Gentamisin ve demir birlikte bir membran lipidi olan fosfatidil inozitole bağlanarak serbest

radikal oluşumuna yol açarlar (89). Serbest radikaller bilindiği üzere inflamasyonda, reperfüzyon hasarında ve yaşlanmada hücre hasarından sorumlu moleküllerdir.

Literatürde aminoglikozid antibiyotiklerin major yan etkilerinden olan ototoksisitenin her iki kulakta simetrik ya da asimetric olduğuna dair tatmin edici nitelikte çalışma bulunmamaktadır. Innitzer ve ark.'nın (90) yaptığı bir çalışmada ciddi üriner sistem veya bronkopulmoner enfeksiyon nedeni ile gentamisin tedavisi alan 36 çocuğa, tedaviden ortalama 3 yıl sonra odyolojik değerlendirme yapılmış ve sadece bir çocukta yüksek frekansları tutan simetrik işitme kaybı saptanmıştır. Matz (87); gentamisin, netilmisin, tobramisin ve amikasin kullanan kişilerde aminoglikozid ototoksisitesi üzerinde yaptığı prospektif ve randomize çalışmada, bilateral kaybın yanında unilateral koklear ve vestibüler ototoksisitenin her ilaç grubunda görüldüğünü belirtmiştir.

Sisplatinin neden olduğu ototoksisite genellikle tinnitusun eşlik ettiği 4000-8000 Hz frekanslarda başlayıp konuşma frekanslarına ilerleyici, bilateral, geri dönüşümsüz karakterde sensörinöral tiptedir. Yapılan bazı çalışmalarda sisplatin kullanan hasta gruplarında % 80'lere varan işitme eşiğinde azalmalar tespit edilmiştir. Araştırmalar, ototoksik etkinin genellikle sisplatin kullanımının 2. veya 3. günü ortaya çıkıp 7. güne kadar artarak devam ettiğini göstermektedir. Ayrıca literatürde birçok çalışmada kümülatif sisplatin dozu arttıkça ototoksik etkinin belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. Ancak literatürde deneysel hayvan modeli çalışmalarında kullanılan sisplatin dozu ve uygulama süresi belirgin farklılık göstermektedir. Nakai ve ark. (91) albino guinea piglerde yaptıkları çalışmada; günlük intramuskuler 2 mg/kg sisplatin, 5 gün boyunca uygulamış ilaç uygulamasından 72 saat sonra yapılan ABR ölçümlerinde işitme eşiği değerlerinde azalma saptamış ve histopatolojik incelemelerde de belirgin dış tüylü hücre kaybı tespit etmişlerdir.

İlaç uygulaması öncesi ve sonrası yaptığımız ABR ölçümlerinde eşik değer yükselmesini en fazla gentamisin kullandığımız grup 2'te saptadık, istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Rifamisin kullandığımız grup 1'de de benzer biçimde ABR eşik değer yükselmesi anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Serum fizyolojik kullandığımız grup 3'te ise anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Rifamisin, gentamisin ve serum fizyolojik uygulanan gruplar arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ).

Cardinaal ve ark. (92) albino kobaylarda yaptıkları bir çalışmada; 8 gün boyunca kobaylara 0.7, 1.0, 1.25, 1.5 ve 2.0 mg/kg/gün dozlarında sisplatin uygulamışlar ve uygulama sonrası 48. saatte elektrokokleografi testi yapmış ardından kokleaları histopatolojik olarak incelemişler ve 0.7, 1.0, 1.25 mg/kg/gün sisplatin dozlarında dış tüylü hücre kaybı

gözlenmezken, 1.5 ve 2.0 mg/kg/gün sisplatin dozlarında sırasıyla %60 ve %65 oranında dış tüylü hücre kaybı saptamışlar.

De Lauretis ve ark. (93) yaptıkları bir çalışmada sisplatin ototoksitesinin erken tespiti için ABR'nin tespit değerinin anlamlı ölçüde başarılı olduğunu klinik odyolojik verilerle göstermişlerdir.

