

**T.C.**  
**SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ**  
**ANABİLİM DALI**

**LOKAL DİKLOFENAK SODYUM UYGULAMASININ OTOTOKSİK VE**  
**NÖROTOKSİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. HALİL ELDEN**

**MART 2021**



**T.C.**  
**SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ**  
**ANABİLİM DALI**

**LOKAL DİKLOFENAK SODYUM UYGULAMASININ OTOTOKSİK VE**  
**NÖROTOKSİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. HALİL ELDEN**

**DANIŞMAN**  
**DOÇ. DR. AHMET KARA**

**MART 2021**

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde ve Doçent Doktor Ahmet KARA danışmanlığında Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Dr. Halil ELDEN tarafından tez başlığı “Lokal Diklofenak Sodyum Uygulamasının Ototoksik ve Nörotoksik Etkisinin İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı .... / .... / ..... tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak kabul edilmiştir.

İmza

Ünvanı Adı Soyadı

JÜRİ BAŞKANI

İmza

Ünvanı Adı Soyadı

ÜYE

İmza

Ünvanı Adı Soyadı

ÜYE

İmza

Ünvanı Adı Soyadı

ÜYE

İmza

Ünvanı Adı Soyadı

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

Prof. Dr. Oğuz KARABAY

## BEYAN

Bu tez çalışması T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 06/03/2019 tarihinde onay olarak(SÜHADYEK Karar No: 09) hazırlanmış ve Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2019-7-25-78 numaralı proje ile desteklenmiştir. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: ..../..../.....

Dr. Halil ELDEN

İmza

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, fikir ve tecrübeleriyle yol gösterici olan başta Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet Güven' e, tezimin son halini almasında yardımcı olan ve fikirlerine büyük saygı duyduğum, Sayın Doç.Dr. Ahmet Kara'ya, bana kattıkları vizyon ve göstermiş oldukları sabırla her zaman minnet duyacağım Sayın Prof. Dr. Mahmut Sinan Yılmaz'a ve Sayın Doç. Dr. Deniz Demir'e, en içten teşekkürlerimi borç bilirim. Asistanlığım süresince bana her zaman kardeşleri gibi yakın davranan ve birikimlerini aktaran klinik uzmanlarımız, Sayın Op. Dr. Ümit Öztaş' a, Sayın Op. Dr. Müge Özçelik Korkmaz' a, Sayın Op. Dr. Muhammed Ali Özçelik' e, Sayın Op. Dr. Oğuz Kadir Eğilmez'e, Sayın Op. Dr. Fatih Turan' a, Sayın Op. Dr. Taşkın Tokat'a ve Sayın Op. Dr. Necati İlhan' a; asistanlığım süresince beraber zevkle çalıştığım yol arkadaşlarım, Dr. M. Emre Gündoğan'a, Dr. Bilgehan Çelik'e, Dr. Köksal Delibaş'a, Dr. Büşra Gebeş Şahiner'e, Dr. Engin Okur'a ve Dr. İbrahim Halil İsmailoğlu' na, klinik ve ameliyathanede çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm hemşire, personel ve sekreter arkadaşlarıma, asistanlık sürecinde beni her zaman destekleyen kıdemlim ve sevgili eşim Op. Dr. Sena Genç Elden' e ve beni bu günlere getiren aileme teşekkürü borç bilirim.

Saygılarımla

Dr.Halil ELDEN

Mart 2021, SAKARYA

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	VII
İNGİLİZCE ÖZET.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLOLAR DİZİNİ.....	XIII
RESİMLER DİZİNİ.....	XIV
GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TEMEL KULAK ANATOMİSİ.....	3
2.1.1. Dış Kulak (Auris Eksterna).....	3
2.1.2. Orta Kulak (Auris Media).....	4
2.1.3. İç Kulak (Auris İnterna).....	6
2.1.3.1. Kemik (osseöz) labirent.....	6
2.1.3.2. Zar (membranöz) labirent.....	6
2.2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ .....	14
2.2.1. Ses ve Temel Özellikleri .....	14
2.3. FASİYAL SİNİR ANATOMİSİ .....	20

2.3.1. Motor Dallar .....	20
2.3.2. Duyusal Dallar .....	21
2.3.3. Parasempatik Dallar .....	22
2.3.3.1. Supranükleer bölüm.....	23
2.3.3.2. Nükleer bölüm.....	23
2.3.3.3. İnfraranükleer bölüm:.....	23
2.3.3.3.1. İntrakraniyal parça (pontocerebellar köşe).....	23
2.3.3.3.2. İntratemporal parça.....	24
2.3.3.3.2.1. İnternal Akustik kanal (Meatal segment).....	25
2.3.3.3.2.2. Labirentin segment.....	26
2.3.3.3.2.3. Timpanik (horizontal) segment.....	27
2.3.3.3.2.4. Mastoid (vertikal) segment .....	27
2.3.3.3.2. Ekstratemporal parça.....	28
2.4. PERİFERİK SİNİR HASARLANMA MEKANİZMASI .....	30
2.4.1. Periferik Sinir Hasarlarının Sınıflandırılması .....	30
2.4.1.1. Seddon sınıflaması.....	31
2.4.1.1.1 Nöropraksi .....	31
2.4.1.1.2. Aksonotmezis .....	31
2.4.1.1.3. Nörotmezis .....	31
2.4.1.2. Sunderland sınıflaması.....	31
2.4.1.2.1. Birinci derece hasarlanma (nöropraksi).....	32
2.4.1.2.2. İkinci derece hasarlanma (Aksonotmezis).....	32



2.4.1.2.3. Üçüncü derece hasarlanma (Endonörotmezis).....	32
2.4.1.2.4. Dördüncü derece hasarlanma (Perinörotmezis).....	33
2.4.1.2.5. Beşinci derece hasarlanma (Epinörotmezis).....	33
2.4.1.2.6. Altıncı derece hasarlanma (Kombine).....	33
2.4.2. Fasiyal Sinirdeki Lezyonların Topografik İncelemesi .....	33
2.4.3. Fasiyal Sinir Hasarında Kullanılan Elektrodiagnostik Testler .....	34
2.5. RAT ORTA KULAĞININ YAPISAL ÖZELLİKLERİ.....	37
2.6. OTOAKUSTİK EMİSYON.....	39
2.6.1. Spontan Otoakustik Emisyon.....	39
2.6.2. Uyarılmış (Evoked) Otoakustik Emisyonlar .....	40
2.6.2.1. Stimulus frekansı otoakustik emisyon .....	40
2.6.2.2. Geçici uyarılmış otoakustik emisyon (TEOAE).....	40
2.6.2.3. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE).....	40
2.7. İŞİTSEL BEYİNSAPI CEVABI (ABR).....	42
2.7.1. Rat ile İnsan ABR' si Arasındaki Farklar .....	45
2.8. OTOTOKSİSİTEYE GENEL BAKIŞ.....	46
2.9. DİKLOFENAK SODYUM.....	47
2.10. İNTATİMPANİK İLAÇ UYGULAMA VE İÇ KULAĞA GEÇİŞ .....	46
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	51
3.1. DENEY HAYVANLARI VE ÇALIŞMA GRUPLARI .....	51
3.2. DİSTORSİYON ÜRÜNÜ OTOAKUSTİK EMİSYON(DPOE) ÖLÇÜMÜ ..54	
3.3.İŞİTSEL BEYİN SAPI CEVABI (ABR) ÖLÇÜMLERİ.....	55

3.4. HİSTOLOJİK İNCELEME METODU.....	53
3.4.1. Deparafinizasyon .....	57
3.4.2. Dehidratasyon .....	57
3.4.3. Blokaj.....	58
3.4.4. H&E Boyama Değerlendirmesi .....	60
3.4.5. İmmünohistokimya Boyama Değerlendirilmesi .....	60
3.4.6. Fotoğraflama Yöntemi.....	61
3.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM.....	62
4. BULGULAR.....	63
4.1. OTOTOKSİSİTENİN ODYOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ .....	63
4.1.1.DPOAE Ölçümlerinin Değerlendirilmesi.....	63
4.1.2.ABR Ölçümlerinin Değerlendirilmesi.....	68
4.2. OTOTOKSİSİTENİN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ.....	71
4.3. NÖROTOKSİSİTENİN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ.....	80
5. TARTIŞMA.....	83
6. SONUÇ.....	89
KAYNAKLAR.....	90
ÖZGEÇMİŞ.....	103

## ÖZET

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Diklofenak sodyum non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar grubundandır ve anti-inflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkileri bulunur. Bu çalışmayla kolestatoma üzerine sitotoksik etkisi gösterilen diklofenak sodyumun orta kulağa uygulamasının ototoksik ve nörotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Denekler ototoksisite değerlendirilmesi için serum fizyolojik uygulanan grup (negatif kontrol), diklofenak sodyum uygulanan grup (deney grubu), gentamisin uygulanan grup (pozitif kontrol) olmak üzere üçe ayrıldı. Ototoksisite, distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ve işitsel beyin sapı cevabı ölçümleri kullanılarak ve histopatolojik inceleme ile değerlendirildi. Nörotoksisite değerlendirmesinde ise denekler serum fizyolojik grubu (negatif kontrol) ve diklofenak sodyum grubu(deney grubu) olarak ikiye ayrıldı. Nörotoksisite açısından denekler fonksiyonel ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

**BULGULAR:** Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon testlerinde preoperatif ölçümlerde üç grup arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ). Postoperatif 3. gün ölçümünde üç grup arasında anlamlı fark varken ( $p < 0.05$ ) posthoc analizde ikili karşılaştırmalarda diklofenak ve gentamisin grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ). Postoperatif 28. gün karşılaştırmasında üç grup arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). İşitsel beyin sapı cevabı ölçümlerinde diklofenak ve gentamisin grubunda zamanla eşikte anlamlı yükselme görülürken ( $p < 0.05$ ) serum fizyolojik grubunda anlamlı değişim görülmedi ( $p \geq 0.05$ ). Ototoksisitenin histolojik analizinde sitoplazik vakuolizasyon, hücresel dejenerasyon, dilatasyon derecesi gentamisin grubunda diklofenak sodyum grubuna göre daha fazla bulundu ( $p < 0.05$ ). Apoptotik hücre ve nöral dejenerasyon skorunda gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi ( $p < 0.05$ ). Nörotoksisitenin fonksiyonel ve histolojik analizinde ise iki grup arasında anlamlı fark yoktu ( $p \geq 0.05$ ).

**SONUÇ:** Çalışmamız verileri değerlendirildiğinde saf diklofenak sodyumun orta kulağa lokal uygulamasının ototoksik etkisi gösterilse de, nörotoksik etkisi olmadığı bulunmuştur. Kolesteatom dokusuna sitotoksik etkisi bilinen bu molekülün özellikle kullanılabilir işitmesi olmayan veya işitmesi feda edilebilecek olan ileri kolesteatom olgularda destekleyici tedavi olarak kullanılabilirliği düşünülebilir.

**Anahtar Sözcükler:** Diklofenak sodyum; distorsiyon ürünü otoakustik emisyon; işitsel beyin sapı cevabı; nörotoksisite; ototoksisite.

## SUMMARY

**INTRODUCTION AND OBJECTIVE:** Diclofenac Sodium belongs to the non-steroidal anti-inflammatory drugs group and has anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects. With this study, it is aimed to investigate the ototoxic and neurotoxic effect of intratympanic application of diclofenac sodium, which has been shown the cytotoxic effect of it on cholesteatoma tissue..

**MATERIALS AND METHODS:** Subjects were divided into three groups as saline (negative control), diclofenac sodium (study group), gentamicin (positive control) for ototoxicity evaluation. Ototoxicity was evaluated using distortion product otoacoustic emission (DPOAE), auditory brainstem response (ABR) measurements, and histological analysis. For the evaluation of neurotoxicity, subjects were divided into two groups as saline (negative control) and diclofenac sodium (experimental group). Neurotoxicity was evaluated by functional and histological analysis.

**RESULTS:** In the DPOAE measurements, there was no significant difference between the three groups in preoperatiferative measurements ( $p \geq 0.05$ ). While there was a significant difference between the three groups ( $p < 0.05$ ) in the postoperative 3rd day measurement. There was no significant difference between the diclofenac and gentamicin groups in the paired comparisons in the posthoc analysis ( $p \geq 0.05$ ). In the postoperative 28th day comparison, there was a significant difference between the three groups ( $p < 0.05$ ). In the ABR measurements, there was a significant increase in threshold in the diclofenac and gentamicin groups ( $p < 0.05$ ) However no significant change was observed in the saline group ( $p \geq 0.05$ ). In histological analysis of ototoxicity, cytoplasmic vacuolizations, cellular degeneration, and degree of dilatation were found to be higher in the gentamicin group compared to the diclofenac sodium group ( $p < 0.05$ ). A significant difference was found between each group in the apoptotic cell and neural degeneration scores ( $p < 0.05$ ). In the histological analysis of neurotoxicity, there was no significant difference between the two groups ( $p \geq 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Diclofenac sodium has been shown to have an ototoxic effect in its local application into the middle ear, but it has not a neurotoxic effect. This molecule, which has a known cytotoxic effect on cholesteatoma tissue, can be considered to be used as supportive treatment, especially in advanced cholesteatoma cases without usable hearing or whose hearing may be sacrificed.

**Keywords:** Diclofenac Sodium; Distortion Product Otoacoustic Emission; Auditory Brainstem Response; Neurotoxicity; Ototoxicity

## KISALTMALAR

COX:	Siklooksijenaz
NSAİİ:	Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar
ASA:	Asetilsalisilik Asit
OAE:	Otoakustik Emisyon
ABR:	İşitsel Beyinsapı Cevabı
DKY:	Dış Kulak Yolu
Tm:	Timpanik Membran
ÖT:	Tuba Östaki
M.:	Musculus
BOS:	Beyin-Omurilik Sıvısına
Sv:	Stria Vaskülaris
DTH:	Dış Tüylü Hücre
İTH:	İç Tüylü Hücre
İAK:	İnternal Akustik Kanal
LSSK:	Lateral Semisirküler Kanal
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
NET:	Nöronal Eksitabilite Testi
MST:	Maksimal Uyarı Testi
ENOG:	Elektronörografi
EMG:	Elektromiyografi
BKAP:	Birleşik Kas Aksiyon Potansiyeli
MÜP:	Motor Ünite Potansiyeli
SOAE:	Spontan Otoakustik Emisyon
SFOAE:	Stimulus Frekansı Otoakustik Emisyon

TEOAE:	Geçici Uyarılmış Otoakustik Emisyon
DPOAE:	Distorsiyon Product Otoakustik Emisyon
TNF-R:	Tümör Nekrozis Faktör Reseptör
Bcl-2:	B Hücreli Lenfoma 2
DS:	Diklofenak Sodyum
İT:	İntratimpanik
H&E:	Hematoksilen- Eozin
PBS:	Phosphate Buffered Salin
MCP:	Monosit Kemoatraktan Protein
NO:	Nitrik Oksit
5-FU:	5- Florourasil
KGF:	Keratinosit Büyüme Faktörünün

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kulak yapılarının koronal kesiti

Şekil 2: İç kulağın anatomik kesiti

Şekil 3: Labirentin anatomik kesiti

Şekil 4-5: Kokleanın anatomik kesiti

Şekil 6: Membranöz Labirent anatomisi şematik gösterimi

Şekil 7: Korti organı

Şekil 8: Bekesy' nin İlerleyen Dalga Modeli

Şekil 9: Santral işitme yolları

Şekil 10 Fasiyal sinirin pontobulber sulkustan çıkışı

Şekil 11. Fasiyal sinirin dalları ve hedef organları

Şekil 12 Fasiyal sinirin bölümleri

Şekil 13 Fasiyal sinir nükleer kısmı

Şekil 14. Fasiyal sinirin fallop kanalındaki seyri

Şekil 15. Fasiyal sinirin meatal segmentteki seyri ve komşulukları

Şekil 16. Fasiyal sinir mastoid segment ve ayrılan dallar

Şekil 17. Fasiyal sinirin terminal dallanma varyasyonları

Şekil 18. Periferik sinir travması sonrası hasarlanma ve iyileşme

Şekil 19. Sunderland klasifikasyonu

Şekil 20. Fasiyal sinir hasarında topografik değerlendirme

Şekil 21: Ratlarda kemikçikler ile birlikte rotasyon akslarının gösterimi

Şekil 22. Rat fasiyal sinir ekstrapetoral dallarının seyri

Şekil 23: ABR dalgalarının kaynaklandığı bölgeler

Şekil 24: Normal Rat ABR örneği

Şekil 25: Diklofenak sodyumun açık formülü

Şekil 26: LADME şemasına göre intratimpanik tedavi

Şekil 27: H- Skoru hesabı

Şekil 28: Serum fizyolik uygulanan grupta zamanla DPOAE değerlerinin değişimi

Şekil 29: Diklofenak sodyum grubunda zamanla DPOAE değerlerinin değişimi

Şekil 30: Gentamisin uygulanan grupta zamanla DPOAE değerlerinin değişimi

Şekil 31: Klik uyarıda zamanla grup eşiklerindeki değişim

Şekil 32: 1 kHz' de zamanla grup eşiklerindeki değişim

Şekil 33: 8 kHz' de zamanla grup eşiklerindeki değişim



## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Doku takip basamakları

Tablo 2: Hematoksilen -Eosin Boyama Yöntemi

Tablo 3: Preoperatif DPOAE ölçümlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

Tablo 4: Postoperatif 3. Gün DPOAE ölçümlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

Tablo 5: Postoperatif 28. gün DPOAE ölçümlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

Tablo 6: Tüm grupların kendi içinde zamanla DPOAE değerlerindeki değişim

Tablo 7: ABR ölçümlerinin zamanla değişimi.

Tablo 8: Serum fizyolojik(SF), gentamisin(G) ve diklofenak sodyum (DS) gruplarına ait histopatolojik ve immünhistokimyasal bulgular

Tablo 9: Fasiyal sinir üzerine diklofenak sodyumun histolojik etkisinin istatistiksel analizi.

## RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Stereosilya yapısı

Resim 2: İç-Dış tüylü hücrelerin ve Stereosilya yapısının elektron mikroskopik görüntüsü

Resim 3: Diklofenak sodyum tuzu ve intratimpanik enjeksiyonların yapıldığı operasyon mikroskobu ve deney sonunda disseke edilen rat büllası

Resim 4: Ratların fasiyal sinir disseksiyonu ile deney sonunda histolojik inceleme için çıkarılan doku örneği

Resim 5: DPOAE için cihaz probunun rat dış kulak yoluna yerleştirilmesi

Resim 6: ABR ölçümü için elektrotların yerleştirilmesi

Resim 7: Diklofenak sodyum grubunun hemotoksilen eosin boyama ile mikroskopik görüntüsü

Resim 8: Gentamisin grubunun hemotoksilen eosin boyama ile mikroskopik görüntüsü

Resim 9: Serum Fizyolojik grubunun hemotoksilen eosin boyama ile mikroskopik görüntüsü

Resim 10: Caspase-3 IHC boyanmış Stria Vaskülaris alanları

Resim 11: Kokleanın immünohistokimyasal incelemesi

Resim 12: Tüy hücrelerinin immünohistokimyasal incelemesi

Resim 13: Koklea kesitlerinde hücrel dilatasyon

Resim 14: Serum fizyolojik grubuna ait fasiyal sinir trunkus kesiti

Resim 15: Serum fizyolojik grubuna ait fasiyal sinir trunkus kesiti

Resim 16: Fasiyal sinir kesitinde immunohistokimya boyama ile nörotoksisite araştırılması (Caspase-3

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diklofenak sodyum araşidonik asit metabolizması üzerinde daha çok siklooksijenaz-2 (COX-2) üzerinden etki gösteren, 1980'lerden beri kullanılan, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) grubundandır (Kaplan et al. 2017). Antipiretik; antiinflamatuvar ve analjezik etkileri bulunmaktadır. Sistemik (ağız yoluyla, damar yoluyla veya kas içine) uygulamalarının yanında topikal (hastalık üzerine direk) uygulama şeklinde de kullanılmaktadır. Örneğin göz hastalıklarında, topikal NSAİİ'lerin, insizyonel lazer cerrahisi, kornea erozyonları veya abrazyonlar sonrasında yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir (Acioglu et al. 2017, Cashman et al. 1996). Bunun yanında bilinen etkileri dışında diklofenak sodyumun topikal olarak uygulanmasının bazı cilt tümörleri üzerine sitotoksik etkisi olduğu da çalışmalar ile gösterilmiştir (Brinkhuizen et al. 2016).

Diklofenak sodyumun otoloji alanındaki KBB hekimlerinin sıklıkla karşılaştığı ve yassı epitel hücrelerinin çoğalımı ile karakterize kolesteatom hastalığı üzerine etkili olabileceği de daha önce düşünülmüş olup bu etkisi hücre kültürü çalışmasıyla ispatlanmıştır (Kara et al. 2019) Dolayısıyla kulakla ilgili hastalıklarda veya cerrahi girişimler sonrasında bilinen özellikleri olan ağrı kesici ve ödem azaltıcı etkisi ile kullanılabilen gibi kolesteatom üzerine de yeni bir endikasyon ile kullanımı mümkün olabilir. Özellikle cerrahi sonrası nükslerin en sık görüldüğü sinüs timpani, posterior sinüs ve supratubal reses gibi kolesteatomun gizli kaldığı bölgelerde uygulanarak rekürrenslerin önlenmesinde etkili olabilecek bir medikal ajan olarak kullanılabilir.

Ancak bir NSAİİ ajan olan diklofenak sodyumun muhtemel ototoksik etkileri bu endikasyonla kullanımı için sınırlayıcı olabilir. Bu konuda otoloji alanında en çok incelenen NSAİİ alt grubu, asetilsalisilik asit (ASA) içeren salisilatlardır. ASA

ototoksisitesinin genel popülasyondaki 1000 kişiden 11' inde görüldüğü düşünülmektedir. En sık başvuru geçici bilateral kulak çınlaması ve genellikle yüksek frekansları etkileyen hafif ila orta derecede sensorinöral işitme kaybıdır (Acioglu et al. 2017, Miller 1978, Cazals 2000). Literatür incelendiğinde orta kulağa lokal uygulanan diklofenak sodyumun ototoksik etkisini araştıran sadece bir çalışma bulunmaktadır (Acioglu et al. 2017). Bu çalışmada klinikte yaygın kullanımı bulunan Voltaren® ampul ve İnflased® göz damlası kullanılmış; koruyucu bazı maddelerin de bu formlarda bulunmasından dolayı diklofenak sodyumun etkinliği net anlaşılamamıştır.

Ototoksik etkinin araştırılması amacıyla oluşturulan deney modellerinde ototoksik etkisi araştırılacak olan molekülün planlanan klinik kullanımına göre uygun süre ve sıklıkla araştırılacak bölgeye uygulandığı ve ardından ototoksik etkisinin koklear düzeyde ve beyin sapı düzeyindeki işitme fonksiyonunu değerlendiren otoakustik emisyon (OAE) ve işitsel beyinsapı cevabı (ABR) testleri ile belirlendiği ve histolojik olarak koklea incelemelerinin yapıldığı görülmektedir (Sagit et al. 2013, Yalçınnozan et al. 2018, Topdag et al. 2012).

Diklofenak sodyumun otoloji pratiğinde kolesteatom üzerine tedavi amaçlı kullanımını kısıtlayabilecek bir diğer faktör de özellikle fasyal sinir üzerine olabilecek nörotoksik etkisidir. Literatürde diklofenak sodyumun merkezi sinir sistemine etkisi incelenmiş ve dentat girusta nöron kaybına neden olduğu gösterilmiştir (Gökçimen et al. 2007). Bununla birlikte yapılan bir başka çalışmada klorpromazine bağlı gelişen katalepsi modelinde diklofenak sodyumun dopaminerjik nöron kaybını önleyen nöroprotektif etkisinin bulunduğu vurgulanmıştır (Naeem et al. 2019). Ancak diklofenak sodyumun fasyal sinir üzerine nörotoksik etkisi açısından yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Bu açılardan değerlendirildiğinde sunulan çalışma ile saf diklofenak sodyumun ototoksik ve nörotoksik etkisi literatürde ilk kez değerlendirilmiş olup elde edilen verilerin otoloji pratiğinde sık görülen kolesteatomlu kronik otitis media vakalarının tedavisinde faydalı olacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TEMEL KULAK ANATOMİSİ

İşitmenin ve dengenin ana yapısıdır ve temporal kemikte yer alır (Şekil 1).

Dış- orta- iç kulak şeklinde üç bölümde incelenir.



(Netter FH. İnsan Anatomisi Atlası 5. Baskı. Cumhuriyet M, editor2010)

Şekil 1: Kulak yapılarının koronal kesiti

#### 2.1.1. Dış Kulak (Auris Eksterna)

Aurikula, dış kulak yolu (DKY) ve timpanik membranın (Tm) bölümlerine ayrılır.

Tm, DKY' nin sonunda yer alır ve orta kulak boşluğunu DKY' den ayırır. Çapı yaklaşık 9 – 10 mm x 8 – 9 mm ve kalınlığı ise yaklaşık 0,074 mm' dir. Lateralde

DKY cildinin devamı olan kutanöz tabaka, medialde orta kulak mukozasına ait mukozal kısım ile aralarındaki fibröz tabakadan meydana gelir.

Tm'nin vaskülarizasyonunu a. maxillaris interna ve a. auricularis profundus dalı sağlar. Membranın lateral kısmının innervasyonu V. IX. ve X. kranial sinirler, medialini VII. ve IX. kranial sinirler sağlar (Akyıldız 2002).

### 2.1.2. Orta Kulak (Auris Media)

Orta kulak, Tm ile kemik labirent arasında olan, tuba östaki(ÖT) ile dış ortama; aditus aracılığıyla mastoid hücrelere bağlantı sağlayan 0,5 mL hacimli bir yapıdır.

Orta kulağın altı duvarı vardır (Akyıldız 2002, Koç 2019)

- Süperior (Tegmen timpani): Epiteimpanumun tavan kısmını oluşturur ve orta kranial fossaya komşudur.
- İinferior: Hipotimpanumun tabanını oluşturur. juguler bulbus ile komşudur. Ayrıca posteriorda stiloid proçese komşuluğu vardır.
- Posterior: Mastoid ile ilişkilidir. Posteriorda stapes kası ile stapes tendonunun yapıştığı eminentia pyramidalis, fasiyal sinirin ikinci kısmıyla komşudur ve lateralinde korda timpani bulunur. Fasiyal reses eminentia piramidalis ile sinüs timpani arasındadır. Sinüs timpani ise eminentia piramidalisin medialindedir. İnkus kısa kolu fasiyal resesin posterosüperiorundaki fossa inkudis içindedir.
- Anterior: Östaki borusu ve tensor timpani kası ve karotis interna arterinin yaptığı kemik çıkıntı oluşturur. İnternal karotid arter, hastaların yüzde ikisinde mukozanın hemen altında; %20 vakada ise orta kulaktan çok ince bir kemik duvarla ayrılır.
- Medial: Promontoryumun çıkıntısı aracılığıyla iç kulakla komşudur.
- Lateral: Skutum, Tm ve hipotimpanum olmak üzere üç kısımda incelenir.

Orta kulakta üç adet kemikçik bulunur. Kemikçikler orta kulağın posterosüperior kısmına yerleşmişlerdir ve buraya bağlarla asılıdırlar (Akyıldız 2002).

Malleus manibrium mallei, anterior ve lateral çıkıntılardan meydana gelir. Manibrium mallei aracılığıyla Tm'a yapışır. Malleusun üç ligamanı vardır: Anterior, lateral ve süperior malleolar ligaman. İnkusun, gövdesi ve iki kolu bulunur. İnkusun

gövdesi malleusla, inkusun uzun kolu ise stapesle eklemleşir. İnkus gövdesiyle malleus başı arasındaki eklem stabilitesini medialindeki ve lateralindeki ligamanlar sağlar. Stapesin baş, boyun, taban ve iki krusu vardır. Stapesin tabanı annüler ligament aracılığıyla oval pencereye oturur. Kemikçiklere musculus (M.) tensor timpani ve M. stapedius yapışır. M. tensor timpani kasıldığında manibrium malleiye mediale ve posteriora çekerek Tm'yi tespit eder. M. Stapedius' un tendonu, eminentia piramidalisten çıkar ve stapeşe yapışır. M. Stapedius 7. sinirden innerve olur ve iç kulağın korunmasındaki refleks mekanizmada görev alır (Koç 2019).

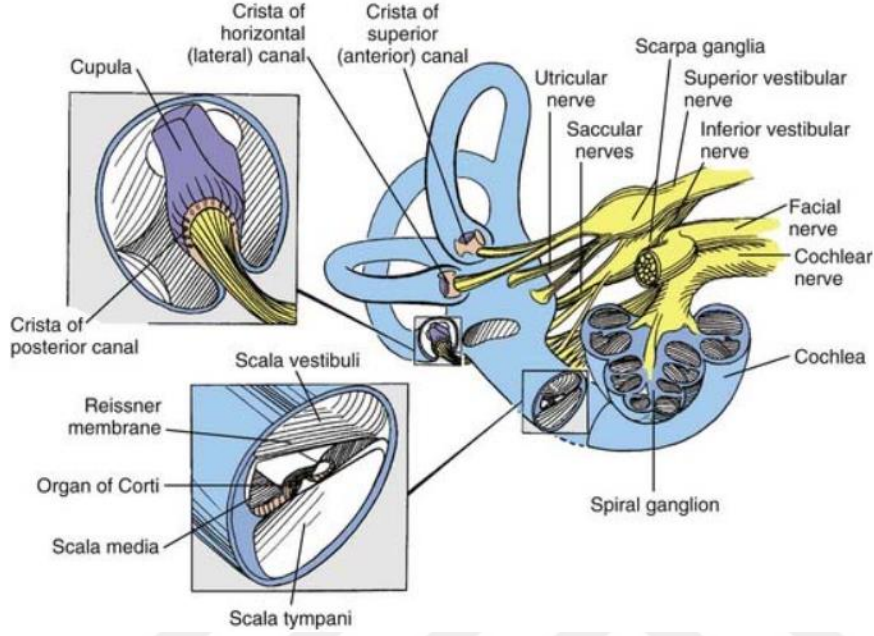
Tuba östaki(ÖT), nazofarenks ile orta kulak arasındaki bağlantıyı sağlar. Nazofarenkse doğru antero-infero-lateral seyir gösterir. Çocuklarda daha kısa ve düz seyirlidir. Orta kulak tarafındaki postero-lateral üçte birlik kısmı kemik, nazofarenks tarafındaki üçte ikilik antero-medial kısmı ise kıkırdaktan meydana gelir. ÖT' nin fonksiyonundan tensor veli palatini, levator veli palatini ve salpingofaringeus kasları sorumludur (Koç 2019).

Orta kulağın vaskülarizasyonu her iki karotid arterden kaynaklanır. Tm, malleus, inkus orta kulağın ön bölümüne internal maksiller arterin dalı olan a. timpanika anterior, posterior ve mastoid hava hücreleri posterior auriküler arterin dalı olan a. stilomastoidea'dan kanlanır. A. Karotis internanın bir dalı olan a.karotikotimpanika DKY ön duvarının, a. meningeo media'dan ayrılan a. petrosus superficialis dalı fasyal sinir ile genikülat gangliyonun kanlanmasından sorumludur. A. temporalis superficialis, a. stilomastoidea ile pleksus oluşturur ve inkudostapedial eklem gider. Venöz drenaj; lateral sinüse, juguler bulbosa, superior petrosal sinüse, pterigoid pleksusa ve v. meningeo media' ya olur. Sempatik ve duysal innervasyonu n. glossofaringeus'un timpanik dalı (Jacobson siniri) ve n. karotikotimpanikus aracılığıylaadır. Lenfatik drenaj, retrofarengeal ve intraparotidal lenf nodlarıdır (Akyıldız 2002).

### **2.1.3. İç Kulak (Auris Interna)**

İç kulakta, işitme ve denge reseptörleri bulunur. Temporal kemiğin petröz parçasındadır. Yuvarlak ve oval pencere ile orta kulakla; koklear ve vestibüler

akuaduktlar ile intrakranial yapılarla ilişkilidir. Kemik(osseöz) ve zar(membranöz) labirent bölümlerine ayrılır (Akyıldız 2002) (Şekil 2)



(<https://clinicalgate.com/neurotology/>)

Şekil 2: İç kulağın anatomik kesiti

**2.1.3.1. Kemik (osseöz) labirent:** Osseöz labirenti otik kapsül oluşturur. Membranöz labirent osseöz labirentin içine yerleşmiştir ve aralarında perilemf bulunur (Austin 2000). Kemik labirentin parçaları:

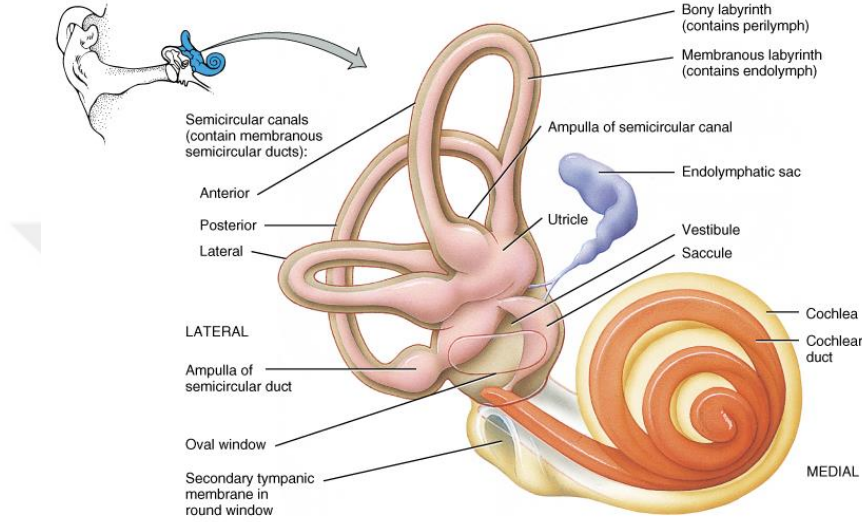
- Vestibül
- Kemik semisirküler kanallar
- Koklea
- Akuaduktus vestibuli
- Akuaduktus koklea

**2.1.3.2. Zar (membranöz) labirent:** Membranöz labirent kemik labirentin 1/3'lük kısmını doldurur (Şekil 3) Membranöz labirentin parçaları:

- Utrikulus
- Sakkulus



- Duktus semisirkularis
- Duktus endolenfatikus
- Duktus perilenfatikus
- Duktus koklearis
- Korti organı



(<https://www.onlinebiologynotes.com/wp-content/uploads/2018/01/Inner-Ear-Anatomy-For-Inspiration-Medice.jpg>)

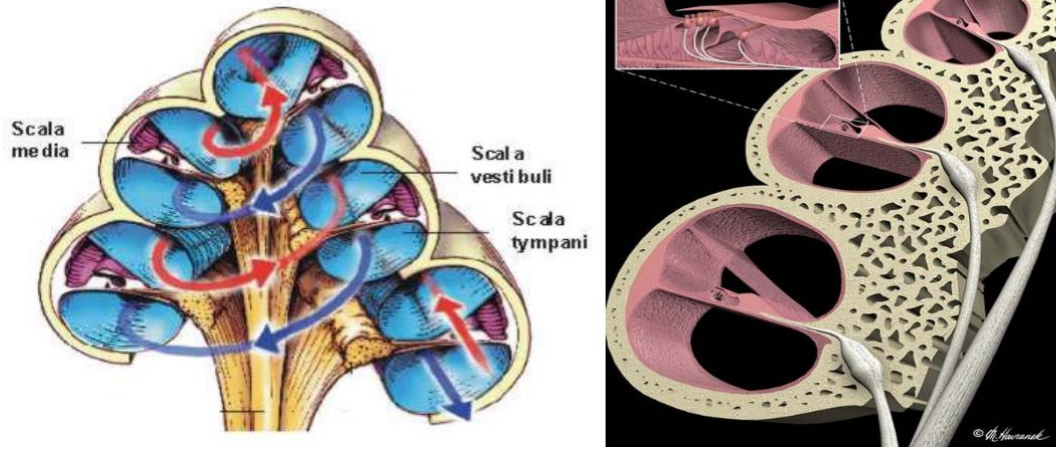
Şekil 3: Labirentin anatomik kesiti

### Osseöz labirent

**Vestibül:** Yaklaşık 4mm çapındadır ve ovoid şekillidir. Lateral duvarı yuvarlak ve oval pencereyle orta kulağa; anteriorda kokleaya komşudur. İç duvarda ise anteroinferiorda sakkulusun yerleştiği sferik reses, posterosüperiorda utrikulusun yerleştiği eliptik reses bulunur (Akyıldız 2002).