Fetoni ve ark.'nın (94) wistar ratlarda yaptıkları bir araştırmada sisplatin uygulanan hayvanlara eş zamanlı tiopronin (N-(2-mercaptopropionyl)-glycine) verilmiş, etkinliği hem DPOAE ile hem de elektronmikroskopik inceleme ile değerlendirilmiştir. Ototoksite geliştirilen deney grubunda DPOAE' da S/N oranlarında ciddi düşüşler izlenmesine rağmen sisplatin ile birlikte tiopronin alan deney hayvanı grubunda S/N oranında belirgin bir düşüş gözlenmemiştir. Ayrıca yalnızca sisplatin alan grupta yapılan elektromikroskopik incelemede kokleanın bazal ve orta kesiminde (bazalde daha yoğun) belirgin dış tüy hücresi kaybı görülmüştür. Bununla beraber sisplatinle birlikte tiopronin alan grupta kokleada daha az dış tüylü hücre hasarı saptanmıştır. Bu gibi çalışmalar sisplatin ototoksitesinde özellikle dış tüylü hücre hasarı oluştuğunu göstermektedirler ve bu hasarı odyolojik olarak DPOAE ve ABR ile net olarak değerlendirmek mümkün olmuştur.

Biz de çalışmamızda ilaçların dış tüylü hücre hasarı ve kokleotoksik etkilerini ultrastrüktürel olarak değerlendirebilmek amacıyla scanning elektromikroskopisini kullandık. Kokleadaki tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu en fazla grup 2'de gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Bu hasar ve dejenerasyon grup 1'de grup 2'ye göre daha az olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlıydı. ( $p<0.05$ ). Serum fizyolojik uyguladığımız grup 3'te ise anlamlı hasar ve dejenerasyon gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Rifamisin, gentamisin ve serum fizyolojik uygulanan gruplar arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ).

Rifamisin topikal olarak kronik otitis media ve eksternal otit tedavisinde kullanılan bir ajandır. Bu çalışmada DPOAE ve ABR ölçümleri, scanning elektron mikroskopi bulguları gösterdi ki kobaylarda rifamisin orta kulağa direkt uygulanımı iç kulak yapısını bozuyor ve işitmeyi azaltıyor. Yaptığımız bu çalışmayla topikal rifamisin uygulanan ototoksik olduğu ve klinik kullanımda bunun göz önünde bulundurulması gerektiği, kronik otitis media ve eksternal otit (timpanik membran perforasyonu olan ya da ventilasyon tüpü olan hastalarda) tedavilerinde ototoksik olmayan ajanların tercih edilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

## SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda tasarlanıp uygulanan, Guinea piglerde topikal rifamisin uygulananın olası ototoksik etkisinin elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel olarak araştırılması başlıklı tez çalışmamızda elektrofizyolojik test sonuçları ve ultrastrüktürel incelemeleri değerlendirdiğimizde şu sonuçlara varılmıştır:

1. Rifamisinin guinea piglerin DPOAE'da ölçülen tüm frekanslarında S/N oranlarını azalttığı saptanmıştır.
2. DPOAE'da azalma gentamisin uygulanan guinea piglerde en fazla olarak saptanmıştır. Serum fizyolojik uygulanan grupta ise anlamlı farklılık bulunmamıştır.
3. Rifamisinin guinea piglerin ABR eşik değerlerini anlamlı şekilde yükselttiği saptanmıştır.
4. ABR eşik değerlerinde yükselme gentamisin uygulanan grupta rifamisin uygulanan gruptan daha fazla olarak saptanmıştır. Serum fizyolojik uygulanan guinea piglerde anlamlı değişiklik gözlenmemiştir.
5. Ultrastrüktürel incelemelerde rifamisin uygulanan guinea piglerde kokleada tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu saptanmış ancak bu azalma gentamisin uygulanan guinea piglerde daha fazla miktarda gerçekleşmiştir. Serum fizyolojik uygulanan guinea piglerde ise anlamlı değişiklik olmamıştır.

6. Bu çalışma; rifamisinin topikal uygulananında oluşabilecek ototoksik etkiler olduğunu göstermektedir ve gentamisin kullanımında olduğu gibi rifamisin kullanımının da bu etkilere sahip olduğunu gösterir niteliktedir.

## ÖZET

Guinea piglerde topikal rifamisin uygulananın olası ototoksik etkisinin elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel olarak araştırılması amacıyla yapılan çalışmamızda; rifamisinin etkileri elektrofizyolojik testler ve ultrastrüktürel incelemeler ile değerlendirilmiştir. Normal işitme eşiği ve emisyon varlığı saptanan 20 adet erişkin guinea pigin 40 kulağı randomize olarak 3 grupta çalışılmıştır. Grup 1 rifamisin, grup 2 gentamisin ve grup 3 serum fizyolojik uygulanan gruplardır. Enjeksiyonlar intratimpanik olarak 1'er gün arayla 5 kez uygulanmıştır. Enjeksiyon öncesi ve sonrasında işitsel beyin sapı yanıtları ve "Distortion Product Otoacoustic Emission" ölçümleri yapılmış, verilerin grup içi ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaları yapılmıştır. Ultrastrüktürel incelemeler için tüm guinea piglerin temporal kemikleri hazırlanmış, kokleadaki tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Tüm gruplar arası kıyaslamada ilaç uygulaması öncesi ve sonrası "Distortion Product Otoacoustic Emission" da sinyal/gürültü oran farkları ve beyin sapı yanıtları eşik değer farkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.05$ ).

Dış tüylü hücre hasarı ve kokleotoksik etkileri ultrastrüktürel olarak değerlendirebilmek amacıyla scanning elektron mikroskopisi kullanılmıştır. Kokleadaki tüylü hücre hasarı ve koklea dejenerasyonu en fazla grup 2'de olmak üzere grup 1 ve 2'de gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Grup 3'te ise anlamlı hasar ve dejenerasyon gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). Gruplar arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Bu çalışma topikal rifamisin kullanımına bağlı ototoksosite geliştiğini saptamış ve topikal kullanımında buna dikkat edilmesi gerektiğini destekler nitelikte bulunmuştur.



**Anahtar kelimeler:** Rifamisin; gentamisin; guinea pig; işitme kaybı; otoakustik emisyonlar, spontan; işitsel beyin sapı yanıtları

# **ELECTROPHYSIOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDY FOR POTENTIAL OTOTOXIC EFFECT OF TOPICAL RIFAMYCIN APPLICATION ON GUINEA PIGS**

## **SUMMARY**

In this study, which was carried out for the purpose of electrophysiological and ultrastructural research of the ototoxic impact of topical rifamycin application on guinea pigs, the effects of rifamycin were evaluated through electrophysiological tests and ultrastructural examinations. A total of 40 ears from 20 adult guinea pigs, of which the normal hearing threshold and emission presences were identified, were studied in 3 groups. Group 1 was subjected to rifamycin while group 2 was subjected to gentamicin and group 3 solely received normal saline. The injections were intratympanically applied 5 times with intervals of one day. Brain stem responses and Distortion Product Otoacoustic Emissions were measured both before and after the injections. This was followed by intragroup and intergroup statistical comparisons of the acquired data. The temporal bones of all guinea pigs were prepared for ultrastructural examinations and the hairy cell damage and degeneration of the cochlea were statistically compared.

All intergroup comparisons revealed a significant difference ( $p < 0.05$ ) in signal/noise ratios in Distortion Product Otoacoustic Emission and brain stem response threshold values both before and after drug application.

Scanning electron microscopy was used to ultrastructurally evaluate outer hairy cell damage and cochleotoxic effects. Hairy cell damage and degeneration in cochlea were

observed in both group 1 and group 2 and found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ) in both groups, with these effects being encountered the most in group 2. No significant damage or degeneration was observed in Group 3 ( $p > 0.05$ ). The difference between the groups was also statistically significant ( $p < 0.05$ ).

This study determined that topical usage of rifamycin leads to development of ototoxicity and supports the argument that care should be taken in topical application of this drug.