**Osseöz semisirküler kanal:** Süperior , posterior ve lateral semisirküler kanallar vestibüle açılır (Koç 2019, Akyıldız 2002).

**Koklea:** Modiolus, kanalis spiralis koklea ve lamina spiralis osseadan meydana gelir. Modiolusun içindeki kanalcıklardan koklear vasküler yapılar ve sekizinci kranial sinirin dalları geçerek Rosenthal kanalına açılırlar. Rosenthal kanalının içinde gangliyon spirale bulunur. Kanalis spiralis koklea, modiolusun çevresini 2,5 defa tur atan kemik spiraldir. Vestibülün anteroinferiorundan başlar ve kupula denilen kapalı bir uç ile sonlanır. Modiolustan uzanan ve baziller membran ile devam eden kemik laminer yapı lamina spiralis ossea'dır. Vestibüle açılan üstteki parçasına skala vestibüli, orta kulağa açılan alttaki kısmına skala timpani adı verilir ve kokleanın tepesindeki helikotrema bu iki kısım birleşir (Koç 2019, Akyıldız 2002). (Şekil 4-5)



Şekil 4-5: Kokleanın anatomik kesiti

**Akuaduktus vestibuli:** Vestibülün lateral iç duvarından başlar ve subarkuat fossada sonlanır. İçerisinde membranöz labirentin endolenfatik duktusu ve uç kısmında endolenfatik sakkulus bulunur (Akyıldız 2002, Koç 2019, Austin 2000).

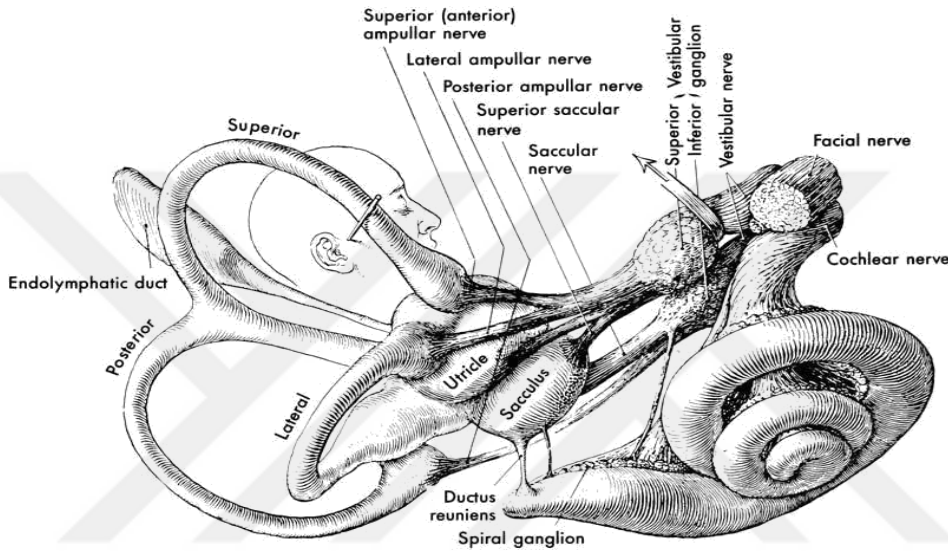
**Akuaduktus koklea:** Skala timpaniden başlar. Petröz kemiğin inferiorundan subaraknoid boşluğa açılır. İçerisinde perilenfatik duktus ve vena kanalikuli koklea bulunur (Akyıldız 2002, Koç 2019, Austin 2000).

### **Membranöz labirent**

**Utrikülüs:** Vestibüldeki eliptik resepte bulunur. Makula utrikülide vestibüler sisteme ait hücreler ile n. utrikularis vardır. Utrikulusta semisirküler kanalların

ostiumları ve duktus utrikulosakkularisin ostiumu mevcuttur (Koç 2019, Austin 2000) (Şekil 6).

**Sakkülüs:** Vestibüldeki sferik ressedir. Makula sakkuli kısmında vestibüler sisteme ait hücreler ile n. sakkularis vardır. Sakkulusta duktus utrikulosakularise ve duktus reuniense (sakkulusu duktus koklearise bağlayan kanal) ait 2 ostium vardır (Koç 2019, Austin 2000).



Şekil 6: Membranöz Labirent anatomisi şematik gösterimi

**Duktus semisirkularis:** Kemik semisirküler kanal hacminin %20'si kalınlığındadırlar; kanal kalan kısımda perilenfle doludur. Membranöz duktusların ampullaları içinde krista ampüllaris denilen bölgede duysal epitel ve her üç kanalda da ampuller sinirler bulunur. Bu ampuller sinirler n. utrikularis ve n. sakkularis ile beraber N. vestibularisi meydana getirir (Koç 2019, Austin 2000).

**Duktus endolenfatikus:** Duktus utrikulosakkularisten başlar. Akuaduktus vestibuli içerisinden ilerleyerek duranın meydana getirdiği fossa subarkuatadaki endolenfatik sakkülde sonlanır (Koç 2019, Austin 2000).

**Duktus perilenfatikus:** Akuaduktus koklea içindedir ve skala timpaniden subaraknoid boşluğa uzanır. İçerisinde perilenf vardır (Koç 2019, Austin 2000).

**Duktus koklearis (Skala Media):** Duktus koklearis üç kenarlı bir boru şeklindedir ve tabana yakın kısmında bulunan duktus reuniens ile sakkülusa bağlanır. Kesitsel çalışmalarda üç duvarı olan bir mimariye sahiptir.

- Reissner membranı skala vestibüli- media arasındadır ve skala medianın üst duvarını oluşturur.
- Ligamentum spirale koklea: Skala medianın dış duvarını oluşturur. Bu duvarın iç kısmında vasküler bir yatak olan stria vaskülaris(Sv) bulunur.
- Korti organı (organum spirale): Skala medianın alt duvarını yapan baziller membranın üzerine yerleşmiştir (Koç 2019).

**İç kulağın vasküler anatomisi:** Labirentin beslenmesinden anteroinferior serebellar arterin dalı olan labirentin arter sorumludur. Labirentin arterin kaynağı çeşitli varyasyonlarda basiller arter veya doğrudan vertebral arter olabilir. İç kulakta sekizinci kranial sinirle beraber seyrederek, ardından arteria vestibularis anterior ve koklearis kominis olarak dallanır. Ardından bu dallar da, a. vestibulokoklearis ve a. koklearis olarak dallanır (Donaldson 1992, Ickleys 1998, Lee 2012).

A. vestibulokoklearis ve A. koklearis, skala media dış duvarındaki Sv ve lamina spiralisle sonlanır. Koklear arter apekte end arter yapısı olan spiral modiolar arter olarak adlandırılır. Bu arterin oklüzyonu işitme kaybına neden olur (Donaldson 1992).

Kokleanın vasküler yapısı, segmentaldir. Spiral kapiller sistem, anastomozlara imkân verecek şekilde sarmal yapıdadır. Bazal dönüşte anastomozlarla birlikte şantlar meydana gelebilir (Ickleys 1998).

İç kulağın venöz sistemi arterlere eşlik eder. Bu venüllerin birleşimi sonrası vena labirentika meydana gelir ve buradan sonra drenaj süperior -inferior petrozal sinüs; transvers sinüs ve nihayetinde internal juguler vene olur. Lenfatik sistem Beyin-omurilik sıvısına (BOS) dökülen endolenf ve perilenf kulağın lenfatik drenaj yolu olarak kabul edilir (Koç 2019, Lee 2012).

**İç kulak histolojisi:** Duyusal reseptör hücrelerinin bulunduğu koklear duktus üç bölümde incelenir:

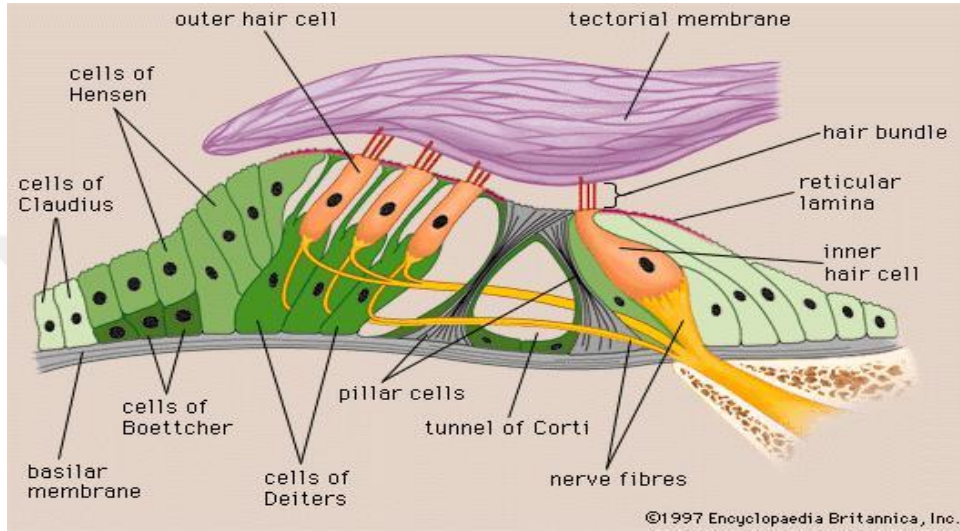
**Reissner membranı:** Tek sıralı hücrelerle Skala vestibüliyle skala medyayı birbirinden ayıran ince bir laminadır. Skala media tarafında küboid hücreler vardır ve mikrovilluslar içerirler. Skala vestibüli tarafındaki hücreler gevşek şekilde bağlı olan skuamöz hücrelerdir.

**Lateral duvar:** Skala media' nın yan ve dış duvarıdır. En lateralde spiral ligament bulunur. Spiral ligamentin medialinde çok katlı yassı epitelden meydana gelen stria vaskülaris(Sv) bulunur. Sv ise endolenfteki iyon dengesini sağlayan marjinal hücrelerden; fagositoz yeteneği bulunan intermediate hücrelerden ve molekül geçişini engelleyen bazal hücrelerden oluşur. Sv ve bazal membran arasında spiral prominens adlı yapı bulunur. Spiral prominens tip 2 fibroblastlardan meydana gelir. Bu fibroblastlar iyon geçişini sağlayan enzimler barındırmaktadır (Santi and Mancini 1998).

**Baziller membran:** Bağ dokusundan meydana gelir. Bazal kısımdan apikal kısma doğru genişliği artan bir yapıdadır. Bu sayede membran hareketleri frekansa özel olmaktadır. Baziller membranın dışında, endolenfle temaslı, kübik, mikrovilluslu hücrelerden meydana gelen; büyük moleküllerin geçişini engelleyen Cladius hücreleri bulunur. Cladius hücrelerinin tabanında tek katlı küboid yapıda, fibronektin üreten ve karbonik anhidraz aktivitesiyle iyon ve sıvı geçişinde görevli olan Boettcher hücreleri mevcuttur (Çakır 1999, Santi and Mancini 1998).

**Korti organı:** Baziller membrandaki ve perilenfte oluşan mekanik titreşimleri aksiyon potansiyeli oluşturan elektrik akımına çevirir. Korti organı baziller membranın üzerine yerleşmiştir ve destek hücreleriyle çeşitli duyuşal hücreler bulunur; en üst kısımda ise tektoryal membran bulunmaktadır (Şekil 7).

**Destek hücreleri:** Claudius hücreleri, Boettcher hücreleri, Hensen hücreleri, Deiters hücreleri, Pillar hücreler ve iç sınır hücrelerinden meydana gelir. Pillar hücrelerin apekslerinde birbirleriyle yaptıkları temas ile iç korti tüneli meydana gelir. dış tüylü hücrelerin(DTH) birbiriyle arasında ve DTH' ler ile dış pillar hücrelerin arasında oluşan boşluklara ise Nuel boşlukları adı verilir (Çakır 1999).



(<https://www.onlinebiologynotes.com/wp-content/uploads/2018/01/organ-of-corti>)

Şekil 7: Korti organı

**Stereosilya:** Sensöryal hücrelerdir ve tüylü hücreler, apikal kısımda hücresel iletim için önemli görevleri bulunan stereosilyaları içerirler (Resim 1 - 2) iç tüylü hücre(İTH) stereosilyaları, küp şeklindeki DTH stereosilyasından yaklaşık iki kat daha kalın yapıdadır. Stereosilyalar horizontal ve vertikal bağlantılarla birbirlerine bağlanmışlardır. Stereosilyaların içindeki aksiyel uzanan polarize aktin filamentleri sayesinde rijit bir yapıdadır. Kokleadaki tüylü hücreler, vestibüler sistemdeki tüylü hücrelerin aksine kinosilyum içermez. DTH'lerin stereosilyaları "V" veya "W" şeklinde dizilir. Tüylü hücrelerin apikal yüzeyleri 6 veya 7 stereosilya tabakası barındırır.

**Dış tüylü hücreler(DTH):** Korti organında; Deiters hücrelerine bağlı yaklaşık 13000 civarındadır. Uzunlukları 14-55 mikron civarındadır ve apekse doğru boyları uzar. Tüylü hücrelerin apikal yüzündeki villi yapısındaki uzantılara stereosilya denir.



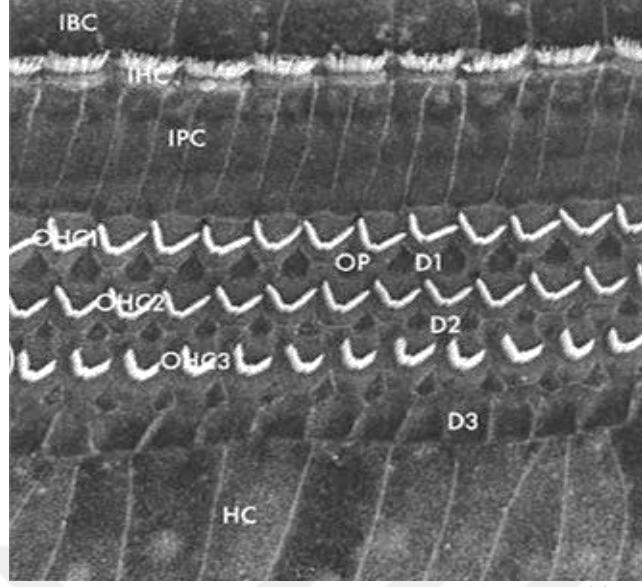
(<https://d2vlcm6117u1fs.cloudfront.net/media%2Feb8%2Feb8a56ab-a8af-488b-9943-51367ce2f6ec%2Fphp09DiUD.png>)

Resim 1: Stereosilya yapısı

DTH'lerden en uzununun stereosilyası tektoryal membran ile ilişkilidir. DTH'lerin tabanlarında aferent sinir ucuna eşlik eden 10 tane veziküllü efferent sinir ucu bulunur (Çakır 1999, Santi and Mancini 1998).

**İç tüylü hücreler(İTH):** Vestibüler hücrelere yapıca benzerdirler. İTH'ler destek hücrelerince sarılı halde tek bir tabaka oluştururlar. Birçok sinaptik sonlanma İTH'lerde de bulunmaktadır.(Çakır 1999, Akyıldız 2002).

**İç kulak sıvıları:** Perilenf, endolenf ve kortilenf olarak ayrılır. Perilenf yapısal olarak ekstrasellüler sıvıya benzemektedir( $\text{Na}^+$ 140mEq/L -  $\text{K}^+$ :5,5-6,25mEq/L). Endolenf ise intrasellüler sıvıya benzer yapıdadır.( $\text{Na}^+$ :12-16 mEq/L -  $\text{K}^+$ : 140-160mEq/L). Perilenfin kaynağı BOS iken; endolenf stria vaskularis tarafından üretilir. Bunun dışında korti tüneli ve Nuel boşluklarında bulunan ve yine perilenf gibi BOS'tan kaynaklanarak akustik sinir dalları boyunca gelen kortilenf bulunur. Korti tünelinin içindeki DTH dallarının etrafında, endolenfteki yüksek potasyumun sinir iletimini inhibe edici etkisi sebebiyle sinir iletiminin devamlılığını sağlamak amacıyla kortilenf bulunur (Santi and Mancini 1998).



(<https://www.researchgate.net/profile/SanaaElgayar/publication/266574038/figure/fig7/AS:203111638540296@1425436996634/Scanning-electron-microscopy-of-the-organ-of-Corti-the-reticular-lamina-of-group-I-A.png>)

Resim 2: İç-Dış tüylü hücrelerin ve Stereosilya yapısının elektron mikroskopik görüntüsü. Deiters Hücreleri (D 1-2-3), Hensen Hücresi (HC), İç tüylü hücre (IHC),

## 2.2.İŞİTME FİZYOLOJİSİ

İşitme, ses enerjisinin dış-orta ve iç kulak aracılığıyla koklear sinirde sinirsel uyarı haline dönüştürülerek beyin sapından geçip korteksteki işitme merkezinde algılanmasıdır.

### 2.2.1. Ses ve Temel Özellikleri

Ses titreşimden meydana gelen bir enerjidir. Ses dalgasının hızı, yayılacağı ortamın yapısına göre değişmektedir. Katı ortamda en hızlı (örneğin kemikte 3013 m/s), gaz ortamlarda ise en yavaş hızla (havada 344 m/s) yayılmaktadır. Sıvı ortamda, gaz ortama göre yaklaşık dört kat daha hızlı yayılmaktadır (1480 m/s). Saniyedeki titreşim sayısı frekans, ton veya perde olarak adlandırılır. Birimi Hertz (Hz)'dir. İnsan kulağı 16 ile 20 000 Hz frekans aralığındaki sesleri algılar. Sesin şiddet birimi desibeldir(dB). Ses dalgasının yayılımına ortamın gösterdiği direnç akustik direnç veya empedans olarak adlandırılır. Ses dalgaları bir ortamdan diğerine geçerken ortamların empedansları birbirine yakınlaştıkça transfer olan enerji miktarı da artar



(Akyıldız 2002). İşitme dış kulak yolundan korteksteki işitme merkezine ulaşana kadar birkaç fazda değerlendirilir:

**İletim fazı:** İşitmede öncelikle ses dalgalarının dış kulak; ardından orta kulak ve nihayetinde korti organına ulaşması gereklidir. Aurikula ses dalgasının toplanmasında, dış kulak yolu ise bu dalgaların Tm'a iletilmesinde görevlidir (Koç 2019). Ses dalgaları geldiği yöndeki kulakta basıncı artırır; karşı kulakta ise basınç düşer. İki kulak arasında meydana gelen basınç farkı iletimde 0,6 m/s' lik bir fark oluşturur; bu da sesin yönünü tayin etmemizi sağlar. Orta kulak, Tm'ye ulaşan sesin iç kulaktaki sıvı ortama iletimini sağlar. Ses dalgaları empedansı düşük olan orta kulaktan empedansı yüksek olan iç kulağa iletilirken yaklaşık 30 dB' lik enerji kaybına uğrar. Orta kulak üç mekanizma sayesinde empedans denkleştirme ile görevlidir (Akyıldız 2002).

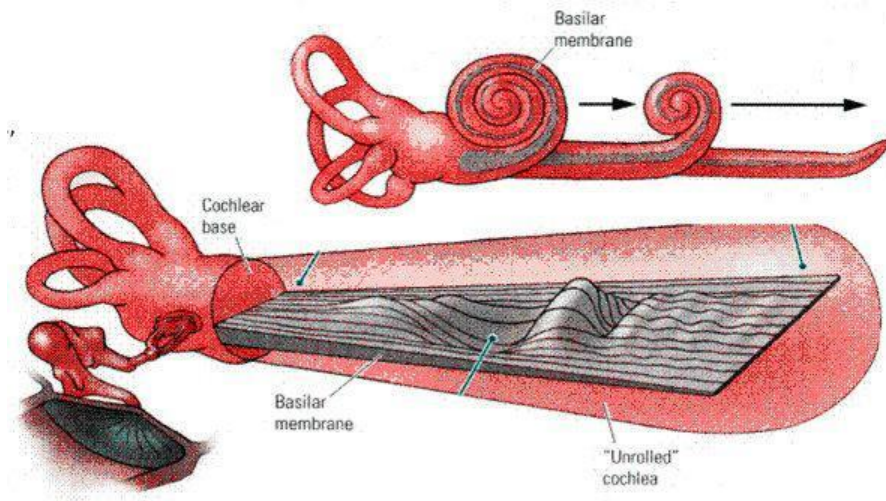
Konik kaldıraç hipotezine göre; Tm' de pars tensa, kemik anulus içerisine ve manibrium malleiye sıkıca yerleşmiştir. Bu nedenle anulusta titreşim meydana gelmez; daha ince olan orta kısmında titreşir ve enerji manubrium mallei'de yoğunlaşır. Bu sayede enerji iki katına çıkmış olur.

Ossiküler kaldıraç teorisine göre; kemikçiklerde kaldıraç benzeri bir sistem görülür. Kaldıracın kollarını manibrium mallei ve inkus uzun kolu oluştururken destek noktasını malleusun kaputu oluşturur. Ses dalgasına karşı inkus ve malleus birlikte hareket eder. Bu sayede Tm ve manibriumda yoğunlaşmış bulunan ses enerjisi malleus-inkus aracılığı ile stapes başına 1,3 kat artarak ulaşır.

Alan teorisine göre; Tm' nin titreşen alanının büyüklüğü stapes taban alanının yaklaşık 14 katıdır, bu nedenle enerji iç kulağa aktarılırken yaklaşık 14 kat artar (Akyıldız 2002, Koç 2019).

**Dönüşüm(transdüksiyon) fazı:** Koklea frekansların periferal analizinin yapıldığı bölümdür; korti organında ses enerjisi biyokimyasal olaylarla sinirsel stimulusa dönüşür (Akyıldız 2002).

Bekesy ses dalgalarının baziller membranda yarattığı değişiklikleri deney hayvanlarında araştırmıştır. Bekesy' ye göre, kokleada oluşturulan titreşimler baziller membranda yer değişimine yol açar. Oluşan dalga baziller membranın bazal kısmından başlayıp apekse doğru ilerler. Yayılma enine ve boyuna yöndedir. Bekesy baziller membrandaki bu harekete ilerleyen dalga “travelling wave” adını vermiştir (Şekil 8). Bu dalganın en önemli özelliklerinden biri de amplitüdünün artarak maksimuma ulaşması ve titreşimlerin bir noktada sönümlenerek faz değişikliği olmasıdır. Bundan dolayı ses dalgalarının, baziller membran üzerinde en büyük titreşim yaptığı yer her frekans için belirli bölgelerde oluşur. Özet olarak, işitilen her frekans için baziller membranda sabit "en fazla titreşen noktası" vardır. En büyük amplitüdle titreşen bölge, yüksek frekanslarda oval pencereye yakın olan bazal bölgededir. İşitsel enerjinin frekansı düştükçe baziller membranın en büyük titreşim noktası apekse yaklaşır. Baziller membran, bazalde daha katı ve dar (0,12 mm), apekse doğru gidildikçe esnek ve genişleyen(0,5 mm) yapıdadır. Bu sayede her frekansın maksimum titreşim bölgesi farklıdır.



Şekil 8: Bekesy' nin İlerleyen Dalga Modeli

Koklea yaklaşık 3500 İTH'ye ve 13000 DTH'ye sahiptir. Bu hücreler ses titreşimlerinin mekanik enerjisinin, sinirsel stimülsü dönüşmesinde rol oynarlar. En

uzun DTH stereosilyası tektoryal membranın altına bağlıdır. Diğer silyalar ve İTH stereosilyasının tektoryal membranın alt kısmına temaslı olmadığı düşünülür. Bazal membrandaki yer değişimi, tektoryal membran ve retiküler membran arasındaki DTH' leri bükerek harekete geçirir.

Tektoryal membran ve retiküler membran arasındaki hareket İTH' leri hareketlendirir. Bu sayede İTH hızı; DTH yer değiştirmeyi algılamada görev alır.

Kokleada dört tip potansiyel bulunur, istirahat potansiyeli dışındakiler uyarım sonucu oluşur:

İstirahat potansiyeli: Koklea uyarılmadığında bulunan potansiyeldir. 2 tipi vardır: İlki olan intrasellüler potansiyel; tüy hücrelerinin iç kısımlarında ölçülür ve -60 mV değerindedir. İkincisi ise endokoklear potansiyeldir; duktus koklearis içindeki endolenf ile perilenf arasında +80 mV' luk fark mevcuttur. Bu sayede bir tüy hücresinin dış kısmıyla arasında yaklaşık 150 mV' luk bir potansiyel farkı meydana gelir. Literatürde endokoklear potansiyellerin ileri işitme kayıplarında dahi bulunduğunu ve bu sebeple işitme muyenelerinde bu potansiyellerin kullanılmayacağını belirtmişlerdir ( Koç 2019)

Koklear mikrofoni: Yuvarlak pencere üzerine yerleştirilmiş olan elektrotlar aracılığıyla ölçülen, işitsel uyarılara karşı DTH kaynaklı oluşan potansiyeldir. DTH harabiyetine neden olan ototoksisite ya da konjenital anomali durumlarında koklear mikrofoni de zarar görür (Koç 2019, Akyıldız 2002).

Sumasyon (toplanma) potansiyeli: İTH içerisindeki elektriksel potansiyellerin yönlendirdiği; ses uyarısının şiddet ve frekansına göre değişiklik gösteren bir potansiyeldir (Koç 2019, Akyıldız 2002).

Tüm sinir aksiyon potansiyeli: Yuvarlak pencere çevresine, kranyuma, DKY veya sinirin üzerine konulan elektrotlarla ölçülür. Stereosilya kompleksi dönüşüm fazının gerçekleşmesinde görevlidir. Stereosilyalar, kutiküler tabakanın içerisinde, aktinden yapılmış tübüller şeklindedir ve kendi içlerinde çaprazlaşmalar yaparlar. Stereosilyaların açılıp kapanma hareketi; apikal kısımlarındaki nonspesifik iyon

kanallarının baziller membran hareketine göre açılıp kapanmasıyla meydana gelir (Koç 2019, Akyıldız 2002).

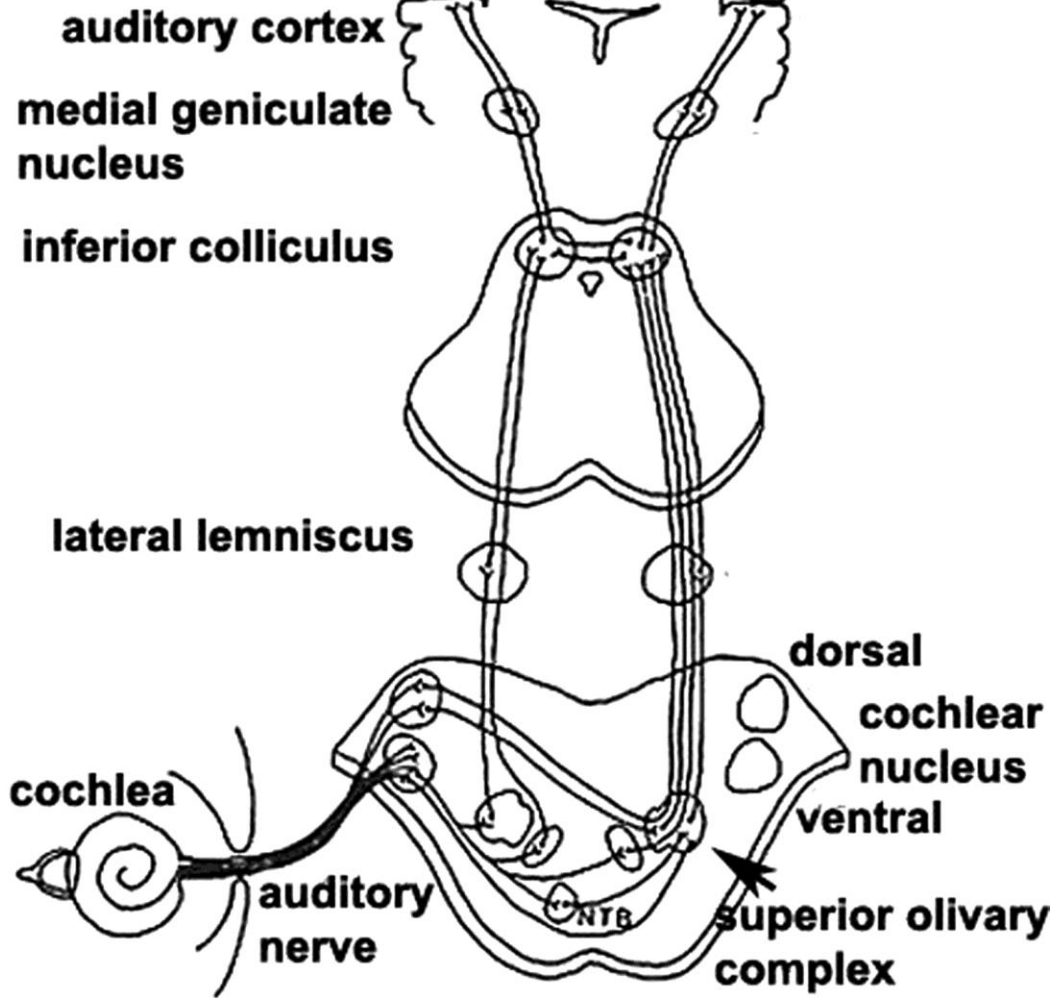
Endolenf içinde + 80 mV'luk bir endolenfatik potansiyel bulunur. Buna karşılık İTH'lerde -45 mV, DTH'lerde ise -70 mV' luk potansiyel mevcuttur. Bu fark sebebiyle hücre içine K<sup>+</sup> iyon akımı meydana gelir ve bu akım polarizasyon oluşturur. Böylelikle baziller membran hareketleri elektrik akımına dönüşür ve ilişkili sinir dallarına aktarılır. Stapesten oval pencere ve perilenfe aktarılan mekanik ses enerjisi tüylü hücrelerde elektrik akımına dönüştürülür. Sinir dallarıyla hücreler arasında görevli özel bir nörotransmitter varlığı henüz bilinmemekle birlikte, sinir dalları ilişkili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini gösterirler (Koç 2019, Akyıldız 2002).

**Sinir şifresi (nöral kodlama) fazı:** İTH ve DTH'lerde meydana gelen elektriksel akımın, kendisiyle ilişkili sinir lifini uyarmasıyla korti organında sinirsel enerji kodlanmış olur (Akyıldız 2002, Brenda 1996).

İnsanda işitme siniri 30000 liften meydana gelir. %90-95' i miyelinli, bipolar tip 1 nöronlardır ve İTH' de sonlanmaktadır Buna karşın %5-10'u miyelinsiz, unipolar tip 2 nöronlardır ve DTH' de sonlanır (Akyıldız 2002, Brenda 1996).

**Algı ve birleştirme fazı:** Korteksteki işitme merkezine ayrı ayrı gelen tüm sinir iletileri birleştirilir ve çözülür; bu sayede sesin karakteri anlaşılır hale gelir. Spiral gangliyondaki nöronların aksonları nervus koklearis olarak adlandırılır ve Ponsta yerleşim gösteren koklear nükleuslara ulaşır. Koklear nükleuslar, ventral ve dorsal olarak ikiye ayrılır. Düşük frekanslı uyarılar ventral nükleusta, yüksek frekanslı uyarılar dorsal nükleusta ulaşır ikinci nöronlarla sinaps yapar. Ardından ikinci nöronların çoğu ponsta çaprazlaşarak süperior olivar komplekse katılırlar. Buradan başlayan üçüncü nöronlar lateral lemnisküs ve inferior kollikulusa giderler. İ inferior kollikulustan çıkan dallar medial genikülat nükleus aracılığı ile temporal lobtaki Silvan fissürde yerleşmiş primer işitme korteksine ulaşır (Lee 2012) (Şekil 9).

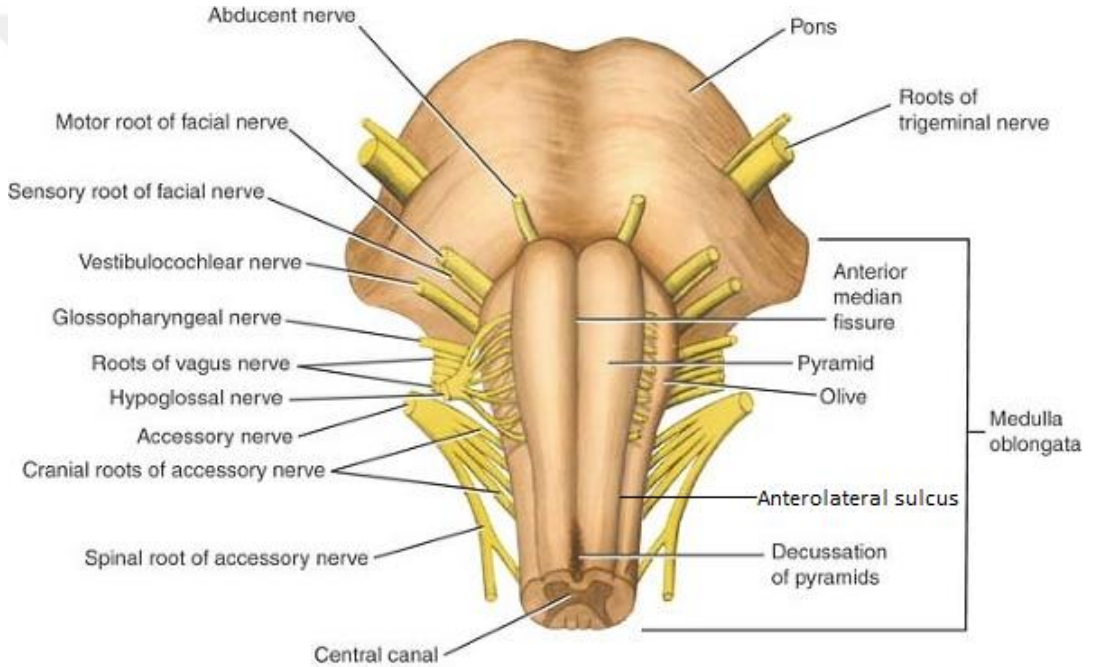
## Central Auditory Pathway



Şekil 9: Santral işitme yolları (Cope et al. 2015)

## 2.3. FASIYAL SİNİR ANATOMİSİ

Fasiyal sinir 7.kraniyal sinirdir ve motor, duyuşal ve parasempatik dallar barındıran mikst yapıdaki sinirdir. Beyin sapında 3 tane nükleusu vardır. Bunlar; nücleus nervi facialis, nücleus tractus solitarii ve nücleus salivatorious süperior 'dur. Nücleus nervi facialisten motor dallar, nücleus tractus solitariiden duyuşal dallar ve nücleus salivatoriousdan parasempatik dallar çıkar. Motor dalları barındıran kısım n.fasiyalis; parasempatik ve duyuşal dalları taşıyan n. intermedius olarak pontobulber sulkustan çıkar (Şekil 10) (Akyıldız 2002, Koç 2019).



(Netter FH. İnsan Anatomisi Atlası 5. Baskı. Cumhuriyet M, editor 2010)

Şekil 10 Fasiyal sinirin pontobulber sulkustan çıkışı

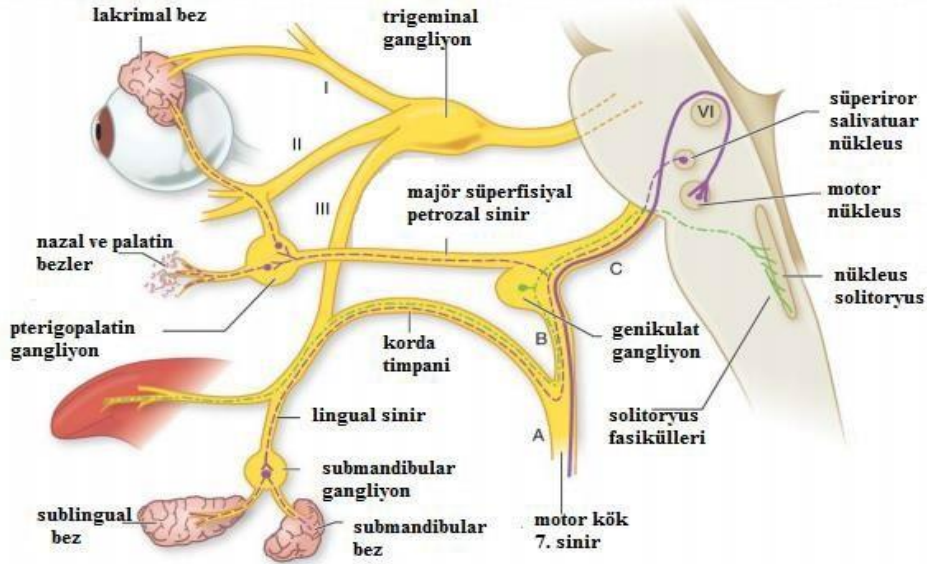
### 2.3.1. Motor Dalları

Fasiyal sinir motor dallarının ilk nükleusu kortekste presantral girusta, 2. nükleusu ise ponda bulunur. Ponda bulunan nükleus, ana ve iki aksesuar nükleustan meydana gelir. Ana motor nükleus fonksiyonel olarak dorsal, intermedier, medial ve ventral alt nükleuslara ayrılır. Dorsal alt nükleuslar frontal, orbikuler ve nazolabial kasları, medial alt nükleus auriküler kasları, ventral alt nükleus perioral ve peribukkal kasları, intermedier alt nükleus da platisma ve mental kasların innervasyonunda görev

alır. Dorsal alt nükleus her iki vücut yarımından kortikal uyarı alırken diğer bölümler kontralateral kortikal uyarı alır. Aksesuar motor nükleus ventral ve dorsal olarak 2 bölüme ayrılır. Ventral aksesuar nükleus, M. Stapedius' u innerve eder. Dorsal aksesuar nükleus ise M. Digastrikus Venter Posterior' u innerve eder (Akyıldız 2002) (Şekil 11)

### 2.3.2. Duyusal Dallar

Fasiyal sinir duyusal dalları özel ve somatik dallar olarak ayrılır. Somatik dallar DKY arka duvarı, Tm posterioruyla DKY girişinin ağrı-ısı ve dokunma duyusunu alır. Bu dallar sinire stilomastoid forameninden önce katılır ve duyu dallarının 1. nükleusunun bulunduğu genikülat gangliyonuna gelir. Genikülat gangliyondan çıkan dallar n. intermedius ile ponsta beşinci kranial sinire katılıp kortekste ikinci nükleuslarının bulunduğu girus postsantraliste sonlanır. Özel duyusal dallar dilin 3'te 2'lik ön kısmının tad duyusunu alır. Bu dallar korda timpaniyle fasiyal sinire gelir ve 1. nükleusu genikülat gangliyondadır. Daha sonra n. intermedius içerisinde bulbustaki 2. nükleusu olan solitar nükleusa gelir. Bu nükleustan ilerleyen dallar parietal lobta girus postsantralisin alt kısmındaki tad merkezine (Brodmann 43) ulaşır (Akyıldız 2002, Koç 2019) (Şekil 11).

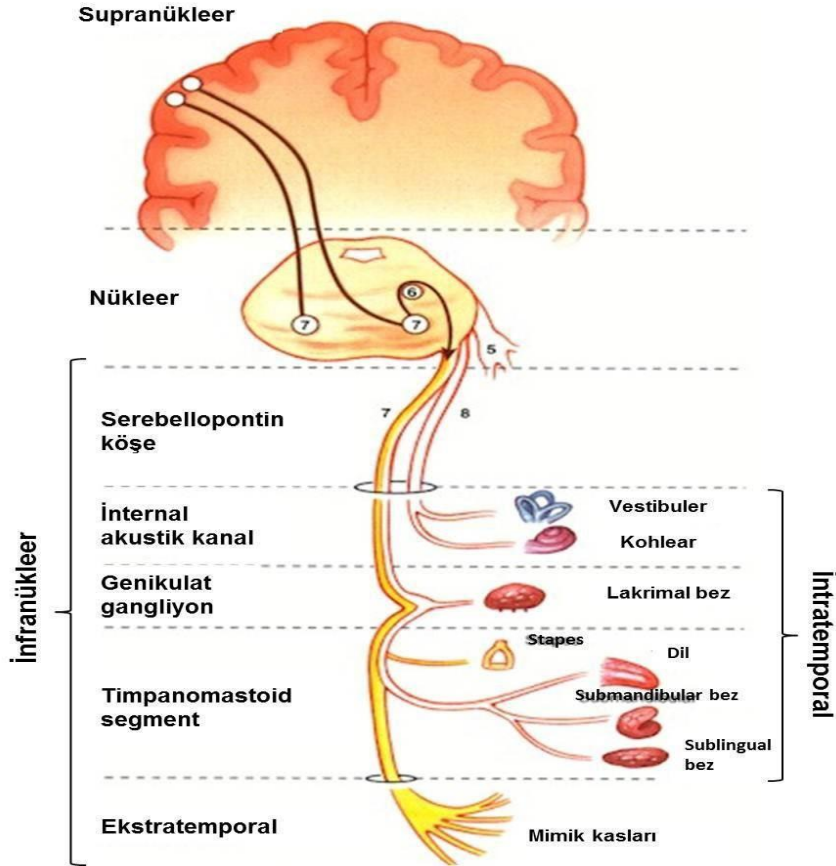


Şekil 11. Fasiyal sinirin dalları ve hedef organları



### 2.3.3. Parasempatik Dallar

Fasiyal sinir parasempatik dallarının 1. nükleusu ponsta Nükleus salivatorious süperiordadır. İnnerve ettiği bölgeye göre iki adet gangliyonu vardır. Nükleus salivatorious süperior'dan kaynaklanan parasempatik dalların bir kısmı genikülat gangliyon seviyesinde n. petrosus süperficialis majör olarak ayrılır ve 2. nükleuslarının bulunduğu sfenopalatin gangliyona gelir. Buradan çıkan dallar lakrimal gland, minör tükürük bezleri, intranasal bölgedeki ve damak mukozasındaki gland yapılarının parasempatik innervasyonunda görevlidir. Nükleus salivatörious süperior'dan ayrılan diğer dallar korda timpaniyle fasiyal sinirden ayrılır ve 2. nükleuslarının bulunduğu submandibular gangliyona gelerek submandibuler ve sublingual glandların parasempatik innervasyonunda görev alır. (Akyıldız 2002, Lee 2012) (Şekil 11). Fasiyal sinir supranükleer, nükleer ve infranükleer olarak 3 kısımda incelenir(Şekil 12).



Şekil 12 Fasiyal sinirin bölümleri



Supranükleer parça, fasiyal sinirin korteks ile pontadaki nükleuslar arasındaki parçasıdır. Nükleer parça, fasiyal sinirin pontadaki nükleuslarının bulunduğu parçasıdır. İnfranükleer parça ise, pontanın sonraki uç dallara kadar uzanan bölümüdür.

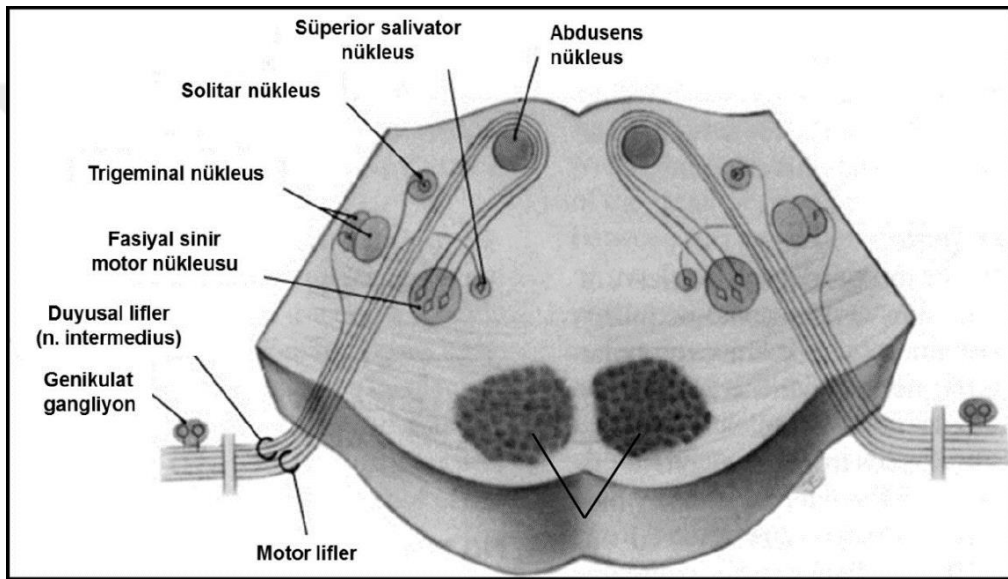
**2.3.3.1. Supranükleer bölüm:** Korteksten gelen kortikobulber yollar ile fasiyal sinirin motor nükleusunun santral bağlantıları oluşturulur. Ana motor nükleusun dorsal kısmı frontal ve orbiküler kasları innerve eder ve korteksin her iki tarafından da uyarı alır. Diğer alt nükleuslar korteksin yalnızca karşı tarafından uyarı almaktadır. Bu yüzden supranükleer hasarlanmada yüzün üst yarısında hareket bozukluğu olmazken; yüzün alt yarısında hareket bozukluğu meydana gelir (Koç 2019).

**2.3.3.2. Nükleer bölüm:** Fasiyal sinirin motor çekirdeği 4. ventrikülün tabanında, 10. kranial sinirin çekirdeğinin (Nükleus ambiguus) yakınındadır. Bu motor çekirdeğin biraz medial ve süperiorunda ise parasempatik dalların çekirdeği olan Nükleus salivatorius süperior bulunur. Daha aşağıda bulbus hizasında duyu çekirdek olan nükleus solitarius yerleşmiştir. Motor nükleustan çıkan dallar 6. kranial sinir çekirdeğinin çevresinden geçerek pontanın ayrılır (Şekil 13). Motor nükleusta yaklaşık 7000 motor sinir lifi vardır. Motor dallar yüzün mimik kaslarıyla beraber 2. kranial arkten kaynaklanan kasları innerve eder. Fasiyal sinirin parasempatik dalları Nükleus salivatorius süperior'dan kaynaklanır; gözyaşı ve tükürük salgılanmasında görevlidir. Bu nükleustan çıkan dallar n. Intermedius (Wrisberg siniri) içerisinde seyrederek, motor dallarla beraber beyin sapını terk eder. 8. kranial sinir ile fasiyal sinir arasındaki seyrinden dolayı, bu sinire n. intermedius adı verilmiştir (Akyıldız 2002).

**2.3.3.3. İnfranükleer bölüm:** Fasiyal sinir, beyinden pontobulber sulkustan çıkar. Uç dallara kadarki parçası intrakranial, intratemporal ve ekstratemporal olarak 3 bölümde incelenir:

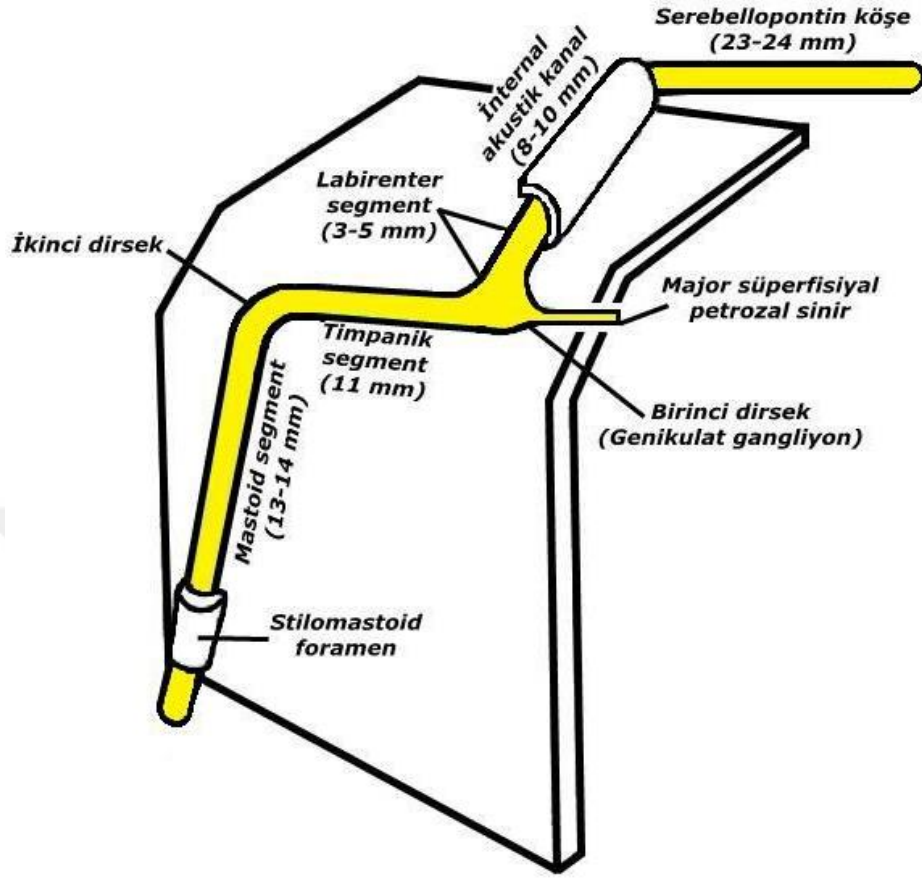
**2.3.3.3.1. İntrakranial parça (pontocerebellar köşe):** Pontobulber sulkusla internal akustik kanal (IAK) arasındaki kısımdır. Uzunluğu yaklaşık olarak 2,3-2,4 cm'dir. Fasiyal sinire, n. intermedius ve 8.kranial sinir IAK'ya kadar posterior fossada eşlik eder ve bu berbaerliğe akustiko-fasiyal pedikül denir. Bu pediküle

katılan her bir nöral yapı ayrı bir pia mater ile sarılıdır; fakat İAK girişine kadar ortak bir araknoid kılıfla sarılıdır. Pedikülün Pontobulber sulkustan ayrıldıktan sonra, lateral pontoserebellar sisterna'ya girer. Burada altında a. serebellaris posteroinferior ve inferior petrozal sinüs ile alt-lateralde ise 9-10-11. kranial sinirlerle komşudur. Üst kısmında tentoryum serebelli ve sinüs petrozus süperiorla; arka kısmında da serebellum ile komşudur. Ön-dış kısmında endolenfatik sakkülün yerleştiği fossa angularis ve onun altında endolenfatik duktus ile üzerindeyse subarkuat fossayla komşudur (Akyıldız 2002, Proctor 1982).



Şekil 13 Fasiyal sinir nükleer kısmı

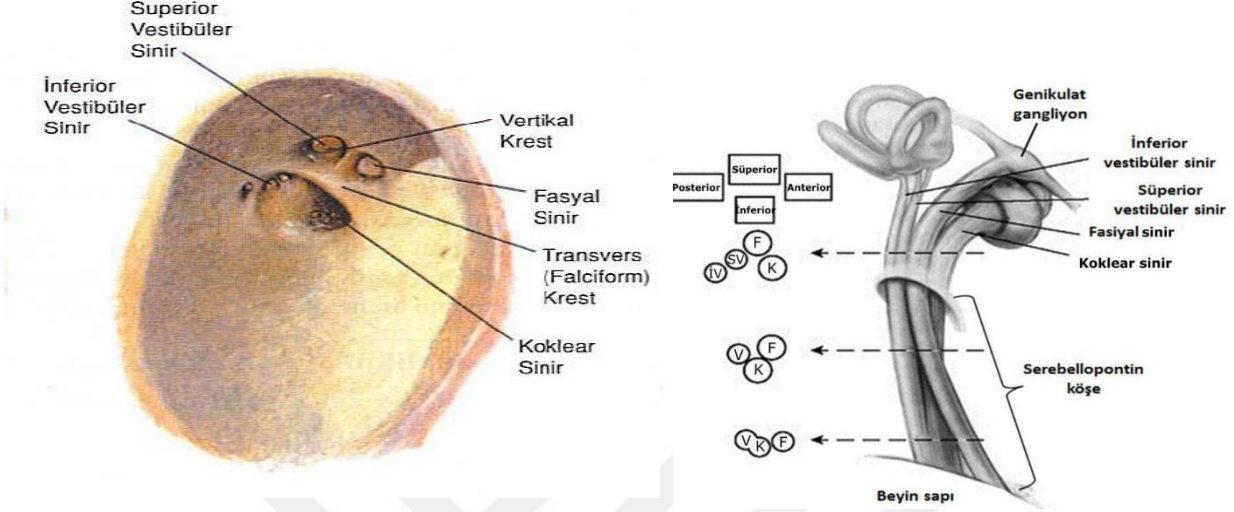
**2.3.3.3.2. İntratemporal parça:** Fasiyal sinir pontoserebellar bölgeyi geçtikten sonra n. intermedius ve 8. sinir ile beraber İAK' dan temporal kemiğe girer. Fasiyal sinirin İAK içinde seyreden kısmına meatal segment denir. İAK'dan çıktıktan sonra stilomastoid foramenden çıkana kadar temporal kemiğin içerisinde 'Fallop kanalı' olarak adlandırılan insan vücudundaki en uzun kemik kanal olan fasiyal kanal içinde yaklaşık 3 cm'lik 'Z' şeklinde bir seyri bulunur. Bu 'Z' şeklindeki seyrinde iki dirsek yapar ve üç segmentte incelenir. İAK'dan genikülat gangliyonuna (1. dirsek) kadar olan kısmı labirentin segment, genikülat gangliyondan 2. dirseğe kadarki kısım timpanik segment, 2. dirsekten stilomastoid foramene kadarki kısım mastoid segment olarak adlandırılır (May 2000) (Şekil 14).



Şekil 14. Fasiyal sinirin fallop kanalındaki seyri

**2.3.3.3.2.1. İnternal Akustik kanal (Meatal segment):** Temporal kemik posteriorunda; genişleyen huni şeklinde bir kanaldır. Fasiyal sinir İAK içinde 8. sinir, n. intermedius ve labirentin arterle (a.auditiva interna) beraber seyrederek. Bazen anterior - inferior serebellar arter de bir loop yaparak İAK içerisine yerleşebilir. İAK içerisindeki seyri esnasında 7. sinir ile 8. sinirin vestibüler kısmı bağlantılıdır. Fakat koklear sinir ile bağlantılı değildir. Akustikofasiyal pedikülün iç kulağın nörovejetatif dengesinde ve Meniyer hastalığının patofizyolojisinde önemli olduğu düşünülmektedir. İAK'ın iç kulak ile ilişkili kısmı fundus; proksimal kısmı porus olarak adlandırılır. Fundusta periost medialden laterale doğru kalınlaşarak vertikal

(Bill's bar) ve transvers krest (falsiform krest) meydana getirir. Bu krestler İAK'yı dört kısma ayırır (Şekil 15).



Şekil 15. Fasiyal sinirin meatal segmentteki seyri ve komşulukları

Fundusta ön-üstte fasiyal sinir, ön-altta koklear sinir, arka-üstte n.vestibularis süperior, arka-altta n.vestibularis inferior yerleşir. Meatal segment yaklaşık 8 - 11 mm'dir. Fasiyal sinir fundustan sonra Fallop kanalı içerisinde seyreder.

**2.3.3.3.2.2. Labirentin segment:** İAK fundusuyla Fallop kanalının 1. dirseğindeki genikülat gangliyon arasındaki bu kısım labirentin (petröz) segment olarak adlandırılır. Lateral ve süperior semisirküler kanallar ve kokleaya olan komşuluğu sebebiyle bu segmente labirentin segment adı verilmiştir. Bu yakın komşuluk orta kranial fossa yaklaşımında önemlidir (Koç 2019, May 2000).

Labirentin segment 3-5 mm uzunluğundadır ve Fallop kanalının en dar yeridir. Ayrıca siniri besleyen vaskülerlerin anastomoz yapmadığı tek bölümdür. Bu sebeple travma ya da inflamasyon durumlarından en fazla etkilenen kısımdır. Genikülat gangliyon içerisinde fasiyal sinirle n. İntermedius'a ait dalların makroskobik olarak ayrımı yapılamaz. Fasiyal sinirin genikülat gangliyon seviyesinde ayrılan ilk dalı n.

Petrosus süperfacialis majör'dür; n. Intermedius aracılığıyla gelen parasempatik iletileri lakrimal-mukozal-nazal glandlara götürür (Koç 2019, May 2000).

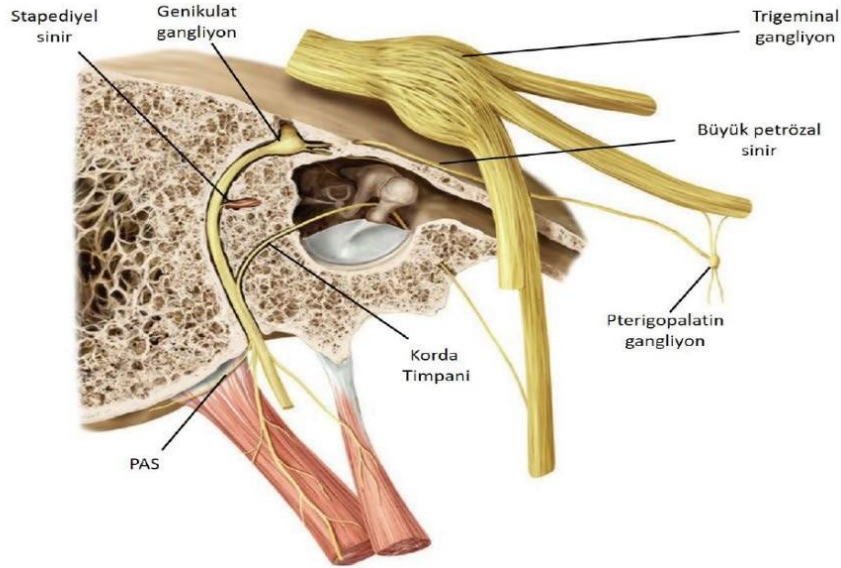
**2.3.3.3.2.3. Timpanik (horizontal) segment:** Genikülat gangliyondan sonra sinir yaklaşık 75° posteriora doğru açılarak orta kulağa giriş yapar. Kavite içerisinde posterior-lateral ve inferiora doğru seyrederek. Yatay eksenle 35-40° 'lik bir açılma yapar. 1. dirsekle 2. dirsek arasında; uzunluğu yaklaşık 10-12 mm kadardır (Koç 2019, May 2000).

Timpanik segment orta kulak medial duvarın antero-süperiorunda ve östaki tüpünün posteriorunda yer alır. Lateralinde korda timpaniyle, malleusun kaputu ve boynuyla, alt kısmındaysa promontoryuma komşudur. Bundan sonraki seyrinde, m. tensör timpani ve kokleiform prosesin süpero-medialde komşusudur. Orta kulak cerrahilerinde kokleiform proses önemli bir cerrahi kılavuz noktadır. Timpanik segment oval pencereyle lateral semisirküler kanal (LSSK) arasında ve LSSK'ya paralel şekilde oval pencere üzerinde seyrederek. Bu bölgede Fallop kanalında dehissansların sık görülebileceği ve orta kulağa yönelik cerrahilerde iyatrojenik travmaya maruz kalabileceği unutulmamalıdır (Koç 2019). Otolojik cerrahilerde 2. dirsek ve timpanik segmentin distal kısmı en sık travmatize olan kısımlardır. Yetişkinde fasiyal kanal labirentin segmentin proksimaliyle timpanik segmentin orta kesiminde en dardır (Koç 2019, May 2000). Eminentia piramidalisin arka-dış tarafında fasiyal sinir inferiora 95 - 125° 'lik bir dönüş yapar ve yaklaşık 2-6 mm uzunluğundaki 2. dirsek oluşur. Dirseğin başlangıcında fossa inkudis bulunur.

**2.3.3.3.2.4. Mastoid (vertikal) segment:** 2. dirsekle stilomastoid foramen arasında, vertikal seyirli ve yaklaşık 13-14 mm uzunluğundadır. 1 mm çaplı Fallop kanalı stilomastoid foramene yaklaştıkça daralır. Temporal kemik içindeki en uzun seyrini mastoid segmentte verir ve burada n. stapedius, korda timpani ve n. aurikularis posterior olarak 1 tane motor ve 2 tane de duyusal dal verir.(Şekil 16 ).

Fasiyal sinirin eminentia piramidalise komşu olduğu kısımda m. stapediusu innerve eden n. stapedius dalı ayrılır. Korda timpani n. intermediusun son dalıdır ve çoğunlukla vertikal segmentin distal 1/3' lük kısmından fasiyal sinirden ayrılır. Malleus ile inkusun arasından geçer ve temporal kemikten fissura

petrotimpanika(Hugier kanalı) aracılığıyla çıkar, ardından n. lingualise katılır. Korda timpanide submandibular ve sublingual glandlara giden parasempatik dallar vardır. Ayrıca dilin ön 2/3 kısmının tat duyusunu alır (Koç 2019, May 2000).

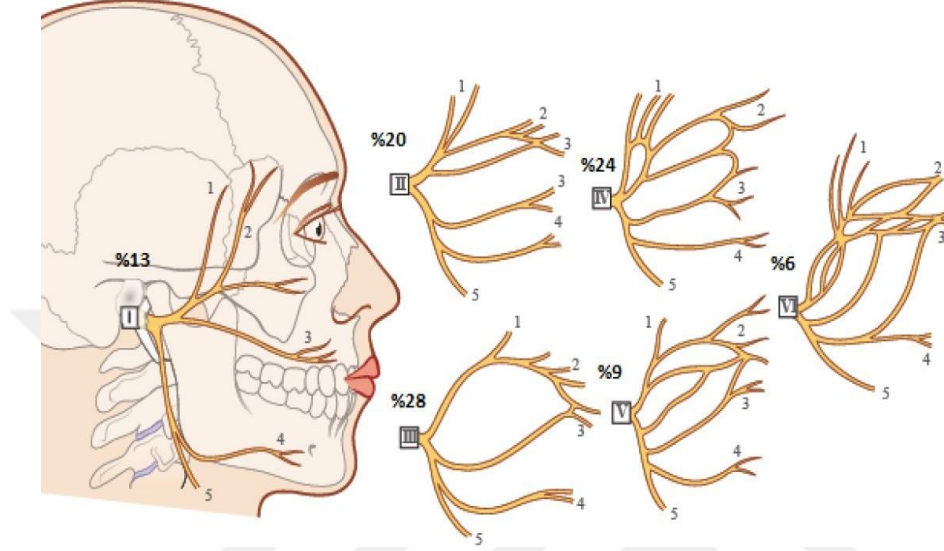


(<https://entokey.com/anatomy-of-the-facial-nerve-and-associated-structures/>)

Şekil 16. Fasiyal sinir mastoid segment ve ayrılan dallar

**2.3.3.3. Ekstratemporal parça:** Fasiyal sinir temporal kemiği Foramen stilomastoideum'dan terkeder. 2 yaştan küçük pediatrik popülasyonda fasiyal sinir, yüzeysel yerleşimlidir. 2 yaştan sonra, mastoid tip ve timpanik kemik geliştikçe, fasiyal sinir de erişkindeki derinliğine yerleşir ve yetişkinde ciltten yaklaşık 5 cm daha derindedir. Fasiyal sinir, Foramen stilomastoideum'dan çıktıktan sonra ilk önce m. digastrikus posteriora, m. stilohiyoideusa ve postauriküler kaslara dallar verir. Mandibulanın arka kenarında stilodigastrik üçgenden parotise girer. Stilomastoid foramenden çıktıktan sonra parotise girdiği kısımda yaklaşık 3 mm çapındadır. Fasiyal sinir daima DKY kırırdağı, mastoid tip ve m. digastrikus posteriorun üst sınırının sınırladığı bölgede yerleşir. Parotis glandı derin ve yüzeysel olarak iki kısma ayırır. A. karotis eksternayı çaprazlar ve ramus mandibulanın posterior kenarında temporofasiyal ve servikofasiyal olarak adlandırılan 2 ana dala ayrılır (Koç 2019, May 2000).

Temporofasiyal daldan temporal, zigomatik ve bukkal dallar, servikofasiyal daldan ise Marjinal mandibular ve servikal dal ayrılır. Bu dallar, kazayağına ( pes anserinus) benzer dallanma şekliyle, değişik varyasyonlarda yüzün mimik kaslarının innervasyonunda görevlidir (Koç 2019, May 2000, Salame et al. 2002) (Şekil 17).



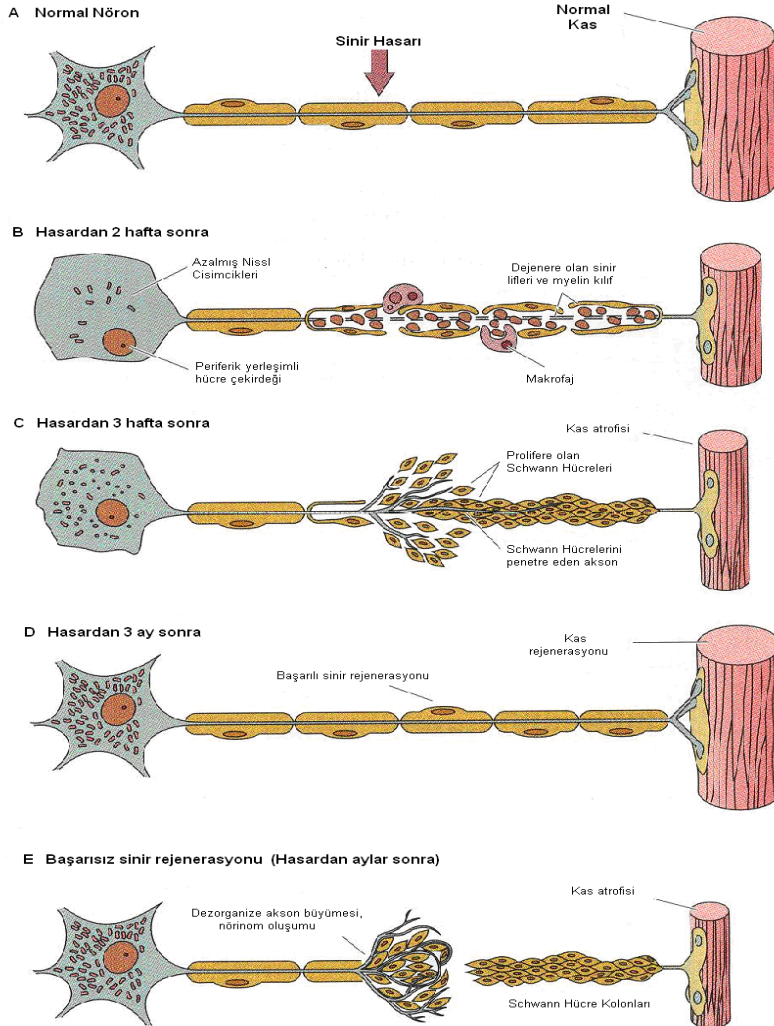
Şekil 17. Fasiyal sinirin terminal dallanma varyasyonları (Salaame et al. 2002)

Dış kantustan aşağı doğru çizilen dik hattın önünde kalan uç dallarda anastomozların yaygın olması nedeniyle distal kısımların hasarlanmaları durumunda genellikle sekel kalmadan iyileşme gösterirler. Temporal dal çoğunlukla tek başına ve anastomoz yapmadan seyrederek Zigomatik dal ise diğer dallarla anastomozlar yapmaktadır. Marjinal mandibular sinir, cerrahi sırasında en sık travmaya maruz kalan dal olup vakaların %10-15 kadarında anastomoz yapmaktadır. Marjinal sinir servikal dal ile beraber m. platismanın medialinde, A.-V. fasiyalisin üzerinde yer alır. Mandibula korpusunun 1-2 cm altına uzanabilir. Temporal ve Marjinal dalların diğer dallarla anastomozlarının daha az olması, bu dalların hasarlanması sonrasında sekel kalma ve paralizi gelişme ihtimalini artırmaktadır (Koç 2019).



## 2.4. PERİFERİK SİNİR HASARLANMA MEKANİZMASI

Merkezi sinir sistemi(MSS) ile hedef organ arasındaki bağlantıyı periferik sinirler kurmaktadır. Fasiyal sinir; nükleusu ponsa yerleşen, aksonal uzantılarıyla innerve ettiği end organlara ulaşan bir periferik sinirdir. Sinir lifleri, ektoderm kökenli kılıflarla sarılan aksonlardan meydana gelir. Aksonların ihtiyaçları hücre çekirdeği aksonların metabolik ihtiyaçlarını karşılar (Akyıldız 2002). Bu sebeple periferik sinir travmasında distaldeki kısım beslenemez ve makrofajlar aracılığıyla fagosite edilir.. Tüm bu sürece “Wallerian dejenerasyon” denir (Koç 2019) (Şekil 18).



Şekil 18. Periferik sinir travması sonrası hasarlanma ve iyileşme



İyileşme, kasların motor son plaklarına ulaşan sinir lifi sayısı ve miyelinizasyona bağlı olarak değişmektedir. Rejenerasyon bozuk olduğunda kas spazmları, kontraktür ve kalıcı yüz distorsiyonları meydana gelebilir (Koç 2019). Rejenerasyon osnrasında bazı lifler yanlış kas yapılarına yönlenebilir. Bu hatalı iyileşme sonucunda sinkinezi ve diskinezi meydana gelebilir (Koç 2019).

#### **2.4.1. Periferik Sinir Hasarlarının Sınıflandırılması**

**2.4.1.1. Seddon sınıflaması:** Periferik sinir hasarına neden olan travmanın sinirin içyapısında meydana getirdiği hasarın derecesi önemlidir ve iyileşme düzeyini belirler. 1941’ de Cohen tarafından ardından 1943’ te Seddon tarafından oluşturulan sınıflandırma halen kullanılmaktadır (Akyıldız 2002).

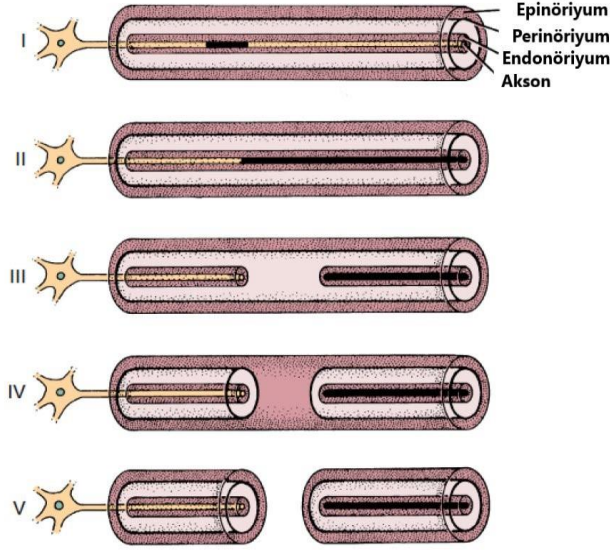
**2.4.1.1.1 Nöropraksi:** Sinir üzerindeki baskı nedenli nöral iletimde geçici blokajın meydana geldiği hasarlanmadır. Sinir yapısında bir değişim meydana gelmez. Baskı ortadan kalktığında sinir yeniden işlevselliğini geri kazanır. Akson bütünlüğü bozulmadığından tam düzelme izlenir. 2 - 4 hafta içinde fonksiyonların eski haline dönmesi beklenir (Akyıldız 2002).