**Key words:** Rifamycin; gentamicin; guinea pig; hearing loss; otoacoustic emissions, spontaneous; auditory brain stem responses

## KAYNAKLAR

1. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ankara: Feryal Matbaacılık, Pelikan Tıp ve Teknik kitapçılık, 2009:225.
2. Sisti F, Vaccaro L. Local application of rifamycin SV in caverns treated by endocavitary aspiration. Arch Tisiol Mal Appar Respir 1963;18:251-6.
3. Köşüş A, Köşüş N, Güler A, Çapar M. Rifamycin SV application to subcutaneous tissue for prevention of post-cesarean surgical site infection. Eur J Gen Med 2010;7(3):269-76.
4. Cardor E, Tillie-Leblond I. and Jeannin P. Anaphylactic reaction to local administration of rifamycin SV. J Allergy Clin Immunol 1995;95(1):1-7.
5. Laxenaire MC, Mouton C, Frederic A, Viry-Babel F, Bouchon Y. Anaphylactic shock after tourniquet removal in orthopedic surgery. Ann Fr Anesth Reanim 1996;15(2):179-84.
6. Iselin F, Audren JL, Gounet O. Comparative study of the effects of a local antibiotic and a local antiseptic in emergency hand surgery. Ann Chir Main Memb Super 1990;9(1):65-71.
7. Saydam İM, Yılmaz S, Seven E. Topikal Olarak Uygulanan Nitrofurazon ve Rifamisin'in Tam Kalınlıkta Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri. C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 2005;27(3):113-20.
8. Sivolella S, Berengo M, Scarin M, Mella F, Martinelli F. Autogenous particulate bone collected with a piezo-electric surgical device and bone trap: a microbiological and histomorphometric study. Arch Oral Biol 2006;51(10):883-91.
9. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi, cilt-1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998:1-197.

10. Karasalihoğlu AR. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi 3. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003:3-14.
11. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ears. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (Eds). Otolaryngology Head and Neck Vol.1, 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1991.23-58.
12. Ömür M, Dadaş B. Klinik baş ve boyun anatomisi. Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996:181-213.
13. Wright A. Anatomy and ultrastructure of the human ear. In: Keer AG, Gleeson M (Eds). Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1, 16th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish;1997; ch 1,1-50.
14. Lee KJ. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. 8th ed. Newyork: Medical Publish Co;2003:1-24.
15. Cruz OLM. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In: Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT et al (Eds). Otolaryngol Head& Neck Surg Vol.4, 4th ed. Baltimore: Elsevier Mosby; 2005.2801-31.
16. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi; 1983.759-88.
17. Austin DF. Kulağın anatomisi (çeviri: G. Hafız). şenocak D (Editör). Ballenger Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi'nde, cilt 2, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000.838-57.
18. Toth M, Alpar A, Patonay L, Olah I. Development and surgical anatomy of the round window niche. Ann Anat 2006;188(2):93-101.
19. Cureoglu S, Schachern PA, Rinaldo A, Tsuprun V, Ferlito A, Paparella MM. Round window membrane and labyrinthine pathological changes: an overview. Acta Otolaryngology 2005;125(1):9-15.
20. Santi PA, Mancini P. Koklear anatomi ve santral işitme yolları (çeviri: F. Karayel). Koç C (Editör). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi'nde, cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007.3373-97.
21. Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. Anatomi. Ankara: Güneş Kitapevi; 1997.466-90.
22. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. Brain Res Bull 2003;60(5-6):397-422.
23. Friedman RA. Anatomi ve fizyoloji (çeviri: Ç. Kaleli). Kaleli Ç (Editör). Otolaringoloji temel bilgiler. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2003.3-12.

24. Mills JH, Khariwala SS, Weber PC. Anatomy and physiology of hearing. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD (Eds). *Otolaryngology Head&Neck Surgery Vol.2*, 4th ed. Texas: Lippincott Williams&Wilkins; 2006.1883-903
25. Goksu N, Hazirolu R, Kemalolu Y, Karademir N, Bayramolu I, Akyildiz N. Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992;101(8):699-704.
26. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. *Hear Res* 2005;199(1-2):103-10.
27. Sehitolu MA, Uneri C, Celikoyar MM, Uneri A. Surgical anatomy of the guinea pig middle ear. *Ear Nose Throat J* 1990;69(2):91-7.
28. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, Luebke AE. Physiology of the auditory and vestibular systems. In: Ballenger JJ, Snow JB (Eds). *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. 15th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 1996.879-929.
29. Pickles JO. Physiology of hearing. In: Kerr AG, Gleeson M (Eds). *Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1*, 6th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish Ltd; 1997; ch2,1-34.
30. Abbas PJ, Miller CA. Physiology of the auditory system. In: Cummings CW, Fredrickson LM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (Eds). *Otolaryngology Head&Neck Surgery vol.4*, 3th ed. St. Louis Missouri: Mosby Year Book Inc; 1998.2831-74.
31. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 1978;64(5):1386-91.
32. Hall JW, Baer JE, Chase PA, Schwaber MK. Clinical application of otoacoustic emissions: What do we know about factors influencing measurement and analysis? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;110(1):22-38.
33. Johnson KC. Audiologic assessment of children with suspected hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 2002;35(4):711-32.
34. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1993;14(1):11-22.
35. Plinkert PK, Bootz F, Vossieck T. Influence of static middle ear pressure on transiently evoked otoacoustic emissions and distortion products. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):95-9.
36. Nozza RJ, Sabo DL, Mandel EM. A role for otoacoustic emissions in screening for hearing impairment and middle ear disorders in school-age children. *Ear Hear* 1997;18(3):227-39.