**2.4.1.1.2. Aksonotmezis:** Nöropraksiden daha şiddetli bir hasarlanmanın ardından akson bütünlüğü bozulur. Hasarın distal kısmında Wallerian dejenerasyon gelişir. Sinirin etrafındaki bağ dokusunda hasarlanma yoktur. Hasarlanmanın nedeni ortadan kalktığında akson rejenere olabilir ancak hasarlanma süresinin uzunluğuna bağlı kalıcı sekel gelişebilir. Aksonometziste tam düzelme ihtimali vardır ancak iyileşme nöropraksiden daha uzun (1 - 2 ay) sürer.

**2.4.1.1.3. Nörotmezis:** Aksonla beraber sinirin ve etrafındaki tüm bağ dokunun hasarlandığı en şiddetli travmadır. Sinirin anatomik olarak tam kat hasarlıdır; iyileşme düzeyi değişkenlik gösterir. Bu hasarlanma tipinde de Wallerian dejenerasyon gelişir. Rejenerasyonu ve iyileşme ihtimali düşüktür, cerrahi tamir gerekebilmektedir (Akyıldız 2002).

**2.4.1.2. Sunderland sınıflaması:** 1951’de Sunderland, . Seddon’ un sınıflamasından farklı olarak aksonometziste sinir bağ dokusu hasarını da gruplandırmış ve periferik sinir hasarını 5 dereceye ayırıp değerlendirmiştir. 1988 yılında sınıflama modifiye

edilerek değişik derecelerdeki hasarlanmaların birlikte bulunduğu kombine hasarlanma tanımlanmıştır. (Şekil 19) (Akyıldız 2002, Sunderland 1951).



Şekil 19. Sunderland klasifikasyonu

**2.4.1.2.1. Birinci derece hasarlanma (nöropraksi):** Sinir ve akson yapısı hasar görmemiştir; kısmi demyelinizasyon kaynaklı uyarı iletiminde ortalama 6-8 haftada iyileşen bir blokaj mevcuttur. Seddon sınıflamasında nöropraksiye karşılık gelir. Klinikte hafif güçsüzlük, reversibl motor ve duyu kaybı izlenir. Wallerian dejenerasyon oluşmaz.(Seddon 1943)

**2.4.1.2.2. İkinci derece hasarlanma (Aksonotmezis):** Akson ve miyelin kılıfta hasar mevcuttur; sinirin epinörium, perinörium ve endonöryum hasarlanmamıştır. Distalinde Wallerian dejenerasyon gelişir. Perinöral bağ doku hasarlanmadığından reversibldir ve rejenerasyon yüksek oranda izlenir.

**2.4.1.2.3. Üçüncü derece hasarlanma (Endonörotmezis):** Traksiyonun, kompresyonun ve iskeminin yarattığı hasar sonucunda endonöryumda hasar meydana gelir. Wallerian dejenerasyon oluşur. Akson iyileşmede yanlış endonöryuma doğru rejenere olabilir ya da tam olmayan iyileşme izlenebilir.

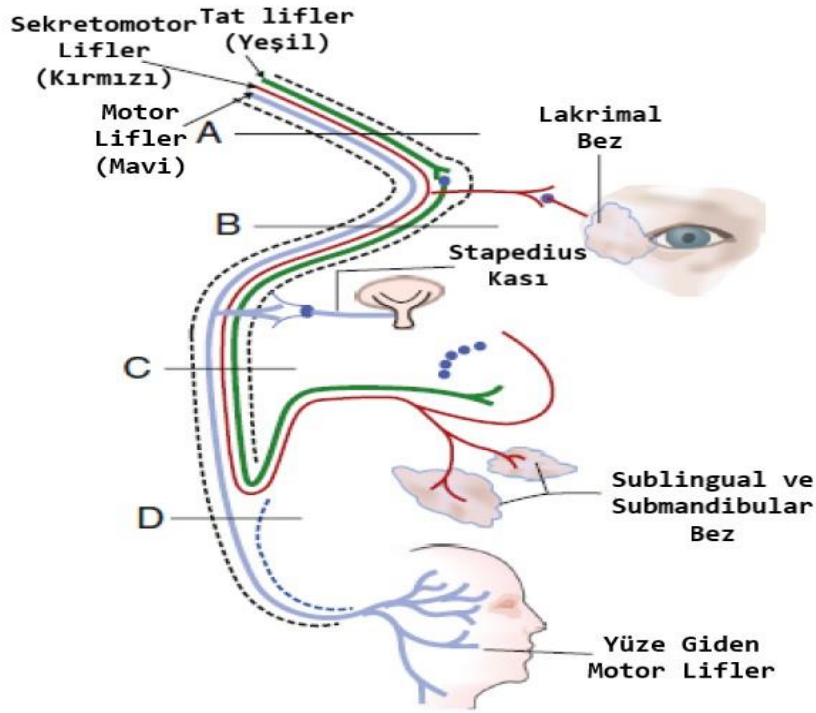
**2.4.1.2.4. Dördüncü derece hasarlanma (Perinörotmezis):** Epinöryum dışındaki tüm yapıların hasarlanması sonucu oluşur. Sinir devamlılığı yalnızca epinöryumla sağlanır. Hasarlanan diğer kısımlardaki fibrozis rejenerasyona engel olacağından cerrahi eksizyon gerekebilir.

**2.4.1.2.5. Beşinci derece hasarlanma (Epinörotmezis):** Traksiyona ya da kesici aletle travmaya bağlı olarak sinirde tam kopma meydana gelir. Kopan uçların uç-uca anastomozu gerekir fakat tam iyileşme güçtür.

**2.4.1.2.6. Altıncı derece hasarlanma (Kombine):** Sinirde değişik derecede ya da farklı seviyelerde kombine hasarlanmalar birlikte izlenmektedir.

#### 2.4.2. Fasiyal Sinirdeki Lezyonların Topografik İncelemesi

Fasiyal sinirdeki lezyonların tespitinde verdiği dallardaki fonksiyonların ayrı ayrı test edilmesi hasar lokalizasyonunun belirlenmesinde önemlidir (Şekil 20 ).



Şekil 20. Fasiyal sinir hasarında topografik değerlendirme. A- Genikülat gangliyon seviyesi B- N.stapedius seviyesi C- Korda timpaniden önce D- Korda timpaniden sonra

Fasiyal sinirdeki hasarın tüm dalları eşit derecede etkilememesinden ve farklı anastomozlar ya da sinir varyasyonlarından dolayı topografik testlerin lezyonun yerinin belirlenmesindeki faydaları sınırlıdır (Akyıldız 2002). Stapes refleksi testi (Akustik refleksi), Shirmer testi, Tükürük akımı (Blatt) testi, tat testi ve tükürük pH düzeyinin incelendiği testler mevcuttur. Klinik pratikte stapes refleksi testi dışında kullanımları yaygın değildir.

### **2.4.3. Fasiyal Sinir Hasarında Kullanılan Elektrodiagnostik Testler**

Kranial sinirlerde hasarın tespit edilmesinde uygulanan elektrofizyolojik testlerdeki en önemli dezavantaj, kafa içi yerleşim nedeniyle çoğunlukla lezyon proksimalinden uyarı vermenin mümkün olmamasıdır. Elektrofizyolojik testlerde lezyonun distalinden verilen uyarıya karşı gelişen cevabın karşı tarafla karşılaştırılması yapılır (Koç2019). Tanısal elektriksel testler ilk 3 gün içerisinde sinirde aksonal dejenerasyon gelişmediğinden güvenilir değildir (Koç2019). Sinirde birinci derecede hasar (nöropraksi) geliştiğinde akson yapısında hasarlanma olmadığından elektriksel stimulusa karşı yanıt alınır ancak aksonotmezis ya da nörotmezis durumlarında meydana hasarda Wallerian dejenerasyona bağlı elektriksel stimulus kaslara iletilmez. Wallerian dejenerasyonun ağırlığı tespit edilemezken ilerleme hızı izlenerek daha yavaş gelişen dejenerasyonun aksonotmezise; daha hızlı gelişen dejenerasyonun ise nörotmezise ait olduğu düşünülür (Akyıldız 2002, Koç2019).

**Nöronal eksitabilite testi (NET):** Fasiyal sinirin stilomastoid forameninden çıktıktan sonraki kısmında uyarılmasıyla uygulanır ve bir elektrot ön kola diğer elektrot da stilomastoid foramen önüne yerleştirilir. Yüzde kasılma oluşturan en düşük stimulus şiddet eşik değeri olarak esas alınır. Sağlam tarafla yapılan karşılaştırmada eşik değerler arasında 3,5 mA'den fazla fark olması patolojiktir ve kötü prognozu gösterir. Parezi nöropraksi nedeniyle geliştiğinde sağlam taraf eşikleri arasında fark meydana gelmez. Bu test dejenerasyonun başlamadığı ilk 3 günde ve dejenerasyonun tamamen geliştiği 3. haftadan sonrasında işlevsizdir. Testin dezavantajları arasında küçük-miyelinsiz liflerin değerlendirilememesi, sağlam taraftaki anormalliklerin gözden kaçabilmesi, bilateral paralizde kullanılamaması ve değerlendirmenin öznel olması sayılabilir (Koç2019)

**Maksimal Uyarı Testi (MST):** NET' te olduğu gibi elektrotların yerleştirilmesinin ardından maksimum kasılmanın olduğu akım değerinin tespit edilmesini amaçlar. Burada tüm sağlam aksonlar uyarılarak dejenerasyona uğrayan liflerin oranı ve prognoz tayin edilmeye çalışılır. 0-100 arası bir yüzde ile değerlendirilir; hafif azalmış cevapta normal taraf kaslarına kıyasla yaklaşık %50'ye varan fonksiyon kaybı izlenirken kas cevabının %25 civarında görülmesi belirgin azalmış yanıt olarak değerlendirilir. NET' ten daha iyi prognozu göstermesine rağmen 1 mA' den 5 mA' e kadar artan şekilde akım verilmesi nedeniyle hastada rahatsızlık yaratabilir. NET gibi ilk 3 günde ve 3. haftadan sonrasında işlevi yoktur (Koç2019).

**Elektronörografi (ENOG):** Temel prensip olarak MST' ye benzer ancak MST' den kas hareketlerinin kayıt altına alınarak incelenmesi ile daha objektif sonuçlar vermektedir. Erken dönem için akson kaybının derecelendirilmesi ve prognoz tayininde en önemli yöntem olarak kabul edilir. Stilomastoid foramen üzerindeki cilde uyarıcı elektrot 2 saniyede bir 0,2 ms süreyle uyarı verecek şekilde yerleştirilir. Bunun haricinde alna da topraklama elektrodu yerleştirilirken, kayıt elektrodu da M.nasalis'ten kayıt alabilmek için nazolabial sulkusa yerleştirilerek aktive olan motor-kas ünitlerin oluşturduğu Birleşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) ölçülür. Sağlam taraf ile hasarlı taraf arasındaki fark % 30 ve fazlaysa test pozitif olarak yorumlanır (May et al. 1983). Sinirdeki dejenerasyon miktarı BKAP farkıyla ters orantılıdır. Uyarılabilir akson sayısındaki azalma prognoz açısından önemlidir. Yani BKAP'ın hızlı bir şekilde %90 düzeyinin altına düştüğü hasarlarda Nörotmezis düşünülürken, BKAP'ın daha yavaş bir şekilde düştüğü hasarlarda Aksonotmezis düşünülür. Bu durum klinikte travmatik fasiyal paralizilerde erken dönemde dekompresyon kararının verilmesinde önemlidir. ENOG kayıtlarında ilk altı günde %90 dejenerasyonun görüldüğü durumlarda cerrahi tedavi önerilmiştir (Davis et al. 1995). NET ve MST gibi ENOG'ta da hasarın ilk üç gününde Wallerian dejenerasyon gelişmediğinden ve üçüncü haftadan sonra ise rejenerasyon süreci başladığından dolayı ENOG testinde anlamlı yanıtlar alınmaz. ENOG hasar sonrası 3-21. günler arasında, Elektromiyografi(EMG) ise 21. günden itibaren kullanılmalıdır (Akyıldız 2002).

**Elektromiyografi (EMG):** Kasın elektriksel uyarıma karşı verdiği yanıtın kaydedilmesiyle oluşur. EMG’ de dört farklı yanıt görülür.(Akyıldız 2002).

Normal istirahat potansiyelleri: İstirahat halindeki kasta ve fibrozise uğramış kasta motor aktivite görülmez.

İstemli motor ünit potansiyelleri: Sinir-kas kavşağında patoloji olmayan durumda trifazik veya bifazik dalga formunda motor ünite potansiyeli (MÜP) tespit edilir. Hasarlı dokunun EMG kaydında saptanması iyileşme aşamasında intakt aksonların gösterilmesi açısından önemlidir.

Fibrilasyon potansiyelleri: Fasiyal sinirde dejenerasyonla birlikte meydana gelen hasarda 10-21 gün sonra kasın innerve edilememesi (denervasyon) sonucunda kas membranında asetilkoline hipersensitivite meydana gelir ve spontan deşarjlar oluşur.

Polifazik reinnervasyon potansiyelleri: İyileşme döneminde meydana gelen ve desinir olan kasın yeniden innerve olmaya başladığını gösteren potansiyellerdir.

EMG, sinir hasarının ilk dönemlerinde aksonotmezis ve nörotmezisi ayırt edememesi nedeniyle faydalı değildir. Erken dönemde yapılan EMG’de istemli MÜP ’lerin saptanması durumunda sinir hasarının tam kat olmadığını söylenebilir ve erken dönemde istemli kasılmaların saptanması iyi prognoz lehine değerlendirilebilir (May et al. 1983). EMG, hasarın üçüncü haftasından itibaren fibrilasyon potansiyellerinin gösterilmesinde faydalıdır. Daha sonraki dönemde 4. – 6. Haftalardaki EMG’lerde polifazik reinnervasyon potansiyelleri iyi prognozu gösterir. (Koç 2019).

#### **2.4.4. Fasiyal Sinir Fonksiyonunun Proksimalden Değerlendirildiği Testler**

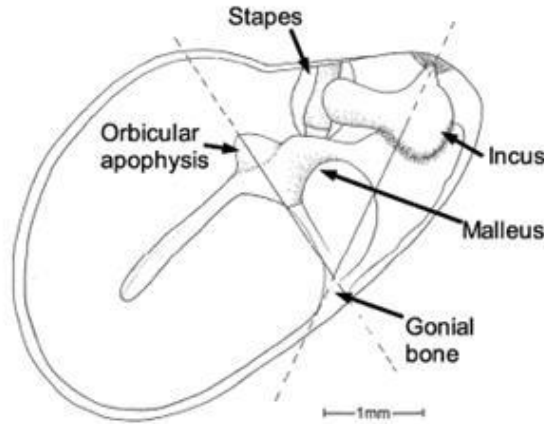
**Trigeminofasiyal refleks (Göz kırpma – Blink refleksi):** Supraorbital foramen den uyarı verilir ve M. orbikularis okuli’ den alınan EMG yanıtları kaydedilir. Aferenti 5. kranial sinirin supraorbital dalı, eferenti ise 7. kranial sinirin frontal dalı olan bir refleks arkıdır. Refleks arkında patoloji gözlenmemesi sinirin intrakranial ve intratemporal kısımlarında bütünlüğün bulunduğunu gösterir (Lee 2012).

**Fasiyal sinir intratemporal kısmının manyetik uyarımı:** Barkerz tarafından oluşturulan manyetik alanın tüm dokuları geçerek sinirin intrakranial kısmının

uyarılmasının sağlanabileceği öne sürülmüştür. Diğer elektrofizyolojik testlerde sinirin intratemporal kısmının uyarılmaması; ayrıca dejenerasyonun foramen stilomastoideum' a ulaşmasının beklenmesi manyetik uyarımı daha avantajlı hale getirir. Manyetik uyarı testi fasiyal sinirdeki dejenerasyonun daha erken tespitine imkân verir (Kartush et al. 1990, Seki et al. 1990).

## 2.5. RAT ORTA KULAĞININ YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Rat ile insan orta kulağı yapısal olarak birbirine benzerdir. Ratlarda orta kulağın yapısal anatomisini, 1978 yılında Fleischer tanımlanmıştır.(Fleischer 1978) Tanımlanan bu modelin 2 önemli özelliği vardır: Malleus, gonial kemik bölümünde timpanik anulusa yapışır. Malleusun kaput kısmının üstünde orbiküler apofiz olarak isimlendirilen kemik bir yapı bulunur.

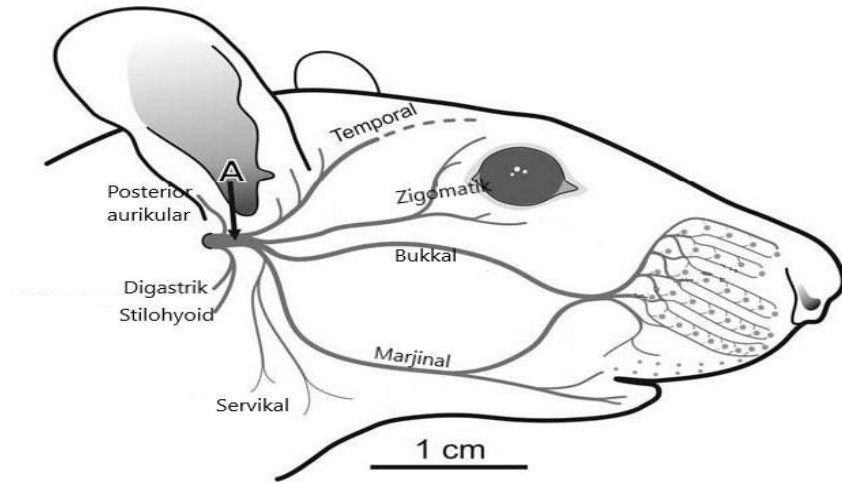


Şekil 21: Ratlarda kemikçikler ile birlikte rotasyon akslarının gösterimi

İnsanlarda, timpanik membran alanı yaklaşık 85 mm<sup>2</sup> iken ratların Tm alanı yaklaşık 11 mm<sup>2</sup> ' dir. Pars flaksida kısmı ratın toplam Tm alanının yaklaşık %25' idir. Rat orta kulağı yapısal olarak insana benzemektedir. Mastoid hücrelerin yerine kavite tabanında bulunan timpanik bülla görülür (Hellström et al. 1982). Rat orta kulağında bülla küçüktür ve kapalı halde bir Tuba Östaki(ÖT) izlenir. Tuba mukozasında goblet hücreleri yoğunluktadır ve az miktarda müköz glandlar görülür (Daniel et al. 1982). Ratlarda ÖT açılma basıncı ve mukosilyer transport sistemleri insan ile benzerlik gösterir (Hellström and Stenfors 1983). Rat Tm' ı insandakinden farklı

olarak daha geniş bir pars flaksidaya sahiptir. Orta kulağın medial duvar yapıları insandakiyle benzerlik gösterir. Orta kulak yassı-küboidal silyasız epitel ile örtülüyken patolojik durumlarda silyalı-sekretuvar hücre sayısı artış gözlenir. İnsanlarda, inkudomalleolar kompleks özellikle düşük frekanslarda anterior malleolar ligaman ve posterior inkudal ligaman doğrultusunda rotasyonel aksa sahiptir. Fleischer' in 1978' de yapmış olduğu modellemelerde ratta malleusun timpanik anulusa fikse olmasına rağmen insandakine benzer şekilde rotasyon hareketini yaptığını göstermiş ve manibriumun bu rotasyon aksına paralel bir yerleşim gösterdiğini belirtmiştir. Ayrıca orbiküler apofiz bölümünün sağlamış olduğu ek kütle nedeniyle özellikle yüksek frekanslarda inkudomalleolar komplekste ikinci rotasyon aksı meydana gelmektedir. Bu ikinci rotasyon aksı da malleusun transvers bölümü doğrultusundadır (Şekil 21). Koklea, timpanik bülla içerisindeki en belirgin yapıdır ve timpanik bülla medial duvarının büyük bölümünü kaplar. Kokleanın eksenini sagittal ve horizontal düzlemde yerleşmiştir. Koklea tarafında yapılan dönüş sayısı 2,25 veya 2,5 tur olarak belirlenmiştir. Koklear kanal yaklaşık 12,16 mm uzunluğundadır. Membranöz kokleanın yapısı diğer memelilerdekine benzerdir; skala vestibüli, skala medya ve skala timpani mevcuttur.

Rat fasiyal sinirindeki bütün ekstratemporal dallar, fasiyal kasların süperfasiyal fasyasının içinde seyretmesi nedeniyle kasların hemen yüzeyinde yerleşmiştir. Cilt - ciltaltı geçilerek, parotisin ekartasyonu sonrasında fasiyal sinir ana trunkusu ve distal dalları gözlenir (Şekil 22).



**Şekil 22.** Rat fasiyal sinir ekstratemporal dallarının seyri (A: Sinir ana trunkusu)



## 2.6. OTOAKUSTİK EMİSYON

Otoakustik emisyon (OAE), DKY' dan ölçülebilen, koklea DTH' lerinden kaynaklanan, akustik enerji yayılımlarıdır. OAE' lar oval pencereyle koklear sinirin afferent sinapsları arasında gelişen perinöral bir olaydır (Özturan et al.1994). İşitme kaybı olan frekanslarda emisyonların tespit edilememesi ancak normal frekanslarda emisyonların saptanması otoakustik emisyonların koklear kaynaklı olduğunu gösterir. Bazal membrandaki titreşimler, orta kulakta uyarı şiddetiyle olan lineer artışa karşın non-lineer özellik göstererek kısıtlı miktarda artar ve bu da OAE amplitüdlerinde non-lineer bir artışa neden olur. OAE' lar, ortalama 50 dB' den fazla olan işitme kayıplarında elde edilememektedir. Ototoksik ilaçlar, hipoksi, gürültü gibi etmenler de OAE üzerinde etkilidir. Objektif, hızlı, güvenilir, ucuz ve noninvaziv bir test olması OAE'un özellikleridir (Koç 2019)

OAE' lerin tespiti için DKY, orta kulak ve kokleada patoloji olmamalıdır. Bunun dışında sessiz bir ortam ile OAE'lerin ölçümü esnasında vakanın pasif kooperasyonu yeterlidir. Testin kısa sürede yapılabilmesi, objektif sonuçlar vermesi ve noninvaziv bir test olması kullanımını yaygınlaştırmıştır. OAE ölçümünde, ilk önce otoskopik bakı yapılır, DKY ve Tm'in normal olduğu görülmelidir. DKY' nu tıkayan patolojiler ve orta kulaktaki basınç değişikliklerine bağlı patolojiler oluşacak OAE yanıtını önemli derecede etkiler (Doyle et al. 2000). OAE ölçümlerinin sessiz bir ortamda yapılması esastır. Olgunun DKY'na yerleştirilen prob iki hoparlör ve bir mikrofondan meydana gelir. Hoparlörden verilen akustik uyarılara alınan yanıtlar, mikrofon ile kaydedilir. Kullanılan mikrofonun iyi olması ortam gürültüsünden daha az etkilenilmesine ve düşük amplitüdü OAE'ların tespitinde kolaylık sağlar. Spontan otoakustik emisyon(SOAE) ve uyarılmış (evoked) otoakustik emisyon (EOAE) olarak ikiye ayrılır (Özturan et al. 1994).

### 2.6.1. Spontan Otoakustik Emisyon:

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE), akustik uyarı olmaksızın gelişen kokleadan kaynaklanan, tonal, düşük seviyedeki dar bant sinyalleridir. SOAE' lar normal işitebilen kulaklarda % 40-50 oranında tespit edilebilen, amplitüdü -10 dB ile +20

dB arasında sinyallerdir (Judkins and Li 1997). SOAE' ler en yüksek 1000-2000 Hz arasında tespit edilir. SOAE; tespit edildiği frekansta normal bir işitmenin olduğunu destekler. Normal popülasyonun bir kısmında tespit edilebildiğinden klinikte tanısal test olarak kullanılamamaktadır. SOAE'ların varlığı gün içinde yaklaşık 3 dB değişiklik gösterebilir. Bu diurnal ritmin nedeni sabah ve akşam vücut ısısı arasında fark olması ve hormonal değişikliklerdir. SOAE pozisyona bağlı da değişiklik gösterir; yatar halde BOS basıncı ayakta dik pozisyondan daha yüksektir ve buna bağlı olarak SOAE amplitüdüleri daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Özturan et al. 1994 ).

**2.6.2. Uyarılmış (Evoked) Otoakustik Emisyonlar:** Uyarılmış otoakustik emisyonlar 3 gruba ayrılır:

**2.6.2.1. Stimulus frekans otoakustik emisyon (SFOAE):** SFOAE, akustik uyarının kokleaya sürekli, düşük amplitüdü, sabit bir tonda verilerek oluşan emisyonun ölçülmesi prensibine dayanır. Frekansa özgüdür fakat akustik uyarı devamlı verildiğinden cevap olarak alınan emisyon ile verilen uyarının ayırımında güçlük meydana gelir. Teknik zorluklar nedeniyle klinik kullanımı kısıtlıdır.

**2.6.2.2. Geçici uyarılmış otoakustik emisyon (TEOAE):** TEOAE, kokleanın kısa süreli, klik uyarılara karşı oluşan yanıtın kaydedilmesidir. Ölçüm 80 dB amplitüde 260 akustik uyarı ile gerçekleştirilir. Oluşan yanıtlarla akustik uyarı arasında bir latans periyod bulunduğundan, 20 ms' lik kayıt aralığının ilk 2 ms' i sıfırlanarak kayıt alınır. TEOAE'larda kullanılan klik uyarı geniş bant bir sinyaldir ve kokleanın tümünü uyardığından frekans spesifitesi DPOAE kadar değildir. İşitmesi normal olan kişilerde TEOAE'lar tespit edilir; ancak işitme kaybı 30 dB' in üstündeki kişilerde tespit edilemez (Özturan et al. 1994). Sağlıklı popülasyonun tamamına yakınında tespit edilen TEOAE yanıtı, yaş ile birlikte düşmektedir. Özellikle 60 yaş üzerinde işitme kaybının da etkisiyle TEOAE olguların ancak %35'inde tespit edilebilmektedir (Ickleys 1998).

**2.6.2.3. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE):** Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon aynı anda, farklı frekanslardaki iki akustik uyarının(  $f_1$  ve  $f_2$ ) kokleaya verilmesi sonrasında oluşan yanıtlardır. DKY' dan gönderilen bu iki

uyarana karşı koklea doğrusal olmayan bir şekilde farklı bir frekansta yanıt oluşturur ( $f_3$ ); bu nedenle ortaya çıkan bu yanıt distortion product (bozulmuş, değişmiş ürün) olarak adlandırılır. Bu emisyonlar  $f_1$  ve  $f_2$ ' nin değişik kombinasyonlarında ( $2f_1 - f_2$ ;  $2f_2 - f_1$ ;  $3f_1 - f_2$  vb) meydana gelebilir ancak DPOAE'lerin bazal membranda oluşma yerlerine bağlı olarak en belirgin distorsiyon ürünü OAE' lar  $2f_1 - f_2$  frekansından kaynaklanır (Austin 2000). Uyarıların frekans ve şiddet oranları ölçümlerin sonuçlarını etkilemektedir. Kokleaya  $f_1$  ve  $f_2$  olarak iki ayrı frekansta gönderilen uyarıların arasındaki oran 1,22 olduğunda en yüksek amplitüdü OAE meydana geleceği gösterilmiştir. Uyarı şiddetleri ( $L_1$  ve  $L_2$ ) arasındaki oranın da DPOAE amplitüdü üzerine etkisi vardır. İnsanlarda en yüksek amplitüdü DPOAE iki uyarı arası fark ( $L_1 > L_2$ ) 10-15 (Örneğin; 75/65 dB, 65/55 dB) olduğunda kayıt edilir. Kokleanın iki ayrı frekanstaki uyarı ile uyarılması, kokleada yayılan bu iki dalganın birbiriyle etkileşmesine ve etkileşmenin olduğu frekanslarda, daha düşük amplitüdü bir yanıtın ortaya çıkmasıyla sonuçlanır. Artefakt seviyesinin 20 dB' in üzerinde olması halinde cihaz otomatik olarak veri toplamayı keser. Uyarıcı frekanslarda  $f_2$  şiddetleri düşürülerek DPOAE amplitüdündeki değişiklikler kaydedilir. Kaydedilen yanıtların doğrusal olmayan özellikte olması yanıtların koklear kaynaklı olduğunu ve enstrümantasyon artefaktı olmadığını ispat eder. 1000 Hz ve daha düşük frekanslarda kokleada meydana gelen yanıtların belirlenmesinde TEOAE, DPOAE' ye göre daha üstündür; DPOAE özellikle 4000 Hz ve üzeri frekanslarda, TEOAE' den daha üstündür ve konuşma frekansının üstündeki işitme kayıplarının belirlenmesinde önemlidir (Haris and Probst 1997). DPOAE'lerin yüksek hassasiyeti, işitme fonksiyonu normal olan olgularla DTH' de ve kokleada hasarlanma meydana gelen olguların erken dönemde ayırt edilmesine olanak sağlar. DPOAE, DTH lezyonu ciddi olduğunda, özellikle düşük frekanslarda 50 dB ve üzeri işitme kayıplarını ayırımında önemlidir (Bonfils et al. 1992). Bunun dışında DPOAE' ler saf ses işitme eşiklerinin değerlendirilmesinde uygun değildir. DPOAE' ler normal ve normale yakın orta kulak ve koklear fonksiyonun varlığını gösterir, ancak işitme eşiklerini göstermez (Robinette and Glattke 2000). Kemirgenlerde kokleanın iki frekansla uyarılması esnasında yüksek amplitüdü distorsiyon ürünü oluşur (Kemp et al. 1984, Whitehead et al. 1992).

## 2.7. İŞİTSEL BEYİNSAPI CEVABI (ABR)

İşitsel beyin sapı cevapları (Auditory Brainstem Response - ABR) işitsel postsinaptik potansiyeller ile aksiyon potansiyellerinden meydana gelen elektriksel potansiyellerin kafatası cildine yerleştirilen elektrotlar aracılığıyla kaydedilmesine dayanmaktadır. Bu cevaplar stimülusun baziller membrana ulaşmasından sonra ilk 10 ms' de ortaya çıkan 6 veya 7 adet elektriksel potansiyelden meydana gelir. İlk olarak 1971 yılında Jewett ve Williston tarafından tanımlanmıştır. Romen rakamlarıyla ifade edilirler. ABR gerçek anlamda bir işitme testi değildir, beyin sapına kadar olan elektrik aktivitelerini kaydeder. ABR elektrotlarının yerleştirilmesi esnasında pozitif kutup vertekse veya orta hattın bir miktar gerisine, negatif kutup test yapılacak kulak cildine, topraklama kutbu ise mastoid kemik üzerine yerleştirilir. Testin yapılışı esnasında çocuklarda ve kooperasyon kurulamayan olgular haricinde yüzeysel elektrotlar kullanıldığından anestezi gerektirmez. Ancak anestezi altında test uygulandığında elektrokoleagrafiden farklı olarak dalga morfolojisini etkilemez (Koç 2019) ABR' de akustik uyarı klik, tone burst (frekansa özgü uyarı) veya tone pip şeklinde uygulanabilir. Klik uyarı basiller membranın büyük bir kısmını uyarabilmektedir ve geniş frekans aralığında dalgaların görülmesini sağlar. Klik uyarıda düşük frekans aralığında frekansa özgü yanıtın alınamaması ve aralarındaki eşik farkı fazla olan iki frekansta yapılan testlerde yanlış yanıt alınabilmesi dezavantajlarıdır. İnsanda klik uyarı 2000 – 4000 Hz frekanslarında en iyi sonuçları verir. Tone burst uyarı ise frekansa daha özgü yanıtların alınmasını sağlar.(Carolyn and Tiffany 2015) İşitsel beyin sapı cevabının değerlendirilmesinde dalga latansı, interpike latans, dalga amplitüdü, I – V. dalgaların amplitüd oranı, kulakların arasındaki latans ve şiddet farkı, latans şiddet eğrisi ve dalgaların morfolojisi önemlidir (Carolyn and Tiffany 2015)

-Latans: Uyarının verilmesiyle cevap olarak ortaya çıkan dalganın tepe noktasının oluşması arasında geçen süredir ve birimi ms' dir.

-İnterpike Latans Değeri: İki dalganın tepe noktaları arasındaki süredir.

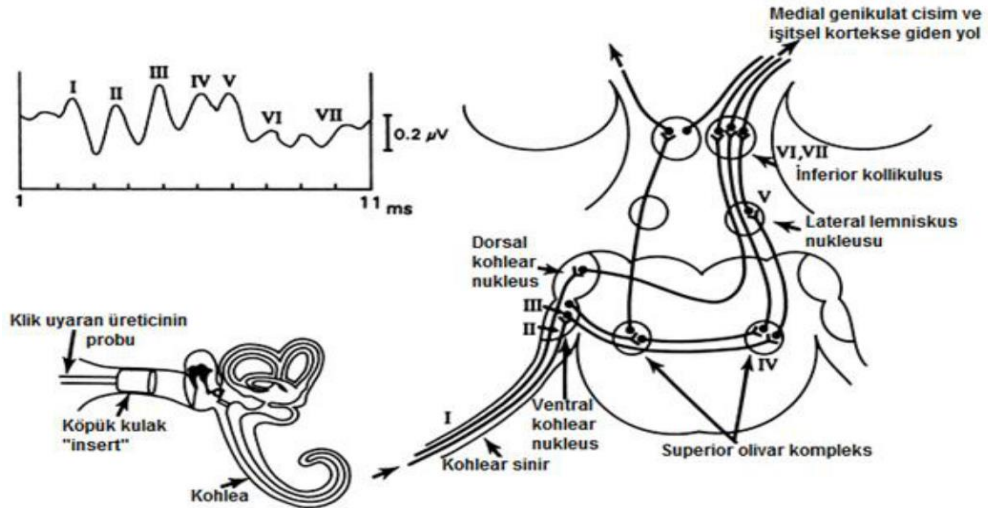
-Amplitüd: Cevap olarak oluşan dalganın pozitif veya negatif tepe noktaları arasında kalan dikey mesafedir ve birimi mikrovolttur( $\mu V$ ).

- I - V Dalga oranı: Retrokoklear patolojilerin değerlendirilmesi açısından değerlidir. Normalde I. dalganın amplitüdünden daha büyük olan V. dalga amplitüdü; I.dalğanın amplitüdünün yarısından daha küçükse bu retrokoklear patolojiler lehine değerlendirilir.

-Morfoloji: Dalgaların genel yapısıyla ilgili bir terimdir. Özel değerlendirilmenin dışında spektral analizler gibi yöntemlerle kantitatif olarak değerlendirilebilir ancak klinikte kullanımı bulunmamaktadır.

Dalgaların oluşumuyla ilgili Moller ve Janetta 1982-1985 yılları arasında beyin ameliyatlarında yaptıkları intrakraniyal kayıtlar neticesinde:

- I. Dalga: Kokleadan çıkan ve internal akustik kanala giren 8. Sinirin distali
- II. Dalga: 8. Sinirin proksimal kısmı
- III. Dalga: Koklear nükleus ve süperior oliver kompleks
- IV. Dalga: Süperior oliver kompleks
- V. Dalga: Tepe kısmı lateral lemniskus, inen kısmı inferior kollikulus
- VI. Dalga: Medial geniculat ganglion
- VII. Dalga: Kortikal bölge (Şekil 23)(Koç 2019)



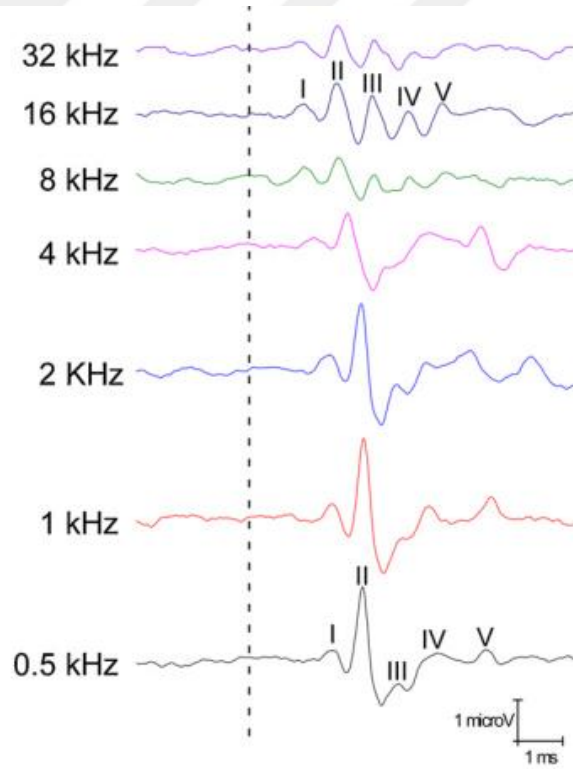
Şekil 23: ABR dalgalarının kaynaklandığı bölgeler

Latans, koklea ile beyin sapı arasındaki mesafe arttıkça uzamaktadır. I. dalga latansı genelde işitme sinirini gösterir ve kulak patolojilerinden etkilenir. Dalgalar arası latansın uzaması, nöronlar arası akıştaki herhangi bir patolojiyi gösterir. II. dalga ve IV. dalga kolaylıkla tespit edilemediğinden I. - III. Dalgalar arası, III. - V. dalgalar arası latanslar kullanılmaktadır ve her iki interpik latans süresi de 2 ms' dir. Aynı şekilde III. dalganın izlenmediği vakalarda I. - V. dalgalar arası normal süre 4 ms olarak tespit edilmiştir. Sadece V.dalğanın görüldüğü olgularda bu dalğanın pikinin oluşmasına kadar geçen süre değerlendirilir ve normal kişilerde bu süre 6 ms' dir (Carolyn and Tiffany 2015). ABR işitme sistemindeki afferent nöronların senkronize çalışmasının sonucudur. Dalgaların amplitüdü, akustik uyarı amplitüdüyle doğru orantılıdır. ABR kayıtlarında temel olarak yüksek amplitüdü akustik uyarılar azaltılarak V. dalğanın latans süresinde gecikme ve şiddetindeki azalma takip edilmektedir. V. dalğanın en son görüldüğü şiddet elektrofizyolojik eşik değeridir. Yetişkinlerde ABR' de saptanan eşik normal eşik 20 dB üzerinde tespit edilir (Carolyn and Tiffany 2015). Koklear patolojilerde I. dalgadan itibaren diğer dalgalarda latans uzaması izlenir. Özellikle yüksek frekans kayıplarında I. dalga normalden daha uzundur ve I. - V. interpik latansta kısalma görülür. Alçak frekansları tutan koklear işitme kayıplarında normal ABR dalgaları izlenirken; 1000 - 8000 Hz arasında ileri derecede işitme kaybında ABR dalgası tespit edilememekte; orta derecede işitme kaybında ise V. dalga latansında uzama gözlenir. I. - III. İnterpik latansın uzaması posterior fossa patolojilerinde görülür. III. - V. İnterpik latansın uzaması ise beyin sapı lezyonlarında görülür (Carolyn and Tiffany 2015). 60 dB' den daha az olan işitme kayıplarında latans süreleri etkilenmese de eşikler etkilenir. Yüksek frekanstaki işitme kayıplarında yüksek amplitüdü akustik uyarı verildiğinde I. - V. dalgaların latansları uzar; amplitüdüleri küçülür fakat interpik latans değişmez. I. - V. dalgalar arası retrokoklear bölgeyle beyin sapı patolojilerinde değişiklik gösterir; retrokoklear patolojilerde V. dalğanın mutlak latansı ve dolayısıyla I. - V. interpik latans uzar (Carolyn and Tiffany 2015). İletim tipi işitme kayıplarında uyarı şiddetinden bağımsız olarak tüm dalgaların mutlak latansları uzar fakat interpik latanslar değişmez.

### 2.7.1. Rat ile İnsan ABR' si Arasındaki Farklar:

Ratlarda işitme sinirinin kısa olması nedeni ile insandaki 7 dalga formu yerine 5 dalga formu görülür. İnsanda I. ve II. Dalgayı meydana getiren akustik uyarı ratlarda yalnızca I. dalganın oluşmasını sağlar. İnsandaki III. dalga ratlarda II. Dalgaya; IV. dalga ise III. dalgaya denk gelir. Ratlardaki IV. dalganın lateral lemnisküs ve inferior kollikülstan; V. dalganın da medial genikülat gangliondan meydana geldiği düşünülür (Alvarado et al.2012)

İnsanda V. dalga en belirgin dalga formu V. dalgadır; ratlarda ise II. dalga en belirgindir. II. dalga koklear nükleus kaynaklı bir dalgadır ve işitme eşiklerinin tespit edilmesinde kullanılır. İnsandaki III. dalgaya karşılık gelir. Ratlardaki III. ve V. dalgalar en zayıf dalgadır (Alvarado et al.2012) (Şekil 24).



Şekil 24: Normal Rat ABR örneği ( Alvarado et al. 2012)

## 2.8. OTOTOKSİSİTEYE GENEL BAKIŞ:

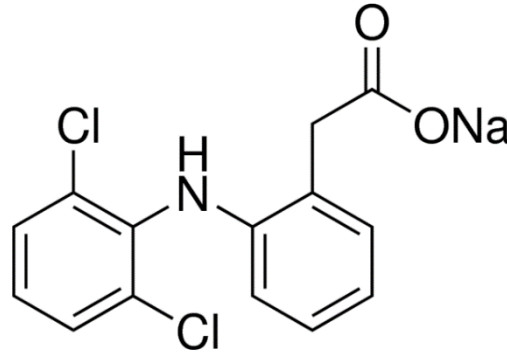
Bir kimyasalın veya farmakolojik ajanın; işitme kaybına, dengede bozulmaya veya her iki semptomu beraber yol açacak şekilde iç kulakta disfonksiyon oluşturmaya ototoksisite denir (Rybak 2007). Ototoksisite medikal tedavinin istenmeyen bir yan etkisidir. İlk olarak 19. yüzyılda kinin ve asetilsalisilik asitin çınlama, işitme kaybı ve denge bozukluğu gibi semptomlar ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Akyıldız 2002). Aminoglikozidler, platin kökenli kemoterapötik ilaçlar(sisplatin ve karboplatin), loop(kıvrım) diüretikleri, salisilatlar, kininler, makrolidler ve antimalaryal ilaçlar, ototoksik etkileri bulunan ve klinik kullanımları yaygın ilaçlardır. İlaça bağlı ototoksisitede ilk etapta hasta sıklıkla çınlamayla başvurur, bunun haricinde işitme kaybı ve dengesizlik de semptomlar arasındadır.(Akyıldız 2002). Tinnitus genelde 4000 - 6000 Hz frekanslarındadır. Hastalarda işitme kaybı tarifinden önce tinnitus vardır ve zamanla işitme kaybı bulunan hastada semptom olarak kalır. İşitme kaybı ve tinnitus çoğunlukla bilateraldir ve yüksek frekanslarda başlar. Ototoksisitenin şiddeti yaşa, cinsiyete, kullanılan ilaç ve dozuna göre kalıcı ya da geçici olabilir (Maru 2018). Aseilsalisilik asit ve kinin grubu ilaçlara bağlı işitme kaybı geçiciyken; aminoglikozidlere bağlı işitme kayıpları kalıcıdır. Özellikle aminoglikozid kullanımının vestibülotoksik etkisi vardır fakat tinnitus ve işitme kaybı semptomları vestibülotoksik etkiyi baskılar. Bunun nedeninin aminoglikozid tedavisi alan hastaların mevcut hastalık durumları nedeniyle genellikle yatak istirahatinde olması ve vestibüler semptomları fark edememeleri olduğu düşünülmüştür (Van Hecke et al. 2017). Vestibülotoksik etki genelde hafif bir dengesizlik tarzındadır ve kompanzasyon ile zaman içinde azalma gözlenir.

İç kulağın toksisitesinde patolojik incelemede nekroz ve apoptoz gözlenir. Hücresel stres sonunda pasif bir süreç olan nekroz meydana gelir. Nekrozda sitoplazmanın vakuolizasyonu, mitokondride ve diğer organellerde ödem ve dilatasyonu ve hepsinin sonucunda da hücre membranının bütünlüğünün bozulması hücrenin dağılması meydana gelir. Apoptoz ise planlanmış hücre ölümüdür ve aktif bir süreçtir. Apoptoz sürecinde nükleer materyalde ve sitoplazmada yoğunlaşma; DNA'da ayrışma ve en sonunda fagositoz sonucunda hücrenin ölümü meydana



gelir, Ototoksositeyi oluşturan temel mekanizma apoptozdur (Elmore 2007). Apoptozda ekstrensek ve intrinsek yolak olarak 2 temel süreç izlenir. Ekstrensek yol, hücre membranındaki tümör nekrozis faktör reseptör (TNF-R) ailesinden reseptörlerin aktivasyonu ve adaptör proteinlerle birlikte pro-kaspaz proteinlerinin uyarılmasıyla meydana gelir. İntrinsik yol ise B hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ailesine ait proteinlerin sitokrom-C salımını ve mitokondriyal geçirgenliği etkileyerek, dolayısıyla transmembran potansiyeli değiştirerek kaspaz yolağını uyarması ile gerçekleşir. Kemoterapötik ilaçların etki mekanizması genelde intrinsek yolak üzerindedir. Fakat yüksek dozlarda kullanımlarında hücrel nekroz gelişir (Elmore 2007, Kayaalp 2009).

## 2.9. DİKLOFENAK SODYUM



Şekil 25: Diklofenak sodyumun açık formülü

Diklofenak sodyum (DS), fenil asetik asit türevi bir non-steroid antiinflamatuvar ilaçtır (NSAİİ). Kimyasal formülü; 2-[2-(2,6-diklorofenil) aminofenil]etanoik asit şeklindedir.(Şekil 25) DS analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkileri bulunan bir farmakolojik ajandır. Romatoid artrit ve osteoartrite karşı aspirin ve indometazine yakın derecede etkindir. Gastroenterolojik sistem mukozasında diğer NSAİİ' ların çoğuna göre daha az irritasyona yol açar. Maksimum plazma değerine 1,5 - 2 saat civarında erişir. %99' undan fazlası geri dönüşlü şekilde plazma albüminlerine bağlanır. Karaciğerde temel olarak hidrosillenerek ve konjugasyonla inaktive hale getirilir. İtrahı böbreklerden ve kısmen de karaciğerden olur. %1 kadarı ise değişmeden idrarla atılır. Geri kalan kısım da feçesle atılır. Eliminasyon

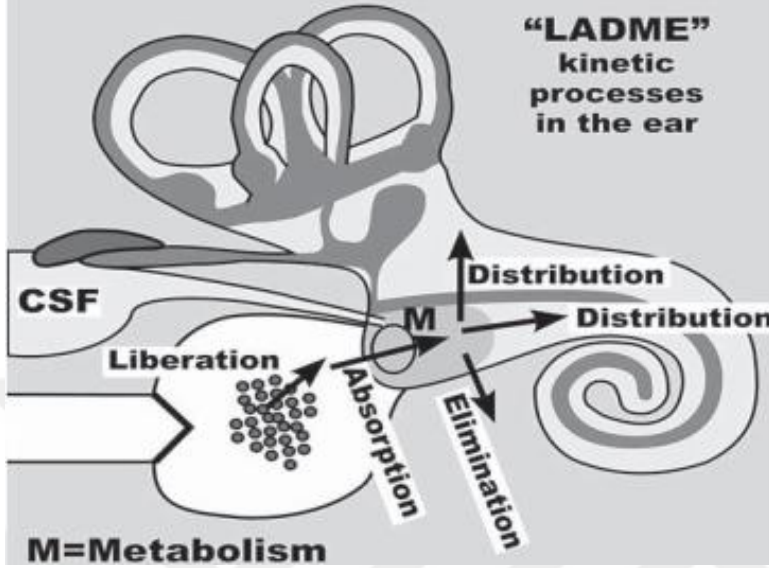
yarılanma ömrü ortalama 1,2 - 1,8 saat civarındadır (Kayaalp 2009). Aynı zamanda bir prostaglandin sentetaz inhibitörü olan DS özellikle romatizmal durumlarda klinik pratikte yaygın kullanılmaktadır. Plazma konsantrasyonu, verilen dozla doğru orantılı olarak artmaktadır. Böbrek ve karaciğer yetmezliklerinde, ilacın farmakokinetik özellikleri değişmez. Benzer şekilde yaşa bağlı olarak; emilim, metabolizma ve itrahında değişiklik izlenmemiştir (Kayaalp 2009).

NSAİİ' ler siklooksijenaz(COX) enzimleri aracılığıyla etkilerini gösterirler. COX-2' nin birçok kanser dokusunda up-regüle olduğu gösterilmiştir. Düzenli olarak aspirin ya da NSAİİ kullanan insanlarda kolorektal kanser gibi bazı kanser tiplerinin sıklığında azalma gösterilmiştir (Schontal et al. 2010, Poonam et al. 2010, Morgan et al. 1996) Literatürde DS' nin radyoprotektif etkisinin olabileceğinden bahsedilmektedir.(Alok et al. 2013). Ayrıca lokal DS kullanımının bazı cilt tümörleri üzerine sitotoksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir.(Brinkhuizen et al. 2016)

## **2.10. İNTRATİMPANİK İLAÇ UYGULAMA VE İÇ KULAĞA GEÇİŞ**

Gürültü maruziyeti, ototoksisite, enfeksiyon, travma gibi nedenlerle koklea hasarlanabilir. Bu hasarın tedavisi ve önlenmesinde birçok madde gösterilmiştir; bu maddelerin etkin dozlarda iç kulağa ulaştırılması önemlidir. 1950'li yıllarda meniye hastalığının tedavisinde ilk defa intratimpanik (İT) tedavi yöntemi kullanılmıştır. Zaman içerisinde meniye hastalığı ve bazı vestibüler patolojilerde İT gentamisin tedavide yerini almıştır. Steroidlerin, monoklonal antikorların ve antibiyotiklerin de İT olarak uygulanmıştır. İT tedaviyle uygulanan ilaçların iç kulaktaki farmakokinetik özellikleri için "LADME" şeması (L: liberation, A: absorption, D: distribution, M: metabolism, E:elimination kullanılır.) (Salt and Plontke 2009)(Şekil 26). Bu şemaya göre ilacın uygulanmasından sonra ortamda dağılmasına salınım (Liberation); ilacın uygulanmasını takiben hedef organda dağılımı absorpsiyon olarak isimlendirilir. İntratimpanik uygulamada ilaç yuvarlak pencereden skala timpaniye geçer. İlacın skala timpanide perilenften dağılımı ve endolenf ile dokulara ulaşmasına dağılım(Distribution); ilacın aktif metabolitleriyle birlikte vücuttan

uzaklaştırılmasına kadar geçen reaksiyonlar da eliminasyon(Elimination) olarak isimlendirilir.



Şekil 26: LADME şemasına göre intratimpanik tedavi( Salt and Plontke 2009)

İlacın skala timpanideki perilenfe hedeflenen dozda ve hızla gönderilebilmesi için yapılmış olan çalışmalarda en etkili mekanizmanın perilenfteki pasif olduğu gösterilmiştir. Etkili dozun belirlenmesinde ise yapılan çalışmalarda tek doz İT tedavi uygulandığında ilacın koklea bazal bölümüne ulaştığı; ancak tekrarlayan uygulamalarda kokleanın tamamına ilacın dağılabildiği gösterilmiştir (Wagner et al. 2005) Ayrıca ilacın İT uygulama ile orta kulağa verilmesi sonrasında emilimin yalnızca yuvarlak pencereden değil, aynı zamanda oval pencereden veya otik kapsülden de pasif diffüzyon ile meydana geldiği düşünülmektedir. Rat ve Guinea Pig cinsi kobaylarda otik kapsül insandan farklı olarak ince ve ossifikasyonu daha zayıftır. Bu sayede orta kulağı tam dolduracak kadar verilen İT uygulamalarda ilaç otik kapsülden direk olarak koklea apeksine absorbe edilir ve bunun sonucunda rat ve kobaylarda İT tedavi sonrasında koklea apeksindeki ilaç konsantrasyonu insandan farklı olmaktadır.(Mikulec et al. 2009)

Bir ilacın lokal olarak iç kulak etkilerinin incelenebilmesi için öncelikle ilacın yuvarlak pencere membranından geçebiliyor olması gereklidir. Kokleanın apeks

bölgesine kadar ilacın etki etmesi isteniyorsa tek doz İT uygulama yerine tekraryalan İT uygulanmalıdır. Kokleanın bazal ya da apikal bölgesindeki ilaç konsantrasyonunu etkileyen faktör olarak ilacın boyutu, elektriksel yapısı ya da hidrofilik özelliği haricinde en önemli faktör yuvarlak pencere membranıyla temasta kaldığı süredir ve ilaç konsantrasyonu temas süresi ile doğru orantılıdır.(Plontke et al. 2007)



### **3.GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SÜDETAM), Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınarak, 08.05.2019– 20.08.2020 tarihlerinde Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin 2019-7-25-78 nolu Tıpta Uzmanlık Proje desteğiyle gerçekleştirildi. Çalışma 5199 numaralı “ Hayvanları Koruma Kanunu ” ile Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı' nın ilgili yönetmeliklerine uyularak gerçekleştirildi.

#### **3.1.DENEY HAYVANLARI VE ÇALIŞMA GRUPLARI**

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi'nden (SÜDETAM) temin edilen olan yaklaşık 220-250 gram ağırlığındaki normal timpanik membrana ve normal bıyık hareketleri ve göz kırpmaya refleksine sahip 35 yetişkin dişi Wistar Albino rat deney için kullanıldı. Denek sayıları belirlenirken G\*Power 3,1 (Faul, Erdfelder, Lang, & Buchner, 2007) programı ile güç analizi hesaplanmasından yararlanıldı. Ototoksisite çalışması için 3 grupta 7'şer tane rat ile çalışılırken; nörotoksisite çalışması için 2 grupta 7'şer rat çalışmaya dâhil edildi. Ratlar hayvan refahı gözetilerek 12 saatlik gündüz - gece sikluslarında,  $21 \pm 1$  °C ortam sıcaklığında, yiyecek ve suya serbest şekilde erişebildikleri uygun şartlarda barındırıldı. Tüm çalışma boyunca ortam gürültüsünün 50 dB altında olmasına özen gösterildi.

Deney grupları aşağıda belirtildiği gibidir:

Grup I (Pozitif Kontrol, n=7): Bu gruptaki ratlara ototoksik etkisi bilinen Gentamisin (40 mg/ml) intratimpanik olarak uygulandı.

Grup II (Negatif Kontrol, n=7): Bu grupta ototoksik etkinliği olmayan salin (0,09 NaCl) solüsyonu pozitif kontrol grubu ile aynı şekilde intratimpanik olarak uygulandı.

Grup III (İnatimpanik Diklofenak sodyum Grubu, n=7): Bu gruptaki ratlara %1'lik intratimpanik diklofenak sodyum 2 günde bir toplam 5 doz uygulandı.

Grup IV (Fasiyal Sinir Çalışma Grubu, n=7): Bu gruptaki ratlara %1'lik diklofenak sodyum solüsyonu emdirilmiş spongostan sol fasiyal sinir ana trunkusu üzerine serilip etkileri incelendi.

Grup V (Fasiyal Sinir Kontrol Grubu, n=7): Bu gruptaki ratlara salin emdirilmiş spongostan sol fasiyal sinir ana trunkusu üzerine serilip etkileri incelendi.

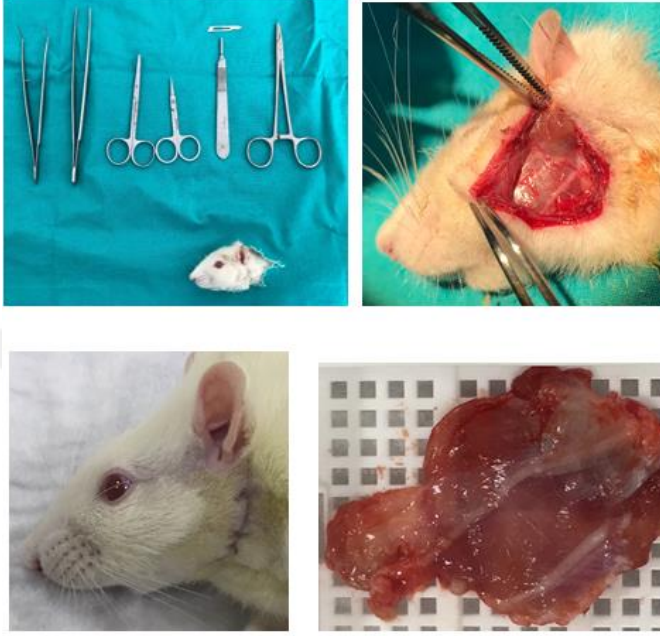
Deney başlangıcında her bir deneğe 70 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketasol ® %10 10 ml, Richter Pharma, Austria) ve 5 mg/kg Ksilazin (Rompun ® %2 25 ml, Bayer, Germany) intraperitoneal anestezi olarak uygulandı. Ototoksisite çalışma gruplarındaki ratlara ameliyat mikroskobu ile muayene edilerek DKY' daki buşon ve yabancı cisimlerden temizlendi ve Tm muayeneleri yapıldı. Tm' da patoloji izlenmeyen ratların DPOAE ve ABR ile Preoperatif işitme düzeyleri kayıt edildi. Ardından ameliyat mikroskobu altında sağ timpanik membran anteroinferior kadrana 27 Gauge' lık (0,40 x 40 mm; 2 cc) dental enjektör ile <= %100 konsantrasyondaki (saf) diklofenak sodyum tuzundan(Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) hazırlanan % 1' lik çözelti (DS tuzunun 25 ° C 'da sudaki çözünürlüğü: 21,3 g/L); %0,9 NaCl ve Genta® ampul 40 mg/ml(İ.E.Ulagay İlaç San, Türkiye) İnatimpanik 0,1-0,15 ml yavaş infüzyonla uygulandı. İlaç uygulaması sonrasında denekler derlenme için sağ kulakları üstte kalacak şekilde yan yatırılarak anestezi derinlikleri kafeslerinde kontrol edilip 30 dakika kadar takip edildi. İnatimpanik uygulama gün aşırı toplam 5 doz olacak şekilde yapıldı ve tedavi bitiminden 3 gün sonra (Postoperatif 3.gün) ve 4 hafta sonrasında (Postoperatif 28.gün) olmak üzere her bir grup için ABR ve DPOAE değerleri kayıt edilerek karşılaştırıldı. İşitme kaybının histolojik olarak gösterilebilmesi için ratların ötenazi işlemi sonrasında rat büllaları disseke edilerek üzerlerindeki yumuşak dokuların uzaklaştırılmasından sonra tespit için %10 formaline alındı.(Resim 3)



Resim 3: Diklofenak sodyum tuzu ve intratimpanik enjeksiyonların yapıldığı operasyon mikroskobu ve deney sonunda disseke edilen rat büllası

DS' un fasiyal sinir üzerine nörotoksik etkilerinin incelenebilmesi için 7 rattan oluşan 2 grup meydana getirildi. Her iki gruptaki ratlar 70 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketasol ® %10 10 ml, Richter Pharma, Austria) ve 5 mg/kg Ksilazin (Rompun ® %2 25 ml, Bayer, Germany) intraperitoneal anestezi sonrasında fasiyal sinir fonksiyonunda patoloji olmadığı literatürdekine benzer şekilde pipetle verilen stimulus ile bıyık ve göz kırpma refleksi kontrol edilerek değerlendirildi (Kum and Kulacoglu 2017). Ardından sol aurikula posteriorundan başlayıp anteroinferior yönde fasiyal trunkusa ulaşmayı sağlayacak yaklaşık 2 cm'lik insizyon ile cilt-cilt altı doku disseke edildi ve parotid gland ekartasyonu sonrasında fasiyal sinir ana trunkusu ve dalları görünür hale getirildi. Ardından fasiyal sinir deney grubunda; ototoksisite grubundaki ile aynı dozda ( %1) hazırlanan DS solüsyonu yaklaşık olarak 5x5 mm büyüklüğünde hazırlanan spongostanlara emdirilerek fasiyal sinir ana trunkusu ve distal dalları üzerine yerleştirildi; kontrol grubuna da aynı ebatlarda hazırlanan %0,9' luk serum fizyolojik emdirilmiş spongostan yerleştirildi. İnsizyonlar 4/0 rapid vicryl ile kapatıldı. Derlenme sonrasında kafeslerine alınan ratlar 4 hafta süreyle takip edildi. Ratların takibi süresince bıyık hareketleri, göz kırpma reflekslerindeki değişiklikler sağlam olan sağ tarafla kıyaslanmak suretiyle non-invaziv metodlarla değerlendirilerek kayıt altına alındı. Bıyık hareketleri 1 puan: Hareket yok, 2 puan: Hafif tremor, 3 puan: Artmış tremor, 4 puan: Posteriora normal hareket, 5 puan: Anteriora normal hareket şeklinde skorlandı. Göz kırpma refleksi ise 1 puan: Hareket yok, 2 puan: Hafif kasılma mevcut ancak kapanma yok, 3 puan: %50 kapanma, 4 puan: %75 kapanma, 5 puan: Normal kapanma şeklinde literatürdekine benzer şekilde skorlandı (Kum and Kulacoglu 2017). Ratlar dört haftanın sonunda ötenazi

işlemi sonrasında insizyon hattından disseke edilerek sinir proksimalinden distaldeki dalları da içerecek şekilde disseke edilerek histopatolojik inceleme için çıkarılarak tespit için %10 formalinde 24 saat bekletildikten sonra histopatolojik değerlendirme basamakları uygulandı.(Resim 4)



Resim 4: Ratların fasiyal sinir disseksiyonu ile deney sonunda histolojik inceleme için çıkarılan doku örneği

### 3.2. DİSTORSİYON ÜRÜNÜ OTOAKUSTİK EMİSYON(DPOE) ÖLÇÜMÜ

Ototoksisitenin değerlendirildiği bu çalışmada yüksek frekanslardaki emisyonların incelenmesi için DPOAE kullanılmıştır. DPOAE' lar Madsen (Capella, Denmark) cihazı ile ölçüldü. Rat kulağına probun yerleştirilebilmesi için yenidoğa probu inceltildi ve rat kulağına yerleştirilerek cihazın prob göstergesinde fit duruma geldiği kontrol edilerek cihazın uygun ölçüm pozisyonu ve uygun dalga formunda olduğu görülerek ölçümlere başlandı (Resim 8).

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar için 2F1–F2 frekansları kullanılarak General Diagnostic modunda DPgram kayıtları alındı. DPOAE'lar farklı frekans ve şiddetlerdeki uyarılar kullanılarak ölçüldü. DPgram ölçümünde uyarı şiddetleri olan L1 ve L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB tutuldu ( L1: 65 dB; L2: 55 dB). İki ayrı frekans (f1 ve f2), en güçlü yanıtların alınabileceği  $f2/f1 = 1.22$  olacak şekilde



düzenlendi. DPgram ölçümleri için 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frekansları değerlendirildi.



Resim 5: DPOAE için cihaz probunun rat dış kulak yoluna yerleştirilmesi

### 3.3.İŞİTSEL BEYİN SAPI CEVABI (ABR) ÖLÇÜMLERİ

ABR yanıtları GN Otometrics Chartr EP 200 (GN Otometrics, Denmark) ABR cihazı ile kaydedildi. Kayıt öncesinde ratlara intraperitoneal 70 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketasol ® %10 10 ml, Richter Pharma, Austria) ve 5 mg/kg Ksilazin (Rompun ® %2 25 ml, Bayer, Germany) anestezi uygulanmış ve ses yalıtımlı test odasında kayıtlar alındı. Kayıt esnasında vücut sıcaklıkları korunmuştur. ABR ölçümleri için iğne elektrotlar kullanıldı ve referans elektrot vertekse, aktif elektrot ölçüm yapılan kulağın mastoid bölgesine ve toprak elektrot da dorsuma yerleştirildi ( Resim 6)



Resim 6: ABR ölçümü için elektrotların yerleştirilmesi

Akustik uyarı olarak 1000 Hz ile 8000 Hz frekansları arasında ve 70 dB şiddette uygulanan klik ve tone burst uyarılar verilerek ABR kayıtları alındı. Uyarıların tekrar

oranı 19,3/sn; zaman penceresi 31,3 msn olarak belirlendi. Sinyal averajlama 1000 örnekleme ile alındı. Filtre ise 100-3000 Hz olarak ayarlandı. Stimulusun şiddeti 70dB'den sonra 20 dB düşürülerek dalga konfigürasyonu bozulduğunda 10 dB' lik artışlarla eşikler hesaplandı. II. dalganın son görüldüğü değer eşik olarak belirlendi.

### 3.4. HİSTOLOJİK İNCELEME METODU

Alınan tüm doku örnekleri ışık mikroskopik incelemeler için % 10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna (Formaldehit 100 cc; Çeşme suyu 900 cc; NaH<sub>2</sub>P04. H<sub>2</sub>O4 g; Na<sub>2</sub>HP046.5 g) konuldu ve 24 saat tespit için bekletildi. Tamponlanmış nötral formaldehit ile tespit edilen rat büllalarına ait doku örnekleri dekalsifikasyon amacıyla histolojik inceleme için Shandon TBD-1 Rapid Decalcifier (Thermo Scientific™,UK) dekalsifikasyon solüsyonuna alındı. Günlük dekalsifikasyon solüsyonu değiştirilerek ortalama 7-10 gün dekalsifiye edilen doku örnekleri trimleme işlemini takiben çeşme suyunda yıkandıktan sonra MTP yarı kapalı sistem otomatik doku takip cihazında aşağıdaki doku takip basamaklarından geçirildi ( Tablo 1).

Tablo 1: Doku takip basamakları

SIRA	YAPILAN İŞLEM	SÜRE
1	%70 alkol	1 SAAT
2	%80 alkol	1 SAAT
3	%96 alkol	1 SAAT
4	%96 alkol	1 SAAT
5	%96 alkol	1 SAAT
6	Absolü alkol	1 SAAT
7	Absolu alkol	1 SAAT
8	Absolu alkol	1 SAAT
9	Ksilen	1 SAAT
10	Ksilen	1 SAAT
11	Parafin 1	2 SAAT
12	Parafin 11	2 SAAT

Doku takip işlemleri tamamlanan rat büllaları ve fasiyal sinire ait doku örnekleri parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan Leica RM 2255 marka mikrotom yardımıyla 4-5 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı. Hematoksilen-Eozin(H&E) boyama için ise mikrotom ile alınan kesitler rodajlı lamlara alınarak boyama işlemine kadar kurumak üzere oda sıcaklığında bekletildi. Çıkarılan Doku örnekleri Caspase-3, immün reaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi uygulandı. Bu işlemlerin öncesinde lamlara alınan doku örneklerine deparafinizasyon işleminden geçirilip parafinden kurtarma aşaması yapıldı.

#### **3.4.1. Deparafinizasyon**

Klasik yöntemlerle kesitler deparafinize edildi. Bunun için kesitler bir gece etüvde 59° C' de etüvde bekletildi. Sonraki gün etüvden çıkarılıp oda ısısında soğumaları için beklendi. 3x5 dakika Ksilol'den geçirildi. Sonrasında sırası ile aşağıdaki işlemler uygulandı.

#### **3.4.2. Dehidratasyon**

% 100 etanol 5 dakika

% 96 etanol 3 dakika

% 80 etanol 3 dakika

% 70 etanol 3 dakika

Dehidrasyon işlemi devamında dokulara antijen maskesinin kaldırılması işlemi yapıldı. Doku örneklerini taşıyan lamlar, Sitrat Tamponu Solüsyonu (Ph:6.0) içine aktarıldı ve mikrodalga fırında 95-100 °C' de yaklaşık 20 dakika ısıl işlem uygulandı. Lamlar mikro dalga fırından çıkarılıp soğumaları için 20 dakika bekletildi. Soğuma işleminden sonra doku örneklerinin etrafı hidrofobik kalem ile işaretlendi boyama yapılacak alanlar belirlendi. Bu işlemi takiben doku örnekleri 3x5 dakika Phosphate Buffered Salin(PBS) ile yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra endojen peroksit aktivesi için blokaj işlemi yapıldı.

### 3.4.3. Blokaj

Non-spesifik antijenik bölgeleri bloke etmek için yapılan basamaktır. Doku örnekleri üzerine otomatik mikropipetle % 3 lük Hydrogen Peroxide Blocking Reagent(ab64218)' dan aktarılıp 10 dakika beklendi. Bu süre sonunda oda ısısında doku örnekleri 3x5 dakika PBS ile yıkandı.

Yıkama işleminden sonra dokuların üzerindeki sıvı dikkatli bir şekilde kurutma kağıdı ile alındı. Sıvısı alınan dokularda zemin boyasını engellemek için Ultra V Block solüsyonu (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) ile 15 dakika işlemden geçirildi. Bu işlem sonrasında doku üzerindeki sıvı kurutma kağıdı ile dikkatlice alındı. Sonrasında primer antikor (Caspase-3), 1/400 dilüsyonu dikkatlice hazırlanıp, doku üzerine mikropipet ile aktarılıp yaklaşık 60 dakika oda ısısında ve nemli ortamda inkübe edildi. Primer antikor uygulamasından sonra lamalar 3x5 dakika PBS ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra 13 dakika Biotinlated Goat anti-Rabbit (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) sekonder antikoru uygulandı. Devamında lamalar 3x5 dakika PBS ile yıkama işlemi yapıldı. İşlem devamında 15 dakika Streptavidin Peroxidase (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) uygulandı. Bu işlemin devamında 3x5 dakika PBS ile 10 dakika yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra 10 dakika DAB/kromojen (LabVision marka AEC Substrat System) ile karanlık ortamda dokulara uygulandı (20ml AEC kromojen + 1,5 ml AEC substrat iyice karıştırılarak). Ardından doku örnekleri 3x5 dakika distile su ile yıkandı. Doku örnekleri Mayers H&E' de 40 saniye bekletildi ve takibinde akan musluk suyunda 3 dakika yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra doku örnekleri, sırası ile %70 alkolde 30 saniye, % 80 alkolde 30 saniye, %96 lık alkolde 30 saniye, %100 lük alkolde 1 dakika ve son olarak 2x1 dakika ksilene aktarıldı. Ksilenden sonra preparatlar kurulanıp kapatıcı (ScyTek marka Aqueous Mounting Medium) ile kapatıldı. H&E boyama basamakları tamamlandıktan sonra, lamalar entellan ile kapatılarak mikroskopta incelenecek duruma hazır hale getirildi (Tablo 2).

Tablo 2: Hematoksilen -Eosin Boyama Yöntemi

Deparafinizasyon	30 dakika(Etüvde)
KSİLOL-1	2 DAKİKA
KSİLOL-2	2 DAKİKA
% 100 ALKOL -1	1 DAKİKA
% 100 ALKOL-2	1 DAKİKA
%96 ALKOL-1	1 DAKİKA
%96 ALKOL-2	1 DAKİKA
AKAN SU	3 DAKİKA
HEMA TOKSİLEN	3 DAKİKA
AKAN SU	3 DAKİKA
ASİT ALKOL	2*2 SANİYE
AKAN SU	3 DAKİKA
%80 ALKOL	1.5 DAKİKA
EOSİN	20 SANİYE
%96 ALKOL	2 DAKİKA
%96 ALKOL	2 DAKİKA
% 100 ALKOL	2 DAKİKA
% 100 ALKOL	2 DAKİKA
KSİLOL	2 DAKİKA
KSİLOL	2 DAKİKA

#### 3.4.4. H&E Boyama Değerlendirmesi

Standart doku takibi yapılan dokular H&E ile boyandıktan sonra iç kulak kesitleri ve fasiyal sinir örnekleri aşağıdaki parametler göz önüne alınarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Histopatolojik örneklerde koklea kesitlerinin değerlendirilmesi;

Hücrel dejenerasyon, Sitoplazmik vakuolizasyon, hücrel dilatasyon ayrı ayrı semikantitatif bir yöntemle skorlandı. Skorlama için 0 ile 4 arasında değişen beş

puanlık ölçek (0: Normal; 1: Hafif; 2: Orta; 3: Orta - Şiddetli Ve 4: Şiddetli) kullanıldı.