37. Kemp DT. Exploring cochlear status with otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002.1-47.
38. Bright KE. Spontaneous otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002.74-94.
39. Lonsbury-Martin BL. Introduction to otoacoustic emissions. *Am J Otol* 1994;15(1):1-3.
40. Ueda H, Hattori T, Sawaki M, Niwa H, Yanagita N. The effect of furosemide on evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear Res* 1992;62(2):199-205.
41. Karasalihođlu A, Adalı MK, Karasalihođlu S, Koteń M, Acunař B, Uzun C ve ark. Normal ve Riskli Yenidođanlarda Transient Evoked Otoakustik Emisyon (TEOAE) ile İşitme Taraması. *Cerrahpařa Tıp Fak. XIX. Akademik hafta pediatrik otolarenoloji sempozyumu kongre kitabı* 48-53 İstanbul, 1996.
42. Salata JA, Jacobsen JT, Strasnick B. Distortion-product otoacoustic emissions hearing screening in high risk newborn. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;118(1):37-43.
43. Glatke TJ, Robinette MS. Transient evoked otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002.95-115.
44. Harris FP, Probst R. Otoacoustic emissions and audiometric outcomes. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002.213-42.
45. Ross UH, Rogowski M, Reiss G, Gloddek B. Detection of cochlear dysfunction by the measurement of transiently evoked otoacoustic emissions in Guinea pigs with autoimmune-induced labyrinthitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):80-3.
46. Moulin A, Collet L, Veuillet E, Morgon A. Interrelations between transiently evoked otoacoustic emissions, spontaneous otoacoustic emissions and acoustic distortion products in normally hearing subjects. *Hear Res* 1993;65(1-2):216-33.
47. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, McCoy MJ, Whitehead ML. New approaches to the evaluation of the auditory system and a current analysis of otoacoustic emissions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;112(1):50-63.
48. Özdamar Ö. İşitsel uyarılma potansiyellerinin tarihçesi. Muş N, Özdamar Ö (Editörler). *İşitsel Beyin Sapı Cevapları 'Temel Bilgiler ve Klinik Uygulamaları'nda*, Ankara; 1996.31-3,35-55.
49. Sphelman R, Stoneham MA. Evoked potential primer. 2nd ed. London: Butterworth-Heinemann publish; 1985.194-232.