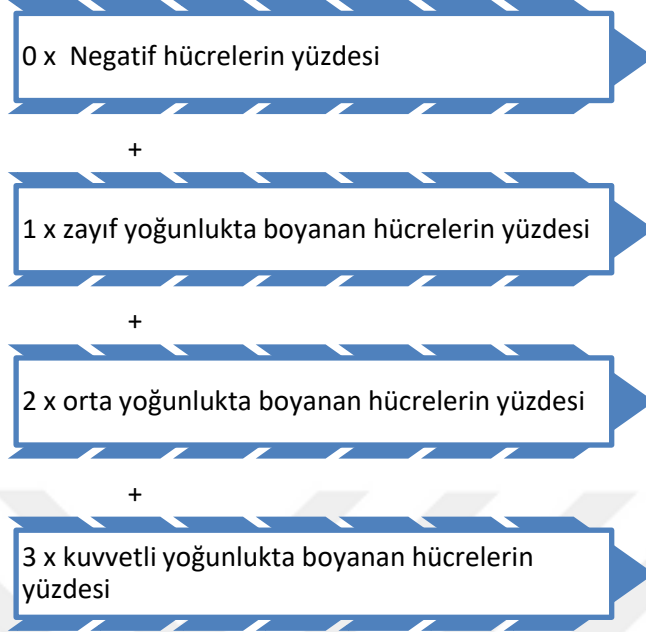
Histopatolojik örneklerde fasiyal sinir değerlendirilmesi ;

- 1.Granülasyon Dokusu: Var: 1; Yok: 0,
- 2.İnflamasyon: Yok: 0; Hafif: 1+; Orta: 2+; Geniş: 3+; Yaygın İnflamasyon: 4+
- 3.Perinöriyum Kalınlığı: Normal: 0; İnce: 1; Kalın: 2,
- 4.Sinir Organizasyonu: Düzenli: 0; Düzensiz: 1,
- 5.Akson - Myelin Yapıları: Normal: 0; Ödemli: 1,
- 6.Schwann Hücre Nükleus Boyutu Ve Yerleşimi: Normal: 0; Düzensiz: 1

#### **3.4.5. İmmünohistokimya Boyama Değerlendirilmesi**

Rastgele seçilen beş alanda boyanma derecesi skorlaması yapıldı ve skoru en yüksek olan alan tespit edildi. Her X40 büyütme alanında en az 100 hücre işaretlendi. Kesitlerde, boyanan hücrelerin yüzdesi ve boyanma derecesi kriter olarak alındı. Semikantitatif bir yöntemle, skorlama yapıldı.(De Freitas et al. 2009) Boyanma derecesi: 0 (boyanma yok), +1(zayıf boyanma), +2 (orta boyanma), +3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi. Her kesit için immünohistokimyasal boyanma skorlaması, H-SCORE adı verilen ve  $(I \times PC)$ , (I: boyanmanın derecesi, PC: her derecede boyanan hücrelerin yüzdesi) formülüyle hesaplanan bir skorlama algoritması kullanılarak hesaplandı (Knodell et al. 1981, Fedchenko and Reifernath 2014) ( Şekil 27).

### H SKORLAMA SİSTEMİ



Şekil 27: H- Skoru hesabı

#### 3.4.6. Fotoğraflama Yöntemi

H&E ve Caspase-3 ile boyanmış preparatlar üzerinde immünohistokimya, sitoloji ve histopatoloji inceleme için 40x,100x,200x ve 400x büyütmede incelemeler yapıldı. Tüm değerlendirmeler Nikon Eclipse-Nİ mikroskopla (Nikon Instruments Inc., USA) 400x büyütmede 5 alanda inceleme yapılarak gerçekleştirildi. Görüntüler, aynı mikroskopik ışık yoğunluğu, iris diyaframı ve kondansatör pozisyonu ayarlarında görüntü fotoğraf çekimi yapıldı ve görüntüler ekli bilgisayara JPEG 2000 formatında kaydedildi. Görüntülemesi yapılan resimler Nikon DS-Fi2 kamera (Nikon Instruments Inc., USA) kullanılarak kaydedildi ve dijitalleştirildi. Daha sonra, doku preparatlarına dönüştürülmüş dijital resimler NIS-Elements BR 3.0, (Nikon Instruments Inc., USA) kullanılarak dijital görüntü analizine tabi tutuldu. Her ölçüm seansından önce kalibrasyon yapıldı. Seçilen çekirdeklerin görüntüleri, aynı yakınlaştırma ayarlarında bilgisayarın faresi kullanılarak ana hatlarıyla çizildi. Bu ana hatlar otomatik olarak geliştirildi ve otomatik ölçümler NIS Element yazılımı tarafından yapıldı. 4.00 1 piksele (kalibrasyonla) bir mesafe atandı ve farklı görüntülerin nesnelere karşılaştırılarak otomatik ölçüm yapıldı. Yoğunluk, parlaklık

ve yoğunluk ölçümü için yazılım tarafından görüntü renk katmanı kullanılmış ve piksel cinsinden ölçüm yapılmıştır.

Çalışmanın ototoksisite kısmındaki en önemli sınırlılık çalışmada kullanılan ABR cihazının rat eşiklerinin tespitinde daha yüksek frekansları tespit edememesiydi. Bunun haricinde nörotoksisite değerlendirmesinde elektrofizyolojik testlerin olmayışı en önemli sınırlılıklarımızdır.

### 3.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Değişkenlerin dağılımının normal olup olmadığını değerlendirmek için Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk testi ve grafiksel değerlendirmeler kullanıldı. Buna göre normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında iki bağımsız örneklem t testi, normal dağılım göstermeyenlerde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sürekli değişkenler normal dağılım gösteriyorsa ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılım göstermiyorsa ortanca [interquartile range] değer olarak sunuldu. Normal dağılım gösteren üç ve üzeri grupların karşılaştırmalarında Oneway ANOVA testi kullanıldı. ANOVA sonucu anlamlı bulunduğunda Levene varyans homojenliğine göre ikili karşılaştırmalarında Bonferroni ve Tamhane testi kullanıldı. Preoperatif; Postoperatif 3. gün ve Postoperatif 28. gün ölçümleri karşılaştırmak için normal dağılım gösterenlerde tekrarlayan ölçümlerde ANOVA; ikili karşılaştırmalarında ise Bonferroni testi kullanıldı. Preoperatif; Postoperatif 3. gün ve Postoperatif 28. gün ölçümleri karşılaştırmak için normal dağılım göstermeyen değişkenlerin karşılaştırmalarında Friedman test; ikili karşılaştırmalarında ise Wilcoxon Signed Ranks test kullanıldı. Kategorik değişkenler sayı (n) ve yüzde (%) olarak sunuldu. Kategorik veri karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanılmış olup; belirlenen frekans  $<5$  olduğunda Fisher's Exact test uygulandı. P değeri  $<0.05$  anlamlı kabul edildi. İstatistik analizler ticari yazılım kullanılarak yapıldı (IBM SPSS Statistics 22, SPSS inc. an IBM Co. Somers, NY).



## 4.BULGULAR

### 4.1. OTOTOKSİSİTENİN ODYOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmamızda Diklofenak sodyum çalışma grubu, gentamisin pozitif kontrol grubu ve serum fizyolojik uygulanan negatif kontrol grubu olmak üzere 3 grup arasında karşılaştırma yapıldı. Ototoksisite değerlendirilmesi için odyolojik yöntemlerden DPOAE ve ABR kullanılmıştır. Ototoksisitenin histolojik değerlendirilmesi için H&E boyama ve immunhistokimya incelemeye gerçekleştirildi.

#### 4.1.1.DPOAE Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Her üç grubun DPOAE ölçümleri preoperatif, Postoperatif 3. gün ve Postoperatif 28. gün ölçümleri yapıldı ve her bir frekans için ortalama değerleri bulundu. Preoperatif gruplar arasında 1 kHz, 1,5 kHz, 2 kHz, 3 kHz, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz frekanslarda yapılan ölçümlerde 3 grup arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ) (Tablo 3). Postoperatif 3. gün tüm frekans ölçümlerinin karşılaştırılmasında 3 grup arasında anlamlı fark varken ( $p < 0.05$ ) posthoc analizde ikili karşılaştırmalarda diklofenak sodyum ve Gentamisin grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ) (Tablo 4). Postoperatif 28. gün karşılaştırmasında ise 3 grup arasında anlamlı fark tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Posthoc analizde 1 kHz ve 1,5 kHz' de diklofenak sodyum ve serum fizyolojik gruplarında anlamlı fark yokken ( $p \geq 0.05$ ) gentamisin grubu ile aralarında istatistiksel anlamlı fark vardı ( $p < 0.05$ ). Diğer frekanslarda ise tüm ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ) (Tablo 5).

Her üç grubun zamanla DPOAE değerlerindeki değişim grafik ve tablo olarak sunulmuştur (Tablo 6). Serum fizyolojik uygulanan grupta postoperatif 3. günde düşüş gözlemlendi. Aynı zamanda preoperatif ve postoperatif 28. günde emisyon değerlerinin benzer olduğu görülmektedir (Şekil 28). Diklofenak sodyum uygulanan grupta 3. günde emisyon değerlerinin en düşük seyrettiği görüldü; preoperatif

emisyon değerlerine göre postoperatif 3. ve postoperatif 28. günde emisyon değerlerinde düşüş gözlemlendi. (Şekil 29). Gentamisin grubunda ise emisyon değerlerinin zamanla düştüğü görülmektedir (Şekil 30 ).

Tablo 3: Preoperatif DPOAE ölçümlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması DS: Diklofenak sodyum, G:Gentamisin, SF: Serum fizyolojik, (Sürekli değişkenler normal dağılım gösterdiği için ortalama  $\pm$  standart sapma olarak sunuldu.)

Frekanslar	Preoperatif			p
	G	DS	SF	
1kHz	-12,94 $\pm$ 1,32	-11,51 $\pm$ 5,45	-10,84 $\pm$ 5,46	0,68
1,5 kHz	-8,22 $\pm$ 2,86	-4,10 $\pm$ 5,42	-1,75 $\pm$ 9,18	0,18
2 kHz	3,71 $\pm$ 4,01	3,12 $\pm$ 4,09	6,85 $\pm$ 3,25	0,17
3 kHz	10,67 $\pm$ 4,50	9,30 $\pm$ 2,32	13,05 $\pm$ 1,71	0,098
4 kHz	16,01 $\pm$ 2,50	14,71 $\pm$ 2,01	16,84 $\pm$ 1,58	0,18
6 kHz	18,31 $\pm$ 4,17	17,64 $\pm$ 3,42	21,32 $\pm$ 2,86	0,14
8 kHz	22,71 $\pm$ 2,79	22,92 $\pm$ 6,83	27,47 $\pm$ 3,33	0,12

Tablo 4: Postoperatif 3. Gün DPOAE ölçümlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması DS: Diklofenak sodyum, G:Gentamisin, SF: Serum fizyolojik (Sürekli değişkenler normal dağılım gösterdiği için ortalama  $\pm$  standart sapma olarak sunuldu.) \*  $p < 0.05$

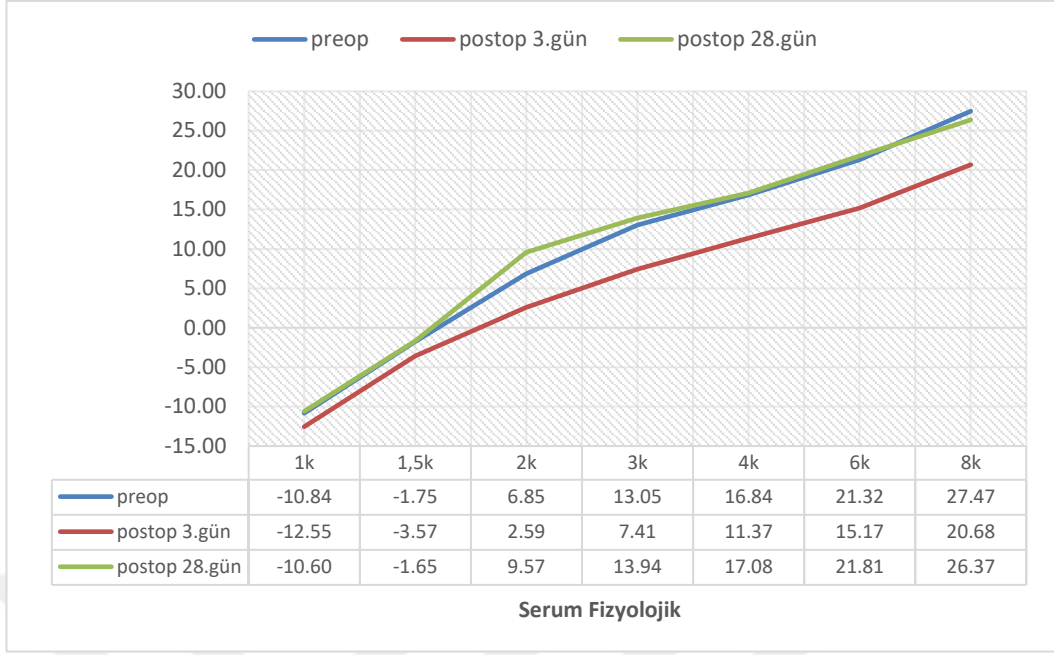
Frekanslar	Postoperatif 3. Gün			p
	G	DS	SF	
1 kHz	-20,07 $\pm$ 3,53	-14,14 $\pm$ 3,45	-12,55 $\pm$ 4,97	0,007*
1,5 kHz	-17,24 $\pm$ 2,05	-10,31 $\pm$ 2,88	-3,57 $\pm$ 6,38	0,00*
2 kHz	-14,11 $\pm$ 1,30	-7,50 $\pm$ 2,37	2,58 $\pm$ 5,32	0,00*
3 kHz	-7,50 $\pm$ 2,46	-1,84 $\pm$ 3,50	7,41 $\pm$ 2,94	0,00*
4 kHz	-,40 $\pm$ 4,72	3,90 $\pm$ 1,40	11,37 $\pm$ 3,28	0,00*
6 kHz	5,52 $\pm$ 2,41	7,24 $\pm$ 2,18	15,17 $\pm$ 3,17	0,00*
8 kHz	9,67 $\pm$ 3,54	11,64 $\pm$ 2,27	20,68 $\pm$ 4,74	0,00*

Tablo 5: Postoperatif 28. gün DPOAE ölçümlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması DS: Diklofenak sodyum, G:Gentamisin, SF: Serum fizyolojik (Sürekli değişkenler normal dağılım gösterdiği için ortalama  $\pm$  standart sapma olarak sunuldu.) \* p <0.05

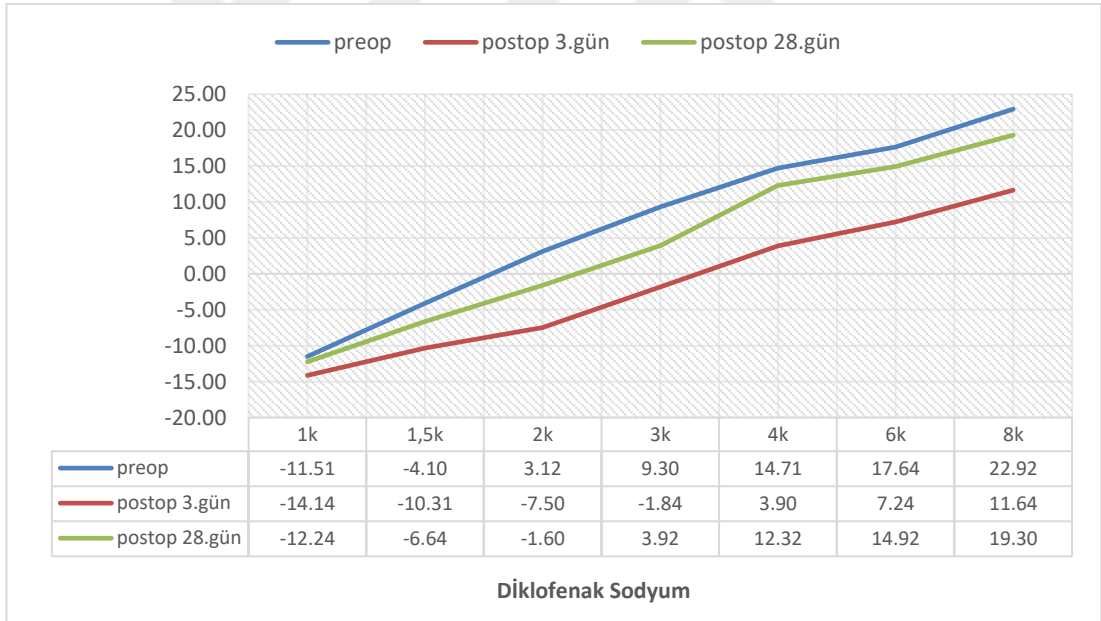
Frekanslar	Postoperatif 28. Gün			p
	G	DS	SF	
1 kHz	-22,27 $\pm$ 3,44	-12,24 $\pm$ 3,19	-10,60 $\pm$ 5,76	0,00*
1,5 kHz	-19,37 $\pm$ 4,58	-6,64 $\pm$ 2,88	-1,65 $\pm$ 8,74	0,00*
2 kHz	-16,87 $\pm$ 3,49	-1,60 $\pm$ 3,34	9,57 $\pm$ 4,93	0,00*
3 kHz	-13,88 $\pm$ 2,11	3,92 $\pm$ 1,21	13,94 $\pm$ 1,64	0,00*
4 kHz	-10,55 $\pm$ 2,43	12,32 $\pm$ 2,78	17,08 $\pm$ 1,72	0,00*
6 kHz	-6,78 $\pm$ 3,17	14,92 $\pm$ 2,30	21,81 $\pm$ 3,24	0,00*
8 kHz	-3,14 $\pm$ 4,17	19,30 $\pm$ 3,67	26,37 $\pm$ 3,14	0,00*

Tablo 6: Tüm grupların kendi içinde zamanla DPOAE değerlerindeki değişim (DS: Diklofenak sodyum ; G:Gentamisin; SF: Serum Fizyolojik(Sürekli değişkenler normal dağılım gösterdiği için ortalama  $\pm$  standart sapma olarak sunuldu.) \*  $p<0.05$

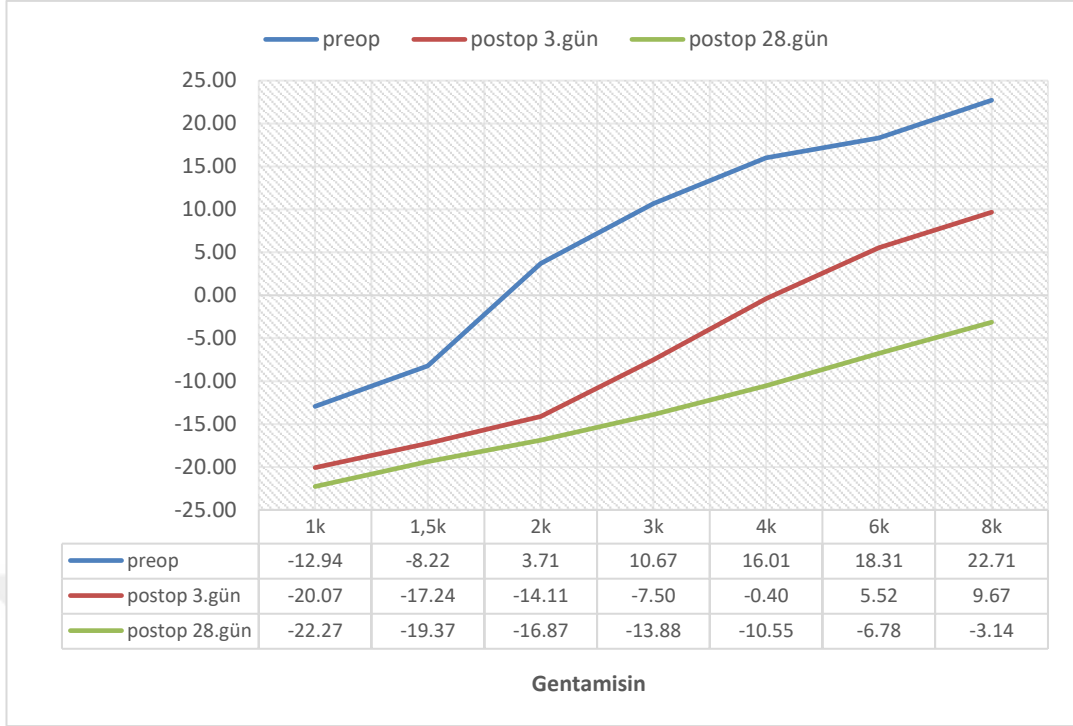
Gruplar	Preoperatif	Postoperatif 3.gün	Postoperatif 28.gün	p	
G	1khz	-12,94 $\pm$ 1,32	20,07 $\pm$ 3,53	-22,27 $\pm$ 3,44	0,00*
	1,5khz	-8,22 $\pm$ 2,86	-17,24 $\pm$ 2,05	-19,37 $\pm$ 4,58	0,00*
	2khz	3,71 $\pm$ 4,01	-14,11 $\pm$ 1,30	-16,87 $\pm$ 3,49	0,00*
	3khz	10,67 $\pm$ 4,50	-7,50 $\pm$ 2,46	-13,88 $\pm$ 2,11	0,00*
	4khz	16,01 $\pm$ 2,50	-,40 $\pm$ 4,72	-10,55 $\pm$ 2,43	0,00*
	6khz	18,31 $\pm$ 4,17	5,52 $\pm$ 2,41	-6,78 $\pm$ 3,17	0,00*
	8kz	22,71 $\pm$ 2,79	9,67 $\pm$ 3,54	-3,14 $\pm$ 4,17	0,00*
	DS	1khz	-11,51 $\pm$ 5,45	-14,14 $\pm$ 3,45	-12,24 $\pm$ 3,19
1,5khz		-4,10 $\pm$ 5,42	-10,31 $\pm$ 2,88	-6,64 $\pm$ 2,88	0,00*
2khz		3,12 $\pm$ 4,09	-7,50 $\pm$ 2,37	-1,60 $\pm$ 3,34	0,00*
3khz		9,30 $\pm$ 2,32	-1,84 $\pm$ 3,50	3,92 $\pm$ 1,21	0,00*
4khz		14,71 $\pm$ 2,01	3,90 $\pm$ 1,40	12,32 $\pm$ 2,78	0,00*
6khz		17,64 $\pm$ 3,42	7,24 $\pm$ 2,18	14,92 $\pm$ 2,30	0,00*
8kz		22,92 $\pm$ 6,83	11,64 $\pm$ 2,27	19,30 $\pm$ 3,67	0,00*
SF		1khz	-10,84 $\pm$ 5,46	-12,55 $\pm$ 4,97	-10,60 $\pm$ 5,76
	1,5khz	-1,75 $\pm$ 9,18	-3,57 $\pm$ 6,38	-1,65 $\pm$ 8,74	0,38
	2khz	6,85 $\pm$ 3,25	2,58 $\pm$ 5,32	9,57 $\pm$ 4,93	0,00*
	3khz	13,05 $\pm$ 1,71	7,41 $\pm$ 2,94	13,94 $\pm$ 1,64	0,00*
	4khz	16,84 $\pm$ 1,58	11,37 $\pm$ 3,28	17,08 $\pm$ 1,72	0,00*
	6khz	21,32 $\pm$ 2,86	15,17 $\pm$ 3,17	21,81 $\pm$ 3,24	0,03*
	8kz	27,47 $\pm$ 3,33	20,68 $\pm$ 4,74	26,37 $\pm$ 3,14	0,00*



Şekil 28: Serum fizyolojik uygulanan grupta zamanla DPOAE değerlerinin değişimi



Şekil 29: Diklofenak sodyum grubunda zamanla DPOAE değerlerinin değişimi



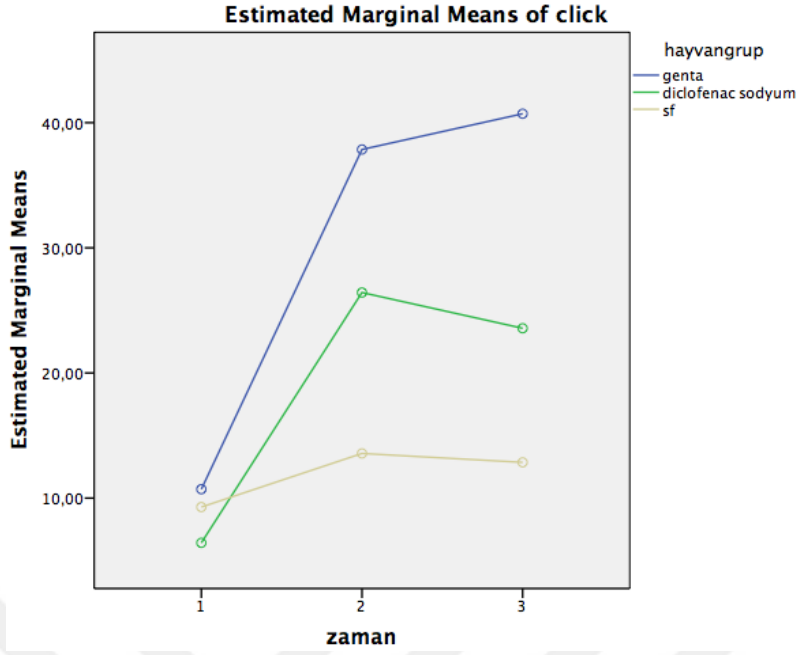
Şekil 30: Gentamisin uygulanan grupta zamanla DPOAE değerlerinin değişimi

#### 4.1.2.ABR Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

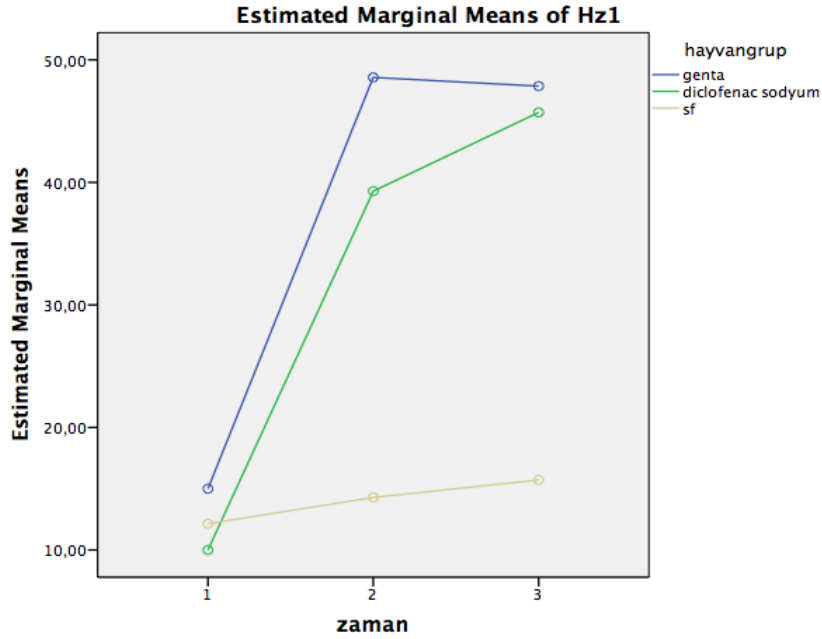
Her üç grupta klik, 1 kHz ve 8 kHz’ deki ölçümlerin preoperatif, postoperatif 3. gün ve postoperatif 28. günde ortalamaları bulundu ve karşılaştırılması yapıldı. Buna göre; gentamisin(G) grubunda klik, 1 kHz, 8 kHz’ de postoperatif 3. ve postoperatif 28. günde preoperatif değere göre eşiklerde anlamlı yükselme görüldü ( $p < 0.05$ ). postoperatif 3. ve postoperatif 28. günde eşikler arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ). Diklofenak sodyum (DS) grubunda da aynı şekilde klik, 1 kHz, 8kHz’ de postoperatif 3. ve postoperatif 28. günde preoperatif değere göre eşiklerde anlamlı yükselme görüldü ( $p < 0.05$ ). postoperatif 3. ve postoperatif 28. günde eşikler arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ). Serum fizyolojik (SF) grubunda ise klik, 1 kHz, 8 kHz de zamanla anlamlı değişim görülmedi ( $p \geq 0.05$ .) (Tablo 7). ABR’ de her üç frekansta ayrı ayrı gruplardaki eşik ortalamalarının değişimi grafiklerde gösterildi (Şekil 31, Şekil 32, Şekil 33).

Tablo 7: ABR ölçümlerinin zamanla değişimi. G: Gentamisin, DS: Diklofenak sodyum, SF: Serum fizyolojik, (Sürekli değişkenler normal dağılım gösteriyorsa ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılım göstermiyorsa ortanca [interquartile range] değer olarak sunuldu.) \* p <0.05

Gruplar		Preoperatif	Postoperatif 3.gün	Postoperatif 28.gün	p
G	klik	10,71 $\pm$ 3,45	37,85 $\pm$ 6,98	40,71 $\pm$ 6,07	0,00*
	1 kHz	15[0]	50[10]	50[10]	0,002*
	8 kHz	10[5]	50[20]	50[20]	0,004*
DS	klik	5[5]	30[15]	25[15]	0,003*
	1 kHz	10[5]	40[15]	50[10]	0,001*
	8 kHz	13,57 $\pm$ 6,26	37,14 $\pm$ 19,97	40,71 $\pm$ 10,96	0,00*
SF	klik	10[10]	10[20]	10[10]	0,368
	1 kHz	10[10]	10[10]	20[10]	0,17
	8 kHz	10[15]	20[10]	10[10]	0,16

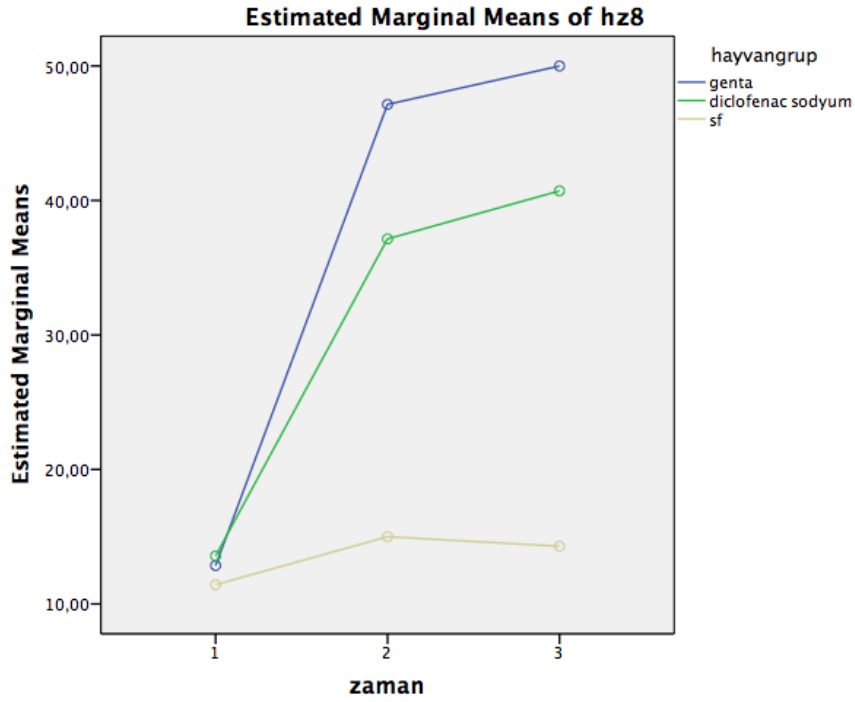


Şekil 31: Klik uyarıda zamanla grup eşiklerindeki değişim (1: Preoperatif eşik, 2: Postoperatif 3. gün eşik, 3: Postoperatif 28. gün eşik; Mavi çizgi: Gentamisin, Yeşil çizgi: Diklofenak sodyum, Sarı çizgi: Serum fizyolojik değerlerini göstermektedir.)



Şekil 32: 1 kHz' de zamanla grup eşiklerindeki değişim(1: Preoperatif eşik, 2: Postoperatif 3. gün eşik, 3: Postoperatif 28. gün eşik; Mavi çizgi: Gentamisin, Yeşil çizgi: Diklofenak sodyum, Sarı çizgi: Serum fizyolojik değerlerini göstermektedir.)



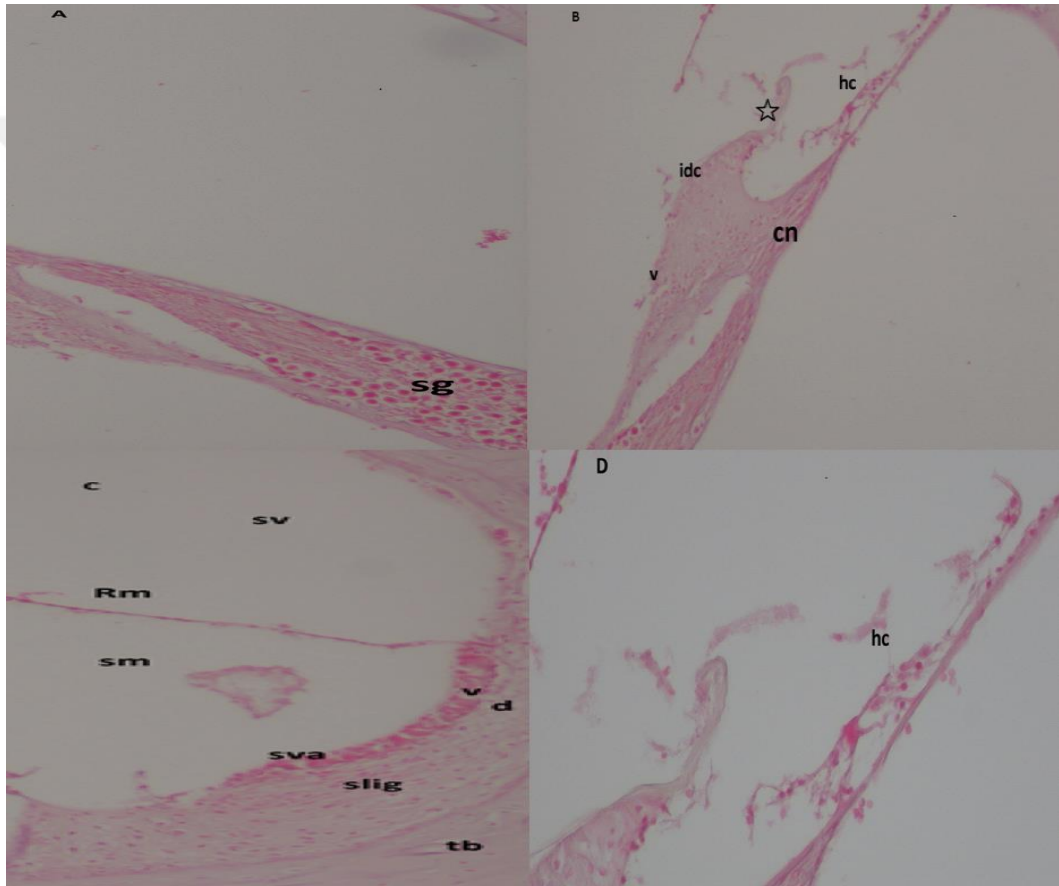


Şekil 33: 8 kHz' de zamanla grup eşiklerindeki değişim(1: Preoperatif eşik, 2: Postoperatif 3. gün eşik, 3: Postoperatif 28. gün eşik; Mavi çizgi: Gentamisin, Yeşil çizgi: Diklofenak sodyum, Sarı çizgi: Serum fizyolojik değerlerini göstermektedir.