50. Northern JL, Roush J. Differential audiometry in otologic diagnosis. In: English Otolaryngology. Vol 1. PA, JB, Lipincott company 1998.1-28.
51. Saydam L, Özlüoğlu L, Gürsel B. Serebellopontin köşe tümörlerinin tanısında beyin sapı odyometrisinin kullanımı. Türk Otolaringoloji Arşivi 1994;32(2):69-73.
52. Muş N, Yenişehir S, Özkaptan Y. Retrokoklear ABR anormalliklerinin nörofizyolojik temeli. Kulak Burun Boğaz İhtis Derg 1991;1:65-70.
53. Esmer N, Akıner MN, Karasalihoğlu AR, Saatçi MR. Klinik Odyoloji, Ankara: Bilim Yayınları; 1995.91-100.
54. Riggs LC, Matz GJ, Rybak RP. Ototoxicity. In: Bailey BJ, Calhoun KH (eds). Head and Neck Surgery-Otolaryngology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. 2165-70.
55. Scott PMJ, Griffiths MV. A clinical review of ototoxicity. Clin Otolaryngology 1994;19(1):3-8
56. Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. Otolaryngologic Clin N Am 1993;26(5):857-71.
57. Wackym PA, Storper IS, Newman AN. Cochlear and vestibular ototoxicity. In: Canalis RF, Lambert PR (eds). The Ear Comprehensive Otolaryngology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000.571-85.
58. Roland JT, Cohen NL. Vestibular and auditory ototoxicity. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (eds). Otolaryngology Head and Neck Surgery, 2nd ed. St.Louis: Mosby-Year Book, Inc; 1998.3186-97.
59. Norden CW, Keleti E. Treatment of experimental staphylococcal osteomyelitis with rifampin and trimethoprim, alone and in combination. Antimicrob Agents Chemother 1980;17(4):591-4.
60. Roth B. Penetration of parenterally administered rifampicin into bone tissue. Chemotherapy 1984;30(6),358-65.
61. Kathleen CM, Campbell KCM, Durrant J. Audiologic monitoring for ototoxicity. 1983;26(5):5.
62. Hall JW, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. Ear Hear 1993;14(1):11-22.
63. Glueckert R, Pfaller K, Kinnefors A, Andersen HR, Fischer AS. Ultrastructure of the normal human organ of Corti. New anatomical findings in surgical specimens. Acta Oto-Laryngologica 2005;125(5):534-9.



64. Glueckert R, Pfaller K, Kinnefors A, Fischer AS, Rask-Andersen H. High resolution scanning electron microscopy of the human organ of Corti. A study using freshly fixed surgical specimens. *Hearing Research* 2005;199(1-2):40-56.
65. Poyrazoğlu E, Gungör A, Uğur G, Okar İ, Candan H. Ototopikal Siprofloksasinin Koklear Etkilerinin Taramalı Elektron Mikroskopisi İle Gösterilmesi. *KBB ve Bağ Boyun Cerrahisi*'nde. 1997;5(2):116-21.
66. Apaydın F, Ege Y, Günhan Ö, Bilgen V. Otoakustik emisyonlarda ilk uygulamalarımız. *Türk Otolaringoloji Arđivi* 1995;33(4):267-72.
67. Fabiani M. Evoked Otoacoustic Emissions in the study of adult sensorineural hearing loss. *Br J Audiol* 1993;27(2):131-7.
68. Lonsbory-Martin BL, Martin G. A review of otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 1991;89(5):2027-67.
69. Kızılay A, Özturan O, Erdem T, Kalcıoğlu MT, Miman MC. Effects of chronic exposure of electromagnetic fields from mobile phones on hearing in rats. *Auris Nasus Larynx* 2003;30(3):239-45.
70. Brenda L, Lonsbury-Martin, Martin GK, Luebke AE. İğitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. (Çeviri: İnallı S). Şenocak D (editör). *Ballenger Otolaringoloji Bağ Boyun Cerrahisi*'nde, cilt 2, 15. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996.879-929.
71. Rahko T, Kumpulainen P, Ihalainen H, Ojala E, Aumala O. A new analysis method for the evaluation of transiently evoked otoacoustic emissions. *Acta Otolaryngol* 1997;529:66-8.
72. Owens JJ, McCoy MJ, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Otoacoustic emissions in children with normal ears, middle ear dysfunction, and ventilating tubes. *Am J Otol* 1993;14(1):34-40.
73. Özturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR. Monitoring of cisplatin ototoxicity by distortion product otoacoustic emissions. *Auris Nasus Larynx* 1996;23:147-51.
74. Lafreniere D, Smurzynski J, Jung MS, Leonard G, Kim DO. Otoacoustic emissions in full-term newborns at risk for hearing loss. *Laryngoscope* 1993;103(12):1334-41.
75. Brown AM, McDowell B, Forge A, Acoustic distortion products can be used to monitor the effects of chronic gentamicin treatment. *Hear Res* 1989;42(2-3):143-56.
76. Arnold DJ, Losbury-Martin B, Martin GK. High-frequency hearing influences lower-frequency distortion-product otoacoustic emissions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery* 1999;125(2):215-22.
77. Kim DO, Paparello J, Jung MD, Smurzynski J, Sun X. Distortion product otoacoustic emission test of sensorineural hearing loss: Performance regarding sensitivity, specificity and receiver operating characteristics. *Acta Otolaryngol* 1996;116(1):3-11.