#### 4.2. OTOTOKSİSİTENİN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

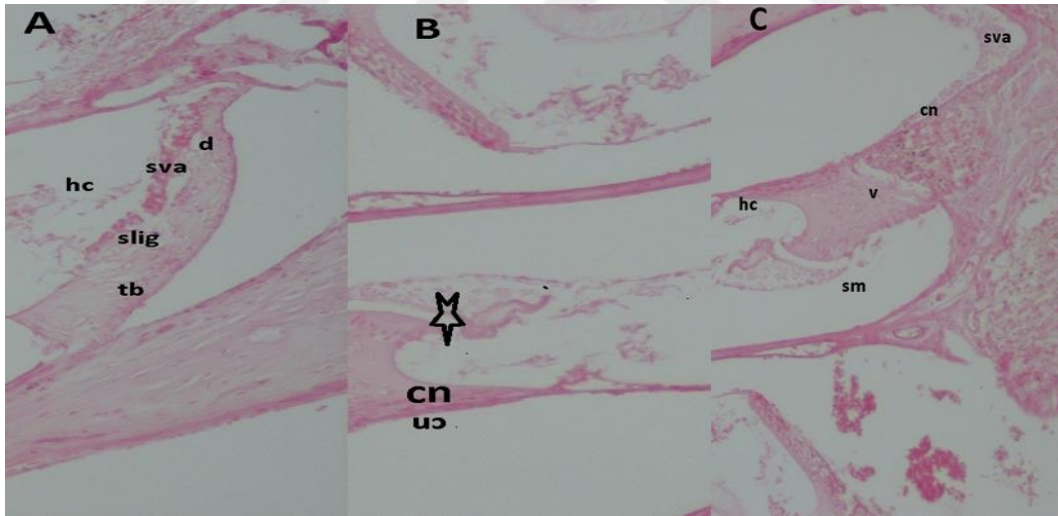
Diklofenak sodyum grubu histolojik açıdan serum fizyolojik grubuyla kıyaslandığında dejeneratif bulgular gözlemlendi, fakat bu bulgular gentamisin grubu kadar kuvvetli değildi. Diklofenak sodyum grubunun genel ışık mikroskopik değerlendirmesi dokunun yapısının bir miktar değişim gösterdiği yönündeydi. Sitoplazmik vakuolizasyon ve dejeneratif hücre ayrılması hafif - orta derecede gözlemlendi. Korti organı bütünlüğünü korumuştur, iç ve dış tüylü hücrelerinin hücre gövdesinde hafif şişme gözlemlendi. Hücre çekirdeklerinin hafif asidofilik olduğu gözlemlendi ve sitoplazmalarında bazı alanlarda vakuolizasyon görüldü. Tektoryal membran ile reissner membranı genel anlamda normal morfolojik yapı gösterdi. Destekleyici hücrelerin çekirdeğinde bazofilik boyanmada artış, sitoplazmalarında

vakuolizasyon gözlemlendi. spiral limbus bölgesinde hafif vakuolizasyon mevcuttu. Stria vaskularis ve spiral ligamenti oluşturan hücreler dizilimi açısından kontrol grubuna göre benzer yapı gösterdi ve çekirdek görünümü genel itibariyle korunmuştu. Stria vaskularis ve spiral gangliyonunda bazı sahalarda vakuolizasyon ve dejenere olmuş hücreler görüldü. Spiral ganglion ve koklear sinir liflerinde pozitif kontrol grubuna yakın dejenerasyon gösterdi. Bazı alanlarda hafif - orta vakuolizasyon ve aksonal dejenerasyon tespit edildi (Resim 7 ).



Resim 7: Diklofenak sodyum grubunun hemotoksilen eosin boyama ile mikroskopik görüntüsü (A-B-C-D) Rm: Reissner membranı; Sv: skala vestibüli; Sm: skala media; St: skala timpani; Slig: spiral ligament; idc: İnterdental hücreler; d: dejenerasyon; v: vakuolizasyon; hc: iç tüylü hücre; Yıldız işareti: tektoriyal membran; Sva: stria vaskularis Cn, koklear sinir; Sva, stria vaskularis; Slig, spiral ligament; Sg: spiral gangliyon; tb: Temporal kemik (H&E boyama, ×20)

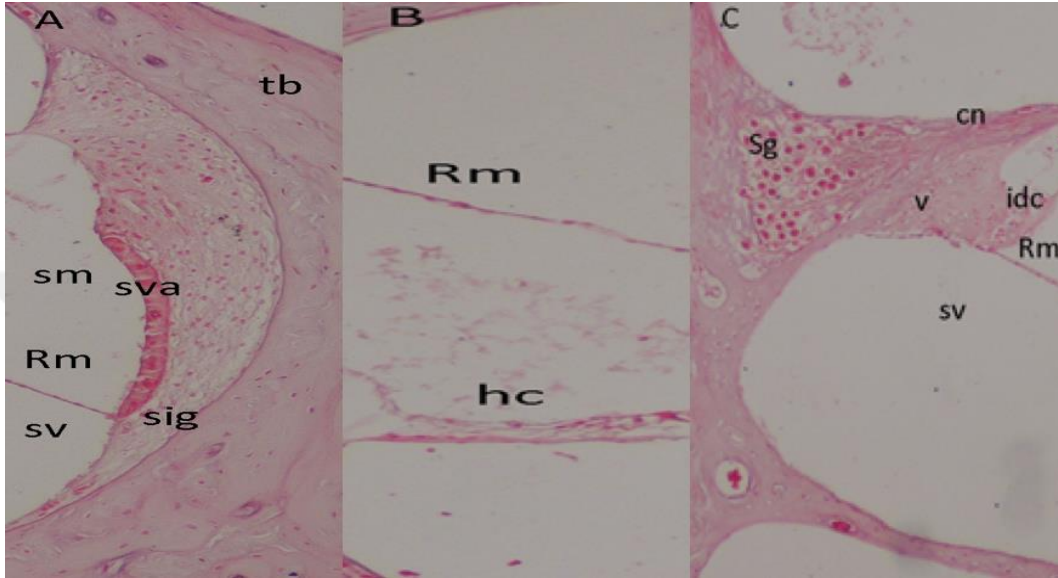
Gentamisin grubunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde dokunun genel yapısının bozulduğu görüldü. Artmış sitoplazmik vakuolizasyon ve dejeneratif hücre ayrılması gözlemlendi. Buna rağmen korti organı bütünlüğünü korumuştur, fakat iç ve dış tüylü hücrelerin hücre gövdesinde şişme ve dejeneratif ayrılma gözlemlendi. Hücre çekirdeklerinin hafif asidofilik olduğu gözlemlendi ve sitoplazmalarında vakuolizasyon görüldü. Tektoryal membran normal morfoloji ile izlenirken, reissner membranında şişmiş hücresel ayrılma görüldü. Destekleyici hücrelerin çekirdeği bazofilikti ve sitoplazmalarında vakuolizasyon gözlemlendi. Spiral limbus bölgesinde vakuolizasyon gözlemlendi. Stria vaskularis ve spiral ligamenti oluşturan hücreler dizilimi açısından kontrol grubuna göre patolojiktir ve çekirdek görünümünü bozulmuştur. Hücreye bağlı genişleme ve çekirdekte dejenerasyon tespit edildi. Stria vaskularis ve spiral ganglionda artan vakuolizasyon ve dejenerasyon olmuş hücreler görüldü. Spiral ganglion ve koklear sinir lifleri dejenerasyon görünümündeydi. Artmış vakuolizasyon ve aksonal dejenerasyon tespit edildi. Hücre gövdelerinin deformasyonu görüldü az miktarda vakuolizasyona sahip psödonipolar nöronlar tespit edildi (Resim 8).



Resim 8: Gentamisin grubunun hemotoksilen eosin boyama ile mikroskopik görüntüsü (A-B-C)

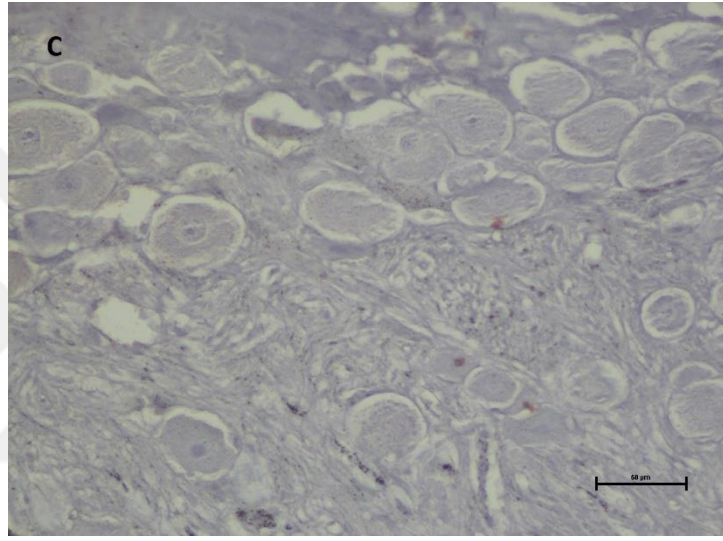
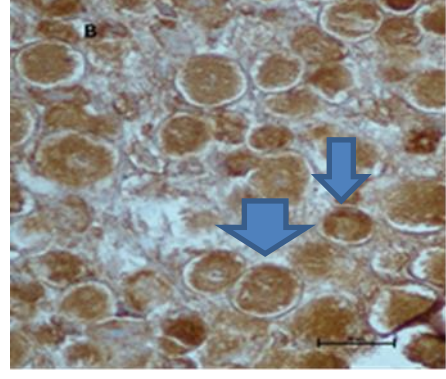
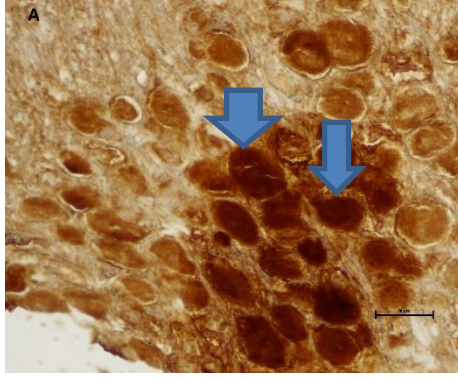
Rm: Reissner membranı; Sv: skala vestibüli; Sm: skala media; St: skala timpani; Slig: spiral ligament; d: dejenerasyon; v: vakuolizasyon; hc: iç tüylü hücre; Yıldız işareti: tektoriyal membran; Sva: stria vaskularis Cn, koklear sinir; Sva, stria vaskularis; Slig, spiral ligament; tb: Temporal kemik (H&E boyama, ×20)

Salin grubunun genel yapısı, ışık mikroskopi değerlendirmede normal histolojik bulgular gösterdi. Işık mikroskopik incelemede normal histolojik yapılar üzerinde salinin olumlu veya olumsuz bir etkisi olmadığı gözlemlendi. Hücresel yapılar ve morfoloji normal olarak tanımlandı (Resim 9).



Resim 9: Serum Fizyolojik grubunun hemotoksilen eosin boyama ile mikroskopik görüntüsü (A-B-C)

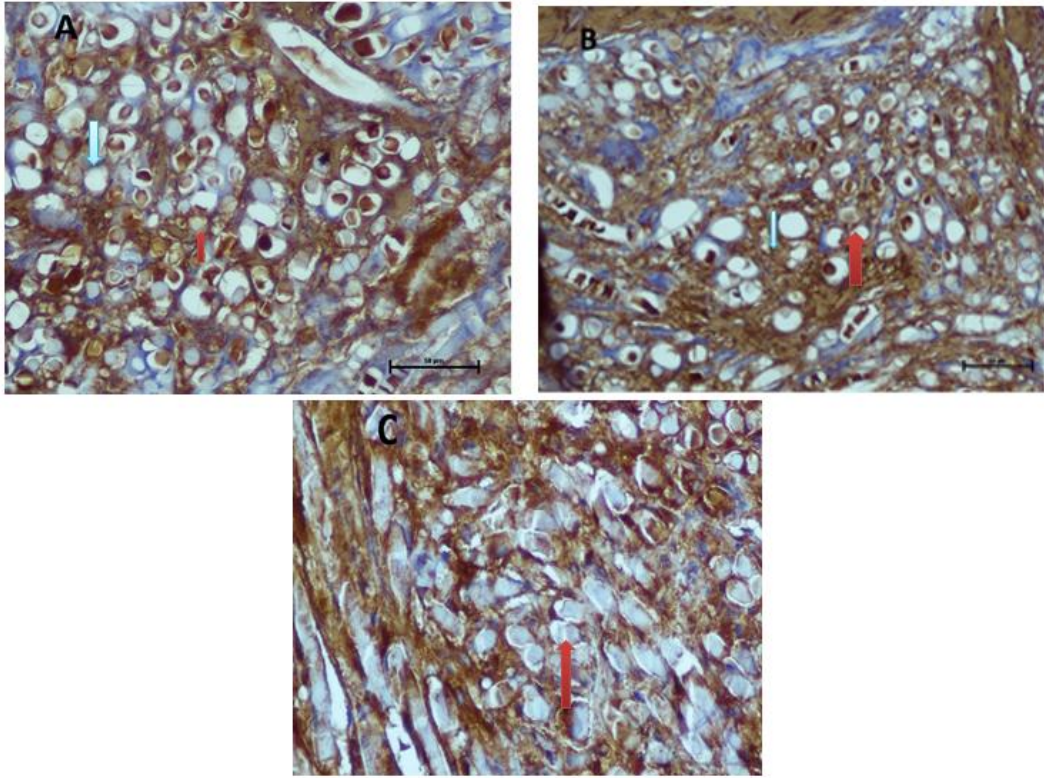
Rm: Reissner membran; Sv: skala vestibüli; Sm, skala medya; idc: interdental hücre; hc: tüylü hücre; Cn, koklear sinir; Sva, stria vaskülaris; Sig, spiral ligament; Sg, spiral ganglion; (H&E boyama×20).



Resim 10: Caspase-3 IHC boyanmış Stria Vaskülaris alanları . Mavi oklar caspase-3 pozitifliğini gösteriyor. 50 skala bar, X200.

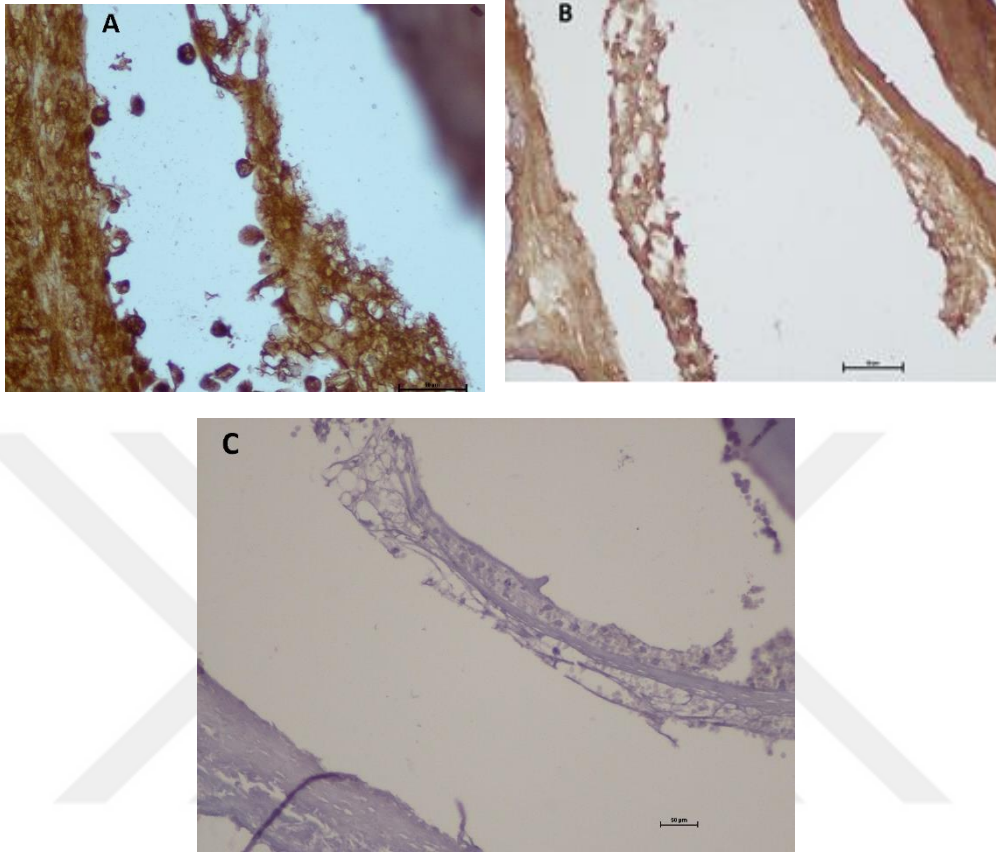
A. Gentamisin grubu, yüksek oranda caspase-3 pozitifliği görülmekte. Bununla beraber düzensiz sitoplazma ve çekirdek dejenerasyonu görülmekte, B.Diklofenak sodyum grubu, caspase-3 pozitifliği görülmekte fakat boyanma yoğunluğu gentamisin grubu kadar yoğun değil, hafif hücre kabarması ve sitoplazmik vakuolizasyon görülmekte, C. Salin (Kontrol) grubunda stria vaskülarisin kesit alanı, histolojik olarak normal yapıda ve caspase-3 yoğunluğu çok az.





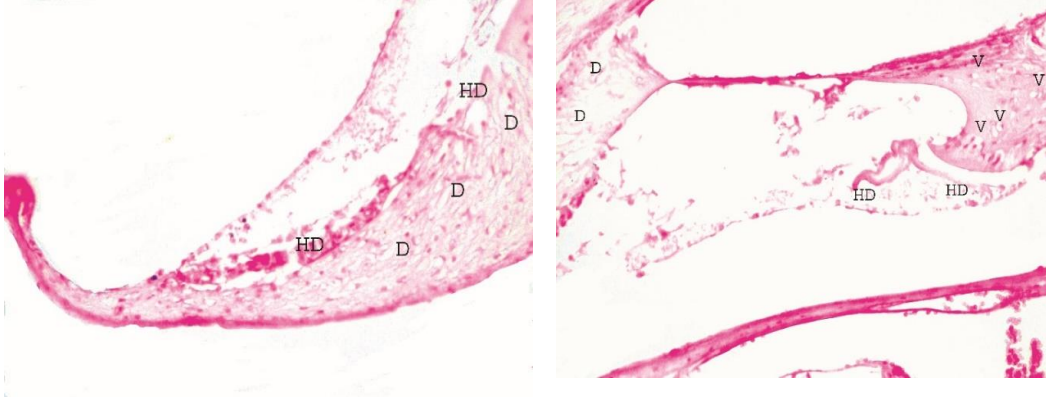
Resim11: Kokleanın immünohistokimyasal incelemesi, 50 skala bar..X200

(C) Kontrol Grubu. Negatif caspase- 3 ifadesi sarmal ganglionlar ağırlıkta, az sayıda vakuolizasyon görülmekte (Kırmızı ok) (B) Diklofenak sodyum grubu. Spiral gangliyonlarda orta dereceli caspase- 3 immünpozitifliği mevcut (Açık mavi ok) (A) Gentamisin grubu: pozitif caspase-3 sarmal gangliyonlarda ifade edilmekte, ileri derecede vakuolizasyon görülmekte. Açık mavi renk ok caspase-3 pozitif, kırmızı oklar vakuolizasyonu ifade etmekte.



Resim 12: Tüy hücrelerinin immünohistokimyasal incelemesi, 50 skala bar..X200 (C) Kontrol Grubu. Negatif caspase- 3 ifadesi (B) Diklofenak sodyum grubu. Orta şiddetli caspase- 3 immünopozitifliği (A) Gentamisin grubu: şiddetli pozitif caspase- 3 ifade edilmektedir.

Üç grubu ototoksisite açısından histolojik olarak karşılaştırdığımızda, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum grubunda, gentamisin grubuna kıyasla daha az fark mevcuttu. Diklofenak sodyum grubunda yapısal bozulma izlense de gentamisin grubuna kıyasla genel yapı daha iyi korunmuştu. Gentamisin grubunda iç - dış tüylerinde kayıp ve ototoksisite açısından bozulmuş histolojik alanlar gözlemlendi (Resim 13).



Resim 13: Koklea kesitlerinde hücresel dilatasyon(HD), vakuolizasyon(V) ve dejenerasyonun gösterilmesi(D)

Histolojik verilerin istatistiksel analizinde ise her üç grup arasında sitoplazmik vakuolizasyon, hücresel dejenerasyon, dilatasyon, apoptotik hücre ve nöral dejenerasyon dağılımları arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). Gentamisin grubunda sitoplazmik vakuolizasyon, hücresel dejenerasyon ve dilatasyonu oranı diklofenak sodyuma göre daha fazla bulundu. Serum fizyolojik grubunda ise histolojik verilerde hafif dereceli bozulma izlendi. Nöral dejenerasyon ve apoptotik hücrelerin H-skorunda 3 grupta da anlamlı fark mevcuttu. Grupların birbirleriyle ikili karşılaştırmalarında da anlamlı fark olduğu görüldü (Tablo 8).



Tablo 8: Serum fizyolojik(SF), gentamisin(G) ve diklofenak sodyum (DS) gruplarına ait histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular (Histopatolojik verilerde derecelendirme: 0: normal; 1: hafif; 2: orta; 3: orta şiddetli; 4: şiddetli şeklinde gruplanırken, hücresel hasarın gösterilmesinde kullanılan caspase-3 immünohistokimyasal boyamada H-skorlama sistemi kullanılarak skorlandı.), n: Denek sayısı

		SF (n:7)	DS (n:7)	G (n:7)	p
Sitoplazmik vakuolizasyon	Normal	3(%42,9)	1(%14,3)	0(%0)	0,00
	Hafif	4(%57,1)	3(%42,9)	0(%0)	
	Orta	0(%0)	3(%42,9)	1(%14,3)	
	Orta şiddetli	0(%0)	0(%0)	6(%85,7)	
Hücresel Dejerensasyon	Normal	3(%42,9)	1(%14,3)	0(%0)	0,002
	Hafif	4(%57,1)	3(%42,9)	0(%0)	
	Orta	0(%0)	3(%42,9)	3(%42,9)	
	Orta şiddetli	0(%0)	0(%0)	4(%57,1)	
Dilatasyon	Normal	5(%71,4)	0(%0)	0(%0)	0,00
	Hafif	2(%28,6)	5(%71,4)	0(%0)	
	Orta	0(%0)	2(%28,6)	1(%14,3)	
	Orta şiddetli	0(%0)	0(%0)	6(%85,7)	
Apoptotik hücreler Caspase-3 H-skoru		8,85 ±0,89	13,42 ±1,51	29,42 ±4,85	0,00
Nöral dejerensasyon Caspase-3 H-skoru		8,71 ±0,75	12,42 ±0,97	20,71 ±1,49	0,00

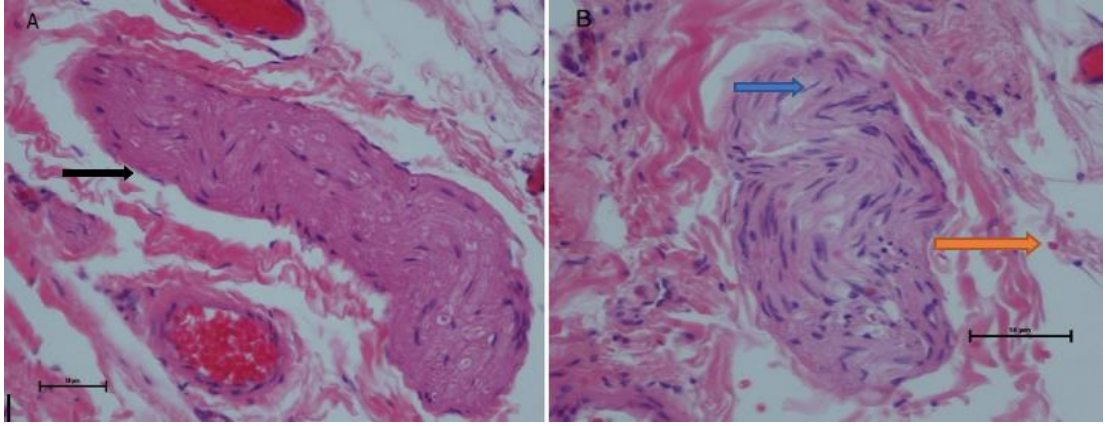
#### 4.3. NÖROTOKSİSİTENİN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

Nörotoksisite takibinde bıyık hareketi ve göz kırpmaya refleksinin preoperatif ve postoperatif 28. güne kadar yapılan skorlamalarında çalışmaya dahil edilen 14 ratın tamamında cerrahi işlem yapılmayan taraf ile kıyaslandığında skorlamanın normal olduğu gözlemlendi. Fasiyal sinirin histolojik değerlendirilmesinde de klinikle uyumlu olarak her iki gupta granülasyon dokusu, inflamasyon, perinörium kalınlığı, sinir organizasyonu, akson-miyelin yapıları, nöral dejerensasyon, schwann hücre nükleus boyutu ve yerleşim oranları arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo:9) H&E boyama ile yapılan mikroskopik bakıda her iki grupta normal kalınlıktaki perinörium,

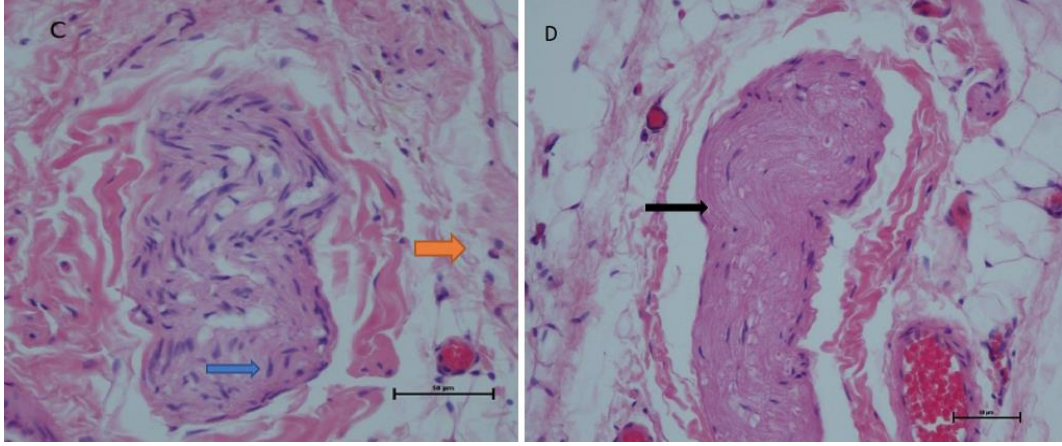
düzenli sinir organizasyonu ve normal boyuttaki Schwann hücre nükleusları izlendi (Resim 14, Resim 15).

Tablo 9: Fasiyal sinir üzerine diklofenak sodyumun histolojik etkisinin istatistiksel analizi. DS: Diklofenak sodyum Sodyum, SF: Serum fizyolojik; <sup>a</sup>: H-skoru (Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak sunuldu. Kategorik değişkenler sayı (n) ve yüzde (%) olarak sunulmuştur. İstatistiksel değerlendirmede kategorik değişkenlerde Fisher's Exact test kullanıldı.)

	SF (n=7)	DS (n=7)	p
Granülasyon Dokusu	0( % 0)	0( % 0)	-
İnflamasyon	2(% 28,6)	2(% 28,6)	0,999
Perinöriyum Kalınlığında İncelme	1(% 14,3)	1(% 14,3)	0,999
Bozulmuş Sinir Organizasyonu	0( % 0)	0( % 0)	-
Hasarlı Akson-Miyelin Yapıları	0( % 0)	0( % 0)	-
Nöral Dejerenasyon Caspase-3 <sup>a</sup>	5,28 $\pm$ 2,13	5,57 $\pm$ 2,22	0,81
Schwann Hücre Nükleus Boyutu ve Yerleşimi	Düzensiz nükleus yerleşimi 2(%28,6)	2(%28,6)	0,999

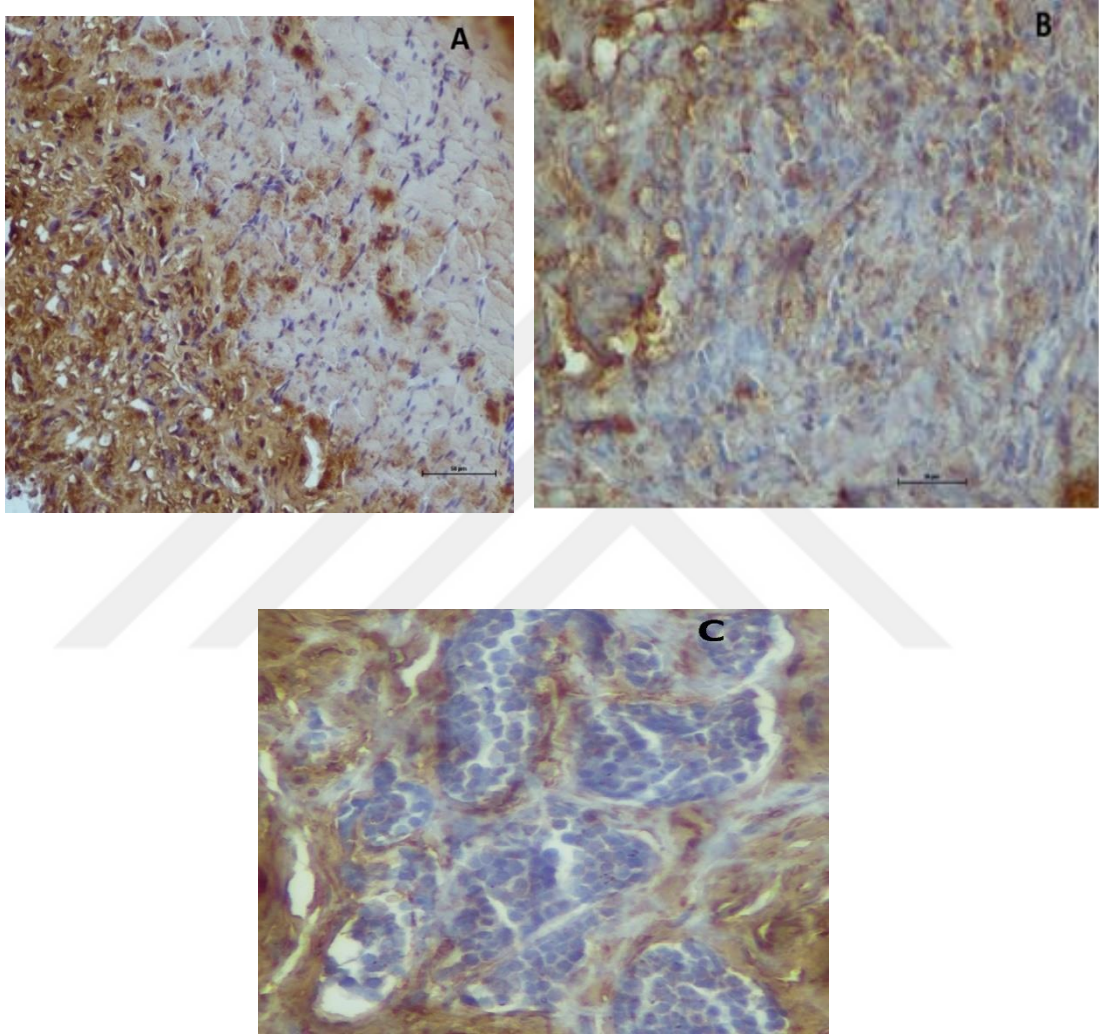


Resim 14: Serum fizyolojik grubuna ait fasiyal sinir trunkus kesiti (H&E). Normal kalınlıktaki perinöryum (siyah ok),düzenli sinir organizasyonu ve normal boyuttaki Schwann hücre nükleusları (mavi ok). inflamatuvar hücreler (turuncu ok) görüldü A, x20 B, x40



Resim 15: C: Serum fizyolojik grubuna ait fasiyal sinir trunkus kesiti (H&E). D: Diklofenak sodyum grubuna ait fasiyal sinir trunkus kesiti (H&E). Normal kalınlıktaki perinöryum (siyah ok), düzenli sinir organizasyonu ve normal boyuttaki Schwann hücre nükleusları (mavi ok) inflamatuvar hücreler (turuncu ok) görüldü. C, x20 D, x40,

Caspase-3 boyanma; sinir lifleri dışında mast ve çoğunlukla endotelial hücrelerde tespit edildi. İHC derecelendirme yapıldığında endotel ve mast hücre pozitifliği skorlama dışında bırakıldı. Gruplar arasında mukayese yaptığımızda, kontrol grubunda(A) az olmakla birlikte, Diklofenak sodyum grubunda(B-C) ise düzgün histolojik yapının yanında çok az caspase-3 pozitif sinir lifi görüldü (Resim 16).



Resim 16: Fasiyal sinir kesitinde immunohistokimya boyama ile nörotoksisite araştırılması (Caspase-3) 50 skala bar 400X büyütme. Kontrol grubunda(A) az olmakla birlikte, diklofenak sodyum grubunda(B-C) ise düzgün histolojik yapının yanında çok az caspase-3 pozitif sinir lifi görüldü.

## 5.TARTIŞMA

Ototoksisite, koklear veya vestibüler disfonksiyona neden olan, iç kulağı ve işitme sinirini etkileyen farmakolojik yan etkidir. Ototoksisitenin erken saptanması, kalıcı işitme kaybını ve denge bozukluğunu en aza indirmek ya da önlemek için tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesine imkân verir. Ototoksisiteye neden olma potansiyeline sahip 600' den fazla farmakolojik ajan vardır. Aminoglikozid antibiyotikler, platin bazlı kemoterapötik ajanlar, loop diüretikler, makrolid antibiyotikler ve antimalaryaller, yaygın olarak kullanılan ototoksik ilaçlardır (Ganesan et al. 2018). Ototoksisite sonucu meydana gelen hasar klinikte kulak çınlaması, işitme kaybı, hiperakuzi, dolgunluk, dizziiness ve baş dönmesi olarak ortaya çıkabilir. Bu şikâyetler kalıcı veya geçici olabilir. Yaşamı tehdit eden bir durum olmasa da özellikle işitme kaybı ve çınlamanın olması kişinin hayat kalitesini olumsuz etkiler.

Bir NSAİİ olan diklofenak sodyum (sodyum- (o - ((2,6-dikloro-fenil) -amino) -fenil) -asetat) düşük moleküler ağırlık ile karakterizedir ve güçlü anti-inflamatuar, analjezik ve antipiretik etkisi vardır. COX enzim inhibisyonu yaparak araşidonik asit salımını azaltır ve araşidonik asit geri alımını artırır (Cardinali et al. 1982). Klinik uygulamada diklofenak sodyum, artrit, romatoid artrit, osteoartrit, akut gut, dismenore ile ilişkili ağrı, ateş ve inflamasyonun hafifletilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Aygün et al. 2012). Bu kullanım alanlarının dışında dermatoloji pratiğinde atipik keratinositlerin proliferasyonu ile seyreden aktinik keratozda tedavisinde hyalürik asitle kombinasyonu topikal olarak kullanılmaktadır ve süperfisiyal ve nodüler bazal hücreli karsinom tedavisinde tümör proliferasyonunda regresyon sağladığı gösterilmiştir (Gutzmer et al. 2019, Brinkhuizen et al 2016).

NSAİ ilaçların birçoğu siklo-oksijenaz inhibisyonu yoluyla prostoglandinlerin azalmasına, lökotrienlerin artışına neden olarak vazokonstriksiyona neden olur. Buna

bağlı olarak koklear kan akımının azalması, tüylü hücrelerin metabolizmasını değiştiren iskemik bir sürece; nöronal hasara, destekleyici hücrelerin kaybına ve stria vaskularisin atrofisine neden olabilir (Rizk et al. 2020). Salisilatların sistemik dolaşımından hızlı bir şekilde perilenfe geçebildiği ve DTH ve İTH' lerde mekano-elektrik kanalları inhibe ederek hareketliliklerini ve geçirgenliklerini azalttığı gösterilmiştir (Peleg et al. 2007).