78. Yagiz R, Tas A, Uzun C, Adali MK, Koten M, Karasalihoglu AR. Effect of topically applied povidone-iodine on transient evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. *J Laryngol Otol* 2003;117(9):700-3.
79. Hotz MA, Harris FP, Probst R: Otoacoustic emissions: An approach for monitoring aminoglycoside-induced ototoxicity. *Laryngoscope* 1994;104(9):1130-4.
80. Wit HP, Ritsma RJ. Evoked acoustical emissions from the human ear: Some experimental results. *Hear Res* 1980;2(3-4):253-61.
81. Brown AM. Acoustic distortion from the rodent ears: A comparison of responses from rats, Guinea Pigs and Gerbils. *Hear Res* 1987;31(1):25-38.
82. Brown MC, Nuttall AL. Efferent control of cochlear inner hair cell responses in the guinea pig. *J Physiol* 1984;354:625-46.
83. Manley GA, Fay RR, Popper AN. Springer handbook of Auditory research Active Process and Otoacoustic Emission in Hearing; 2002.6-8.
84. Balatsouras DG, Homsoglou E, Danielidis V. Extended high-frequency audiometry in patients with acoustic trauma. *Clin Otolaryngol* 2005;30(3):249-54.
85. Campbell KCM, Durant J. Audiologic Monitoring for Ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993;26(5):903-14.
86. Meyerhoff WL, Yellin W, Maale GE, Roland PS. Audiologic Threshold Monitoring of Patients Receiving Ototoxic Drugs. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989;98(12 Pt 1):950-4.
87. Matz GJ. Aminoglycoside cochlear toxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26(5):705.
88. Priuska EM, Schacht J. Mechanism and prevention of aminoglycoside ototoxicity: outer hair cells as targets and tolls. *Ear Nose Throat J* 1997;76(3):164-72
89. Priuska EM, Schacht J. Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochem Pharmacol* 1995;50(11):1749-52.
90. Innitzer J, Moser G, Rosenkranz A. Audiological evaluation of ototoxicity in gentamycin-treated children. (author's transl) *Wien Klin Wochenschr.* 1978;90(16):616-9.
91. Nakai Y, Konishi K, Chang KC. Ototoxicity of the anticancer drug cisplatin. An experimental study. *Acta Otolaryngol* 1982;93(3-4):227-32.
92. Cardinaal RM, De Groot JC, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF. Dose dependent effect of 8-day cisplatin administration upon the morphology of the albino guinea pig cochlea. *Hear Res* 2000;144(2):135-46.

93. De Lauretis A, De Capua B, Barbieri MT, Bellussi L, Passàli D. ABR evaluation of ototoxicity in cancer patients receiving cisplatin or carboplatin. *Scand Audiol* 1999;28(3):139-43.
94. Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. *Int J Audiol* 2004;43(8):465-70.

## **EKLER**

## Ek 1



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 2014/04

Karar Tarihi: 28.03.2014

#### KARAR NO: 2014.04.01

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Muhsin KOTEN'in yaptığı, Araş. Gör. Dr. Cihan ABAYLI'nın tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2014/10 protokol nolu "Ginea piglerde topikal rifamisin uygulananının olası ototoksik etkisinin elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel olarak araştırılması" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet. Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Tevfik AKTOZ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	

Ek 2



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

SAYI : 59803669/604-01-01/  
KONU :

4591 - 11957

EDİRNE


09-06-2014

Sayın Prof. Dr. Muhsin KOTEN  
Trakya Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı  
EDİRNE

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve araştırma görevlisi Dr. Cihan ABAYLI'nın "Ginea Piglerde Topikal Rifamisin Uygulanımının Olası Ototoksik Etkisinin Elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel Olarak Araştırılması" başlıklı düzenlenmiş tıpta uzmanlık projesinin 9 (dokuz) ay süre ve 8.675,00 TL ile desteklenmesine Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 27.05.2014 tarih ve 2014/09 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

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

Bilgilerinizi rica ederim.

  
Prof. Dr. Süleyman PIŞKIN  
Rektör Yardımcısı ve  
Komisyon Başkanı

EK: 1 adet protokol sözleşmesi

**Ek 3**