Çalışmamızda öncelikle diklofenak sodyumun lokal etkisi sonucunda gelişebilecek ototoksisite ve nörotoksik etkiyi araştırmayı planladığımız için DS' u intratimpanik olarak orta kulağa uyguladık. Ototoksik etkiyi literatürde tanımlandığı gibi (Baylancicek et al. 2008, Nader and Saliba 2012, Dogan et al. 2018) otoakustik emisyon ve işitsel beyin sapı eşik ölçümleri ile hayvan deneyinde araştırdık. Çalışmamıza benzer şekilde planlanmış olan bir çalışmada Acioglu ve ark.'ı (2017) Diklofenak sodyum 'u Voltaren® ampul ve İnflased® göz damlası olarak ve 1mg/ml ile 25mg/ml olacak şekilde 2 ayrı dozda uygulanmıştır. DS' nin doza bağlı ototoksik etkisi ABR ölçümü ile araştırıldığında hem düşük (1mg./ml) hem de yüksek doz (25mg/ml) DS' nin ototoksik etkisi gösterilmiştir ve doz arttıkça ototoksik etkinin arttığı bulunmuştur. Genel tıp pratiğinde yaygın kullanımı bulunan bu iki farmakolojik ajanın da prospektus bilgileri incelendiğinde kulak için toksik etkilerinin bulunduğu düşünülen propilen glikol gibi yardımcı maddeleri barındırdığı için ototoksik etkiye bu yardımcı maddelerin de neden olabileceği düşünülebilir. Bu nedenle çalışmamızda yüksek saflıktaki diklofenak sodyum tuzunun (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) steril su ile olan çözeltisi kullanıldı. İlaç dozajı ise daha önceki çalışmaların ışığında (Acioglu et al. 2017, Kara et al. 2019) %1 olarak belirlendi. Ancak çalışma sonunda literatüre benzer şekilde ABR ve ölçümlerinde negatif kontrol grubuna göre eşiklerde anlamlı artış görüldü ve pozitif kontrol grubuna yakın ototoksik etki izlendi.

Ototoksisitede gelişen semptomlar hemen başlayabileceği gibi günler sonra da gelişebilir (Rybak et al. 2013). Çalışmamızda postoperatif 3. gün ve postoperatif 28. gün karşılaştırması yapıldığında zamanla ABR ölçümünde postoperatif 3. gün ve postoperatif 28. gün arasında anlamlı fark görülmedi. DPOAE ölçümünde ise 3. gün ölçümleri 28. gün ölçümlerine göre otoakustik emisyon değerleri daha düşük olarak izlendi. Bunun intratimpanik işlem sırasında oluşan timpanik membran perforasyonu

ya da inflamasyona bađlı olduđu dűşűnűldű. Fakat postoperatif 28. gűnde bařlangıç deđerlerine gűre; 4 kHz ve 6 kHz haricindeki diđer frekanslarda zamanla anlamlı dűřme gűrűldű.

Literatűr incelendiđinde diklofenak sodyumun ototoksik etkisini inceleyen bir çalıřma bulunsa da bu etkiyi odyolojik olarak arařtıran ilk çalıřma sunulan çalıřmadır. Diklofenak sodyumla ilgili yapılan bir hayvan çalıřmasında, gűrűltűye bađlı iřitme kaybı geliřen guinea pig cinsi kobaylarda, iřitme kaybının akut dűneminde diklofenak sodyumun prednisolona benzer etkilerinin olduđu; ancak gecikmiř progresif koklear iskemiye karřı iyileřtirici etkisinin gűrűlmediđi belirtilmiřtir (Lamm and Arnold 1997). Asetil salisilik asit ile yapılan ototoksisite çalıřmasında DTH' lerde kayıp gűzlenirken İTH' lerde kayıp gűrűlmemiřtir (Chen et al. 2010). Kalkandelen ve ark' nın (2002) alıřmasında sistemik ve topikal gentamisin uygulanan grupta korti organında vakuolizasyon ve DTH' lerde kayba neden olduđu gűsterilmiřtir. Benzer řekilde Kimitsuki ve ark' nın (2009) alıřmasında da asıl ototoksik etkinin DTH 'lerde geliřtiđi gűsterilmiřtir. Bizim alıřmamızda da sitoplazmik vakualizasyon, hűcresel dejenerasyon, dilatasyon, apoptotik hűcre dađılımları arasında 3 grup arasında anlamlı fark bulundu. DTH' lerle beraber İTH' lerin de dejenere olduđu gűzlendi.

Orta kulađa uygulanan bir ajanın bir bařka etkisi de fasiyal sinir űzerine olabilecek nűrotoksik etkisidir. Bu çalıřmada ek olarak diklofenak sodyumun fasiyal sinir űzerine lokal uygulandıđı zaman meydana gelebilecek nűrotoksik etkisini fonksiyonel ve histolojik olarak arařtırdık. Literatűr incelendiđinde, NSAİ ilaçların etkileri serebral korteks, hipokampűs, amigdala, dentat girus ve periferik sinirler dahil olmak űzere çeřitli sinir dokularında incelenmiřtir (Andreasson et al. 2001). Diklofenak sodyumun prenatal maruziyetinin periferik sinirler űzerindeki etkilerine iliřkin bir bařka çalıřmada, diklofenak sodyuma maruz kalan sıçanlarda akson sayısında ve ortalama aksonal kesitsel alanda űnemli bir azalma olduđu bildirilmiřtir (Keskin et al. 2015). Diklofenak sodyumun ayrıca diđer NSAİİ 'lerden farklı olarak nűronal kűk hűcrelerin nűronlara farklılařmasını baskıladıđı ve ayrıca apoptoz indűksiyonu yoluyla çođalmayı engellediđi gűsterilmiřtir (Kaplan et al. 2018). Klorpromazine bađlı katalepsi, motor gűcűzlűk gibi Parkinson benzeri bir hayvan deneyinde diklofenak sodyumun etkisi incelenmiř, dopaminerjik nűronlardaki űlűme



karşı nöroprotektif etkisi gösterilmiştir. Bu etkisinin kaynağının da güçlü antiinflamatuvar etkisi olduğu düşünülmüştür (Naeem et al. 2019).

İnflamatuvar yanıt, periferik sinir hasarından sonra meydana gelen dejenerasyon ve rejenerasyonun düzenleme süreçlerinde önemli bir rol oynar. Bir sinir hasar gördüğünde, hem COX-1 hem de COX-2 ekspresyonu, hasar görmüş sinir makrofajlarında ve schwann hücrelerinde önemli ölçüde artar (Ma and Quirion 2008). Ayrıca, hasar görmüş sinirlerde, Schwann hücrelerinin bir ürünü olan monosit kemoatraktan protein 1 (MCP-1) aktive olur ve kanla taşınan monositler bu şekilde göç eder ve doku makrofajlarına farklılaşır. Bu, MCP-1' in istilacı makrofajlarda ve diğer hücrelerde COX-2 ekspresyonunu ve PGE2 sekresyonunu uyardığını gösterir (Tanaka et al. 2006, Kaplan et al. 2018). Makrofajlar, aksonal kalıntıların dejenere edilmesi ve sitokinlerin, büyüme faktörlerinin, nitrik oksit (NO) ve eikasanoidlerin yaralı sinirde pro veya anti-inflamatuvar araçlar olarak üretilmesi ve salınması gibi önemli roller oynar.

Diklofenak sodyumun fasyal sinir üzerine nörotoksik etkisinin incelenmesine dair bir çalışma bilinen literatürde bulunmamaktadır. Bu sebeple çalışmamızda muhtemel bir nörotoksik etkinin araştırması için kullanılan yöntem literatürdeki benzer etkiyi farklı materyallerle araştıran çalışmalar örnek alınarak tasarlanmıştır. Bu amaçla literatür incelendiğinde Kum ve Kulacoglu 'nun 2017 yılında yayınladıkları ve Glass ionomer cement' in fasyal sinir üzerine direkt uygulanmasının nörotoksik etkisini inceledikleri çalışma dikkat çekmektedir. Bu çalışmada Glass ionomer sement fasyal sinir üzerine direkt uygulanarak nörotoksik etkisi incelenmiş ve bonecement grubunda, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha fazla yabancı cisim reaksiyonu, granülasyon dokusu ve iltihap gözlemlenmiştir. Alkan ve ark' nın (2008) siyatik sinirle ilgili çalışmasında ise gruplar arasında demiyelizasyon, aksonal dejenerasyon ve inflamasyon oranları arasında anlamlı fark olmazken çevre dokularda yabancı cisim reaksiyonu ve granülasyon dokusuna yol açabileceği belirtilmiştir. Kokten ve ark' nın (2018) bonecementin nörotoksik etkisini araştırdıkları çalışmada da sinir ile direk temas olan grupta kas amplitüdlerinde düşme gözlenmiş ancak histopatolojik olarak herhangi bir patolojik bulgu saptanmamıştır. Fasyal sinire uygulanan her iki kemik çimento çalışmasında da kullanılan maddenin dokuya tutunması için yeterli süre beklenilmiştir. Çalışmamızda



diklofenak sodyumun yeterli süre ve dozda sinir çevresinde kalabilmesi için daha önce fasiyal sinir travmasına karşı iyileşme modellerinde kullanılan yöntemlere benzer şekilde uygulama sahası üzerine diklofenak sodyum emdirilmiş spongostanlar yerleştirildi (Topdag et al. 2015). Ardından bıyık hareketi ve göz kırpma refleksi değerlendirilerek incelenen gruplar arasında fark olmadığı görüldü. Histolojik incelemede de her iki gupta granülasyon dokusu, inflamasyon, perinöriyum kalınlığı, sinir organizasyonu, akson-miyelin yapıları, immünohistokimyasal boyamada nöral dejenerasyon, schwann hücre nükleus boyutu ve yerleşim oranları arasında anlamlı fark görülmedi. Buradan yola çıkarak çalışmamızda diklofenak sodyumun fasiyal sinir üzerine nörotoksik etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Otoloji pratiğinde halen en önemli sorunlardan biri olan kolesteatoma yönelik olarak halen en önemli tedavi seçeneği cerrahidir (Tomlin et al. 2013). Kolesteatomun histopatolojik yapısı matriks, perimatriks ve keratin debris olmak üzere 3 ana katmandan oluşur. Germinatif tabaka olarak da bilinen matriks tabakası, keratinize skuamöz epitel hücrelerinden oluşur. Matriks tabakasının mitotik aktivitesi yüksektir ve hızlı mitoz nedeniyle dökülen hücreler ve keratin dokusu kolesteatomun merkezinde bulunan keratin debrisini oluşturur. Matriks, bazal membran yoluyla ince retiküler ve elastik liflerden oluşan perimatriks tabakası ile temas halindeyken, perimatriks temporal kemik dokusu ile temas halindedir. Patolojik bir kolesteatom tanısı için matriks, perimatriks ve keratin debris birlikte gözlenmelidir (Ferlito et al. 1997). Kolesteatomun cerrahi tedavisinde en önemli kısım matriks dokusunun tamamen çıkarılmasıdır. Bazı durumlarda bu mümkün olmayabilir ve bu da nüks kolesteatom olarak karşımıza çıkar. Nüks oranları kullanılan cerrahi tekniklere göre farklı çalışmalar arasında farklılık gösterse de toplam nüks oranının % 5 ile % 70 arasında değiştiği bildirilmektedir (Kara et al. 2019).

Günümüzde orta kulak kolesteatomunun birincil tedavisinde veya ameliyat sonrası klinik olarak kullanılacak tıbbi bir tedavi yoktur. Ancak kolestatom dokusunu yok edebilen bir ajan nüks oranlarını azaltabilir. Böyle bir ajanın kullanılmasında sınırlayıcı en önemli etken kullanılacak ajanın ototoksik ve nörotoksik etkisinin olup olmadığıdır. In vitro olarak etkinliği gösterilen diklofenak sodyumun çalışmamızda ototoksik etkisinin bulunduğu fakat nörotoksik etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

Literatürde kolesteatom tedavisinde deneysel modellerde 5- Florourasil(5-FU), Mesna, oral montelukast, transretinoik asit, intratimpanik steroid, hyalürinik asit, siklofosfamid, Mitomisin-C, naproksen sodyum gibi çeşitli moleküller denenmiştir (Ismi et al. 2017, Ocal et al. 2021, Kalcioglu et al. 2014, Vincenti et al. 2014, Van Spaendonck et al 1999, Wright et al. 1991, Antunes et al. 2008, Melo et al. 2013, Sennaroğlu et al. 1998, Kayhan ve ark 2006, White et al. 1995, Pownell et al. 1994).

Topikal 5-FU'nun kolesteatom tedavisindeki etkinliği, hem insan hem hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir (Mansfield et al. 1985, Takahashi et al. 2005, Iwanaga et al. 2006). 5-FU ile yapılan bir çalışmada dış kulak yolu kolestatomunda ve mastoid havalanması iyi olan kulaklarda attik adeziv ve tekrarlayan kolestatom patolojisi olan kulaklara göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Takahashi H 2005). Yamamoto-Fukuda ve ark' nın (2008) çalışmasında keratinosit büyüme faktörünün (KGF), kolesteatomların altındaki granülasyon dokusunda bol miktarda bulunduğunu ve KGF reseptörlerinin kolesteatom epitelinde bulunduğunu göstererek, kolesteatom proliferasyonunun kolesteatom epitelinin altındaki kronik inflamasyonla kolaylaştırıldığını göstermiştir. Ayrıca bu çalışma, 5-FU grubunun KGF ekspresyonunun ve Ki-67' nin kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu bulunmuştur. Kanemaru ve ark (2007) ise 5-FU'nun timpanik membran büyümesini yavaşlattığını ve 5-FU'nun in vitro doza bağımlı bir şekilde orta kulak fibroblastlarının proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Ancak Han ve ark.' nın (2008) yapmış olduğu çalışmada ise sistemik 5-FU' in ABR latansında uzamaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu durum bahsedilen ajanın rezidü kolesteatomun eradikasyonu amacıyla kullanımını kısıtlayan majör faktörlerdendir. Kara ve ark' nın (2019) çalışmasında kolesteatomun DS ile tedavisinin pozitif kontrol grubu olan 5-FU' ye göre istatistiksel olarak daha etkili olduğu tespit edilmiştir ve bu nedenle 5-FU' ya bir alternatif olarak kolesteatom tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

## 6.SONUÇ

Çalışmamızda kolestatom üzerine etkisi in vitro olarak kanıtlanan diklofenak sodyumun ototoksik ve nörotoksik etkisi in vivo şartlarda değerlendirilmiştir. Çalışmanın mevcut bulguları değerlendirildiğinde diklofenak sodyumun ototoksik etkilerinin olduğu ancak, nörotoksik etkisinin görülmediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla diklofenak sodyumun dış kulak yolu kolestatomu olan hastalarda, veya kullanılabilir işitmenin olmadığı veya işitmenin feda edilebileceği bazı kolestatomlu kronik otit hastalarında ve subtotal petrozektomi gibi kul de sac yapılan ileri kolestatom olgularında, cerrahinin yapıldığı olgularda hastalığın progresyonunu azaltmak amacıyla, cerrahi sonrası olası rezidü kolestatom dokusunun kalabileceği sinüs timpani, supratubal reses ve hipotimpanik bölgeler gibi alanlarda nüksü engellemek için kullanılacak bir molekül olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Acioglu, E., Yigit, O., Onur, F., Atas, A., Server, E. A., & Kara, E. (2017). Ototoxicity associated with topical administration of diclofenac sodium as an otic drop: An experimental animal study. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 98, 110–115.
- Akyıldız N (2002). *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi: s.1-85.s215-330.s415-447
- Alkan S, Koşar A T, Sozen E, Baylançecek S, Baslo B, Başak T, Dadaş B. (2008). Assessment of long-and short-term neurotoxic effects of glass ionomer bone cement by electromyography and histopathologic examination: experimental study. *Journal of Otolaryngology--Head & Neck Surgery*, 37(6).
- Alok, A., Adhikari, J. S., & Chaudhury, N. K (2013). Radioprotective role of clinical drug diclofenac sodium. *Mutation research*, 755(2), 156–162.
- Alvarado JC, Fuentes-Santamaría V, Jareño-Flores T, Blanco JL, Juiz JM. (2012) Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in Wistar rats. *Neurosci Res.*; 73(4): 302-11
- Andreasson KI, Savonenko A, Vidensky S, Goellner JJ, Zhang Y, Shaffer A, Kaufmann WE, Worley PF, Isakson P, Markowska AL.(2001). Age-dependent cognitive deficits and neuronal apoptosis in cyclooxygenase-2 transgenic mice. *J. Neurosci.* 21:8198–8209.

- Antunes ML, Fukuda Y, Penido Nde O, Ferreira R. (2008) Effect of trans-retinoic acid in the inhibition of cholesteatoma in guinea pigs. *Braz J Otorhinolaryngol*;74:53–60
- Austin DF (2000). Kulak anatomisi. In *Ballenger JJ, Snow JB, editors. Hafız G (ed) Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; p. 838–57.
- Aygün D, Kaplan S, Odacı E, Onger ME, Altunkaynak ME. (2012). Toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review of melatonin and diclofenac sodium association. *Histology and histopathology*.27
- Baylancicek S, Serin GM, Ciprut A, Sari M, Akdaş F, Tutkun A. (2008) Ototoxic effect of topical ciclopirox as an antimycotic preparation. *Otol Neurotol*. Oct;29(7):910-3.
- Bonfils P, Avan P (1992) Distortion product otoacoustic emissions clues for clinical use. *Arc Otolaryngol Head Neck Surg* 118:1069–76
- Brenda L, Lonsbury-Martin BL, Martin GK, Luebke AE (1996). İşitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. In *Ballenger JJ, Snow JB, editors. Şenocak D, çev. ed. Otolaringoloji Baş Boyun cerrahisi*. 15. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. p. 879–929
- Brinkhuizen, Tjinta, et al. "The effect of topical diclofenac 3% and calcitriol 3 µg/g on superficial basal cell carcinoma (sBCC) and nodular basal cell carcinoma (nBCC): A phase II, randomized controlled trial." *Journal of the American Academy of Dermatology* 75.1 (2016): 126-134.
- Cardinali, D. P., Rita, M. N., Pereyra, E., & Solveyra, C. G. (1982). Role of prostaglandins in rat pineal neuroeffector junction. Changes in melatonin and norepinephrine release in vitro. *Endocrinology*, 111(2), 530–534.
- Carolyn JB. and Tiffany AJ. (2015) Electrophysiologic Assessment of Hearing *Cummings Otolaryngology*,; 134, 2071-2083.e3.

- Chen GD, Kermany M H, D'Elia A, Ralli M, Tanaka C, Bielefeld E C, Ding D, Henderson D, Salvi, R. (2010). Too much of a good thing: long-term treatment with salicylate strengthens outer hair cell function but impairs auditory neural activity. *Hearing research*, 265(1-2):63-69.
- Cope, T. E., Baguley, D. M., & Griffiths, T. D. (2015). The functional anatomy of central auditory processing. *Practical neurology*, 15(4), 302–308.
- Çelik O., (2002)*Kulak, Burun, Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*, Periferik Fasiyal Paralizi, Sf: 283-290.
- Daniel HJ, Fulghum RS, Brinn JE, Barrett KA (1982). Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol*; 91: 82–89
- Davis RE, Telischi FF. (1995)Traumatic facial nerve injuries: review of diagnosis and treatment. *J Craniomaxillofac Trauma*; 45: 30-41.
- De Freitas, M. R., de Castro Brito, G. A., de Carvalho, J. V., Jr, Gomes, R. M., Jr, Barreto Martins, M. J., & de Albuquerque Ribeiro, R. (2009). Light microscopy study of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *The Journal of laryngology and otology*, 123(6), 590–597.
- Dogan, M., Sahin, M., Cetin, N., Yilmaz, M., & Demirci, B. (2018). Utilizing prestin as a predictive marker for the early detection of outer hair cell damage. *American journal of otolaryngology*, 39(5), 594–598.
- Donaldson JA, Duckert LG (1991). 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, p.23-58.
- Doyle-Kelly W (1961). Behaviour of absorbable gelatine sponge in the animal middle ear. *J Laryngol Otol*; 75:152.

- Elmore S. (2007 ) Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.*; 35(4): 495–516
- Fedchenko, N., & Reifenrath, J (2014). Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagnostic pathology*, 9, 221
- Fleischer G. (1978) Evolutionary principles of the mammalian middle ear. In: *Advances in anatomy, embryology, and cell biology*. Berlin,;5:15-21
- Ganesan P, Schmiedge J, Manchiaiah V, Swapna S, Dhandayutham S, Kothandaraman PP. (2018). Ototoxicity: a challenge in diagnosis and treatment. *Journal of audiology & otology*, 22(2): 59.
- Gokcimen, A., Rağbetli, M. C., Baş, O., Tunc, A. T., Aslan, H., Yazici, A. C., & Kaplan, S. (2007). Effect of prenatal exposure to an anti-inflammatory drug on neuron number in cornu ammonis and dentate gyrus of the rat hippocampus: a stereological study. *Brain research*, 1127(1), 185–192.
- Gutzmer, R. Wiegand, S. Kölbl, O. Wermker, K. Heppt, M. & Berking, C. (2019). Actinic Keratosis and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Deutsches Arzteblatt international*, 116(37), 616–626.
- Han R, Yang YM, Dietrich J, Luebke A, Pröschel MM, Noble M .(2008) Systemic 5-fluorouracil treatment causes a syndrome of delayed myelin destruction in the central nervous system. *Journal of Biology*, 7:12.
- Haris FP, Probst R (1997). *Otoacoustic emissions clinical applications*. New York: Stuttgart Thieme.
- Hellstrom S, Sale'n B, Stenfors L (1983). Absorbable gelatin sponge (Gelfoam) in otosurgery:one cause of undesirable Postoperatiferative results: an experimental study in the rat. *Acta Otolaryngol (Stockh)*; 96: 269–75.

- Hellström S, Stenfors LE (1983). The pressure equilibrating function of pars flaccida in middle ear mechanics. *Acta Physiol Scand*; 118: 337–41.
- Ickleys OJ (1998). Physiology of the ear. In Wright D, editor. *Scott-Brown's Otolaryngology*. 5th ed. London: Butterworths – Heinemann. p. 47–80
- Ismi O, Karabulut YY, Bal KK, Vayisoglu Y, Unal M. (2017) Single dose intratympanic mesna application inhibits propylene glycol induced cholesteatoma formation. *J Laryngol Otol*;131:215–20
- Iwanaga T, Tanaka F, Tsukasaki N, Terakado M, Kaieda S, Takasaki K, Takahashi H. (2006). Does topical application of 5-fluorouracil ointment influence inner ear function?. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*.134(6):961-965.
- J. B. Snow PAW. (2009) *Ballenger's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery (17th edition)*. J. W. Hall KNJ, editor. 115-30 p.
- J.N. Cashman, (1996)" The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia ", *Drugs* 52 (Suppl 5)
- Judkins RF, Li H (1997). Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg*; 117: 438–47.
- Kalcioglu MT, Cicek MT, Bayindir T, Ozdamar OI. (2014) Effectiveness of MESNA on the success of cholesteatoma surgery. *Am J Otolaryngol*;35:357–61
- Kalkandelen S, Selimoğlu E, Erdoğan F, Üçüncü H, Altaş E. (2002). Comparative cochlear toxicities of streptomycin, gentamicin, amikacin and netilmicin in guinea-pigs. *Journal of international medical research*, 30(4):406-412.
- Kanemaru SI, Nakamura T, Yamashita M, Magrfov A, Omori K, Ito J. (2007). 5-Fluorouracil Ointment for the Treatment of Otitis Media With Effusion. *The Laryngoscope*.117(2):215-219.



- Kaplan, A. A., Yurt, K., Deniz, Ö. G., & Altun, G (2017). Peripheral nerve and diclofenac sodium : Molecular and clinical approaches Peripheral nerve and diclofenac sodium : *Molecular and clinical approaches*. September.
- Kara, A., Duman, B. O., Yazir, Y., SinanYilmaz, M., Halbutogullari, Z. S. U., Demir, D., ... & Guven, M (2019). Evaluation of the Effect of Diclofenac Sodium and 5-Fluourasil in a 3D Cholesteatoma Cell Culture Model. *Otology & Neurotology*, 40(8), 1018-1025
- Kartush JM, Bouchard KR, Graham MD, Linstrom CL. (1990) Magnetic stimulation of the facial nerve. *Am J Otol*; 10:14–19
- Kayaalp O., (2009). Oğuz Kayaalp *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 32.yıl 12. Baskı 2. cilt sayfa 854.
- Kayhan FT, Algun Z. (2006)The effect of systemic prednisolone on propylene-glycol induced otitis media in guinea pig. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*;16:214–20
- Kayhan FT, Algun Z, (2008)The effect of naproxen sodium on experimental otitis media. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*;18: 14–18
- Kemp DT, Brown AM (1984). Ear canal acoustic and round window electrical correlates of 2f1- f2 generated in the cochlea. *Hear Res* 13:39–46.
- Keskin, I., Kaplan, S., Kalkan, S., Sutcu, M., Ulkay, M. B., & Esener, O. B. (2015). Evaluation of neuroprotection by melatonin against adverse effects of prenatal exposure to a nonsteroidal anti-inflammatory drug during peripheral nerve development. *International journal of developmental neuroscience* :, 41, 1–7.
- Kimitsuki T, Kakazu Y, Matsumoto N, Noda T, Komune N, Komune S. (2009). Salicylate-induced morphological changes of isolated inner hair cells and outer hair cells from guinea-pig cochlea. *Auris Nasus Larynx*, 36(2):152-156.

- Knodell, R. G., Ishak, K. G., Black, W. C., Chen, T. S., Craig, R., Kaplowitz, N., Kiernan, T. W., & Wollman, J. (1981). Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 1(5), 431–435.
- Koç C (Ed) (2019). *Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi 3. Baskı* Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, s89-104. s105-112.s113-125
- Kokten N, Egilmez OK, Kalcioglu MT, Baran M, Ekici AID. (2018) Evaluation of the Possible Neurotoxic Effect of the Bone Cement on the Facial Nerve: An Experimental Study. *Clin Exp Otorhinolaryngol*.11(3):174-80.
- Kum, R. O. & Kulacoglu, S. (2017). Effects of glass ionomer cement on facial nerve: a clinical and histopathologic evaluation. *Acta oto-laryngologica*, 137(8), 814–817
- Lamm, K., & Arnold, W. (1998). The effect of prednisolone and non-steroidal anti-inflammatory agents on the normal and noise-damaged guinea pig inner ear. *Hearing research*, 115(1-2), 149–161.
- Lee KJ (2012) *Essential Otolaryngology 9. Baskı Çeviri Editörü Korkmaz H, Önerci M Güneş tıp kitapevleri* s1-94. s198-223
- Ma W, Quirion R, (2008). Does COX-2-dependent PGE2 play a role in neuropathic pain? *Neurosci. Lett.* 437:165–169.
- Maru D, Malky G A. (2018) Current practice of ototoxicity management across the United Kingdom (UK). *International Journal of Audiology*; 1–13.
- May M, Blumenthal F, Klein SR. (1983) Acute Bell's palsy: prognostic value of evoked electromyography, maximal stimulation, and other electrical tests. *Amj Otol*;5(1):1-7.
- May M. (2000) Anatomy for the clinician. In: May M, Schaitkin BM, (Ed) *The facial nerve*. New York: Theime;p19-56. p57-67

- Melo AA, Caldas Neto SS, Leão FS, Campos AJC. (2013) Effect of intratympanic mitomycin C on the development of cholesteatoma and otitis media in rats. *J Laryngol Otol*;127:359
- Mikulec AA, Plontke SK, Hartsock JJ, Salt AN: (2009) Entry of substances into perilymph through the bone of the otic capsule after intratympanic applications in guinea pigs: implications for local drug delivery in humans. *Otol Neurotol*; 30:131–138.
- Morgan, G. (1996) Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and The Chemoprevention of Colorectal and Nonaspirin Oesophageal Cancers. *Gut* 38: 646-648.
- Nader ME, Saliba I. (2012) Ototoxicity of intratympanic docusate sodium and mineral oil in the guinea pig. *Otolaryngol Head Neck Surg*. Mar;146(3):455-60. Epub 2011 Nov 18.
- Naeem, S., Najam, R., Khan, S. S., Mirza, T., & Sikandar, B. (2019). Neuroprotective effect of diclofenac on chlorpromazine induced catalepsy in rats. *Metabolic brain disease*, 34(4), 1191–1199.
- Özturan O, Lew H, Jerger J (1994). Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. *KBB İhtisas Dergisi*; 2: 194–205
- Özturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR (1996). Monitoring of cisplatin ototoxicity by distortion product otoacoustic emissions. *Auris Nasus Larynx*; 23: 147–51.
- Parharm K, Sun XM, Kim D. (2001) Noninvasive assesment of auditory function in mice: auditory brainstem response and distortion product otoacoustic emissions. In: Willott JP, (ed.), *Handbook of Mouse Auditory Research: From Behavior to Molecular Biology*. New York. CRC Press;. p37-58.
- Peleg, U., Perez, R., Freeman, S., & Sohmer, H. (2007). Salicylate ototoxicity and its implications for cochlear microphonic potential generation. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 18(3), 173–188.

- Plontke, S. K., Mynatt, R., Gill, R. M., Borgmann, S., & Salt, A. N. (2007). Concentration gradient along the scala tympani after local application of gentamicin to the round window membrane. *The Laryngoscope*, 117(7), 1191–1198.
- Poonam, Thakur, and Sanyal S.N. (2010) Chemopreventive Role of Preferential COX-2 Inhibitor Diclofenac in 9,10-Dimethylbenz(a)anthracene Induced Experimental Lung Carcinogenesis. *Am. J. Biomed. Sci* 2(3), 275-288.
- Pownell PH, Wright CG, Robinson KS, Meyerhoff WL. (1994) The effect of cyclophosphamide on development of experimental cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*;120: 1114–16
- Proctor B, Nager GT. (1982) The facial canal: normal anatomy, variations and anomalies. I. Normal anatomy of the facial canal. *Ann Otol Rhinol Laryngol*; 97:33-44.
- Rizk, H. G., Lee, J. A., Liu, Y. F., Endriukaitis, L., Isaac, J. L., & Bullington, W. M. (2020). Drug-Induced Ototoxicity: A Comprehensive Review and Reference Guide. *Pharmacotherapy*, 40(12), 1265–1275.
- R.R. Miller (1978). Deafness due to plain and long-acting aspirin tablets *J. Clin. Pharmacol.*, 18(10).
- Robinette MS, Glatke TJ (2000) Otoacoustic Emissions. In Roeser RJ, Valente M, Hosford- Dunn H. *Audiology: Diagnosis*. New York: Thieme Medical Publishers. p. 503–26
- Rybak LP (2007). Vestibüler ve İşitsel Toksisite. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, (eds). Koç C. Çeviri editörü. *Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, 4. baskı*. Güneş Tıp Kitapevi, s. 2933–130
- Rybak L P, Perro C. (2013) *Ototoksisite. İçinde: Otoloji ve Nöro-otoloji Çelik O* (ed). Cilt-2, Elit Ofset Matbaacılık, İstanbul s. 713-719.

- Sagit, M., Somdas, M. A., Korkmaz, F., & Akcadag, A (2013). The ototoxic effect of intratympanic terbinafine applied in the middle ear of rats. *Journal of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 42(FEB), 1–6.
- Salame K, Ouaknine GE, Arensburg B, Rochkind S. (2002) Microsurgical anatomy of the facial nerve trunk. *Clin Anat*; 15:93-99
- Salt, A. N., & Plontke, S. K (2009). Principles of local drug delivery to the inner ear. *Audiology & neuro-otology*, 14(6), 350–360.
- Santi P, Mancini P. Koklear Anatomi ve Santral Adituar Yollar. In: Cummings CW, Haughey BH, Thomas JR, Harker LA (eds), *Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi (4. ed)* Güneş Tıp Kitabevi, Ankara 2007, pp. 3373- 91
- Schonthal, H., and Axel. (2010) Exploiting Cyclooxygenase-(in)Dependent Properties of COX-2 Inhibitors for Malignant Glioma Therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry Vol.10*, No.6, 450-461.
- Seddon H.(1943) Three types of nerve injury. *Brain*; 66,237-288,
- Seki Y, Krain L, Yamada T, Kimura J. (1990) Transcranial magnetic stimulation of the facial nerve: recording technique and estimation of the stimulated site. *Neurosurgery*.;26(2):286-290.
- Sennaroglu L, Ozkul A, Gedikoglu G, Ergin T. (1998) Effect of intratympanic steroid application on the development of experimental cholesteatoma. *Laryngoscope*;108:543–7
- Sunderland S: (1951) A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*; 74:491-516
- Takahashi H, Funabiki K, Hasebe S, Fukuda-Yamamoto T, Kaieda S, Iwanaga T, Takasaki, K. (2005). Clinical efficacy of 5-fluorouracil (5-FU) topical cream for treatment of cholesteatoma. *Auris Nasus Larynx*, 32(4):353-357.

- Tanaka S, Tatsuguchi A, Futagami S, Gudis K, Wada K, Seo T, Mitsui K, Yonezawa M, Nagata K, Fujimori S, Tsukui T, Kishida T, Sakamoto C.(2006). Monocyte chemoattractant protein 1 and macrophage cyclooxygenase 2 expression in colonic adenoma. *Gut* 55:54–61.
- Tomlin J, Chang D, McCutcheon B, Harris J. (2013). Surgical technique and recurrence in cholesteatoma: a meta-analysis. *Audiology and Neurotology*, 18(3):135-142.
- Topdag, M., Iseri, M., Gelenli, E., Yardimoglu, M., Yazir, Y., Ulubil, S. A., Topdag, D. O., & Ustundag, E (2012). Effect of intratympanic dexamethasone, memantine and piracetam on cellular apoptosis due to cisplatin ototoxicity. *Journal of Laryngology and Otology*, 126(11), 1091–1096.
- Topdag M, Topdag DO, Ila K, Muezzinoglu B, Yaprak B, Ozturk M, Caliskan S, Iseri M. (2015) The effect of memantine on functional recovery of the facial nerve after crush injury. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. Feb;272(2):473-8.
- Vakharia, K. T., Lindsay, R. W., Knox, C., Edwards, C., Henstrom, D., Weinberg, J., Hadlock, T. A., & Heaton, J. T. (2011). The effects of potential neuroprotective agents on rat facial function recovery following facial nerve injury. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 144(1), 53–59.
- Van Hecke R, Van Rompaey V, Wuyts F L, Leyssens L, Maes L. (2017) Systemic Aminoglycosides-Induced Vestibulotoxicity in Humans. *Ear and Hearing*,;38(6), 653–662.
- Van Spaendonck MP, Timmermans JP, Claes J, Scheuermann W, Wuyts FL, Van De Heyning PH. (1999) Single ototopical application of mesna has no ototoxic effects on guinea pig cochlear hair cells: a morphological study. *Acta Otolaryngol*;119: 685–9

- Vincenti V, Magnan J, Zini C. (2014) Cochlear effects of intraoperative use of Mesna in cholesteatoma surgery. *Acta Biomed*;85: 30–4
- Wagner N, Cayé-Thomasen P, Laurell G, Bagger-Sjöbäck D, Thomsen J: (2005) Cochlear hair cell loss in single-dose versus continuous round window administration of gentamicin. *Acta Otolaryngol*; 125:340–345.
- White SJ, Wright CG, Robinson KS, Meyerhoff ML. (1995) Effect of topical hyaluronic acid on experimental cholesteatoma. *Am J Otolaryngol*;16:312–18
- Whitehead M, Lonsbory-Martin BL, Martin G (1992) Evidence for two discrete sources of 2f1- f2 distortion product otoacoustic emissions in rabbit. Differential dependence on stimulus parameters. *J Acoust Soc Am* 91:1587–607
- Wright CG, Bird LL, Meyerhoff WL. (1991) Effect of 5-fluorouracil in cholesteatoma development in an animal model. *Am J Otolaryngol*;12:133–8
- Y. Cazals, (2000) Auditory sensori-neural alterations induced by salicylate, *Prog. Neurobiol.* 62 (6) 583e631
- Yalcinozan, E. T., Kösemihal, E., Aksit, M. A., Tinazli, R., Safakogullari, H., Kazikdas, K. C., & Safak, M. A (2018). Does intratympanic xylitol administration have ototoxic effects in a mouse ear model? *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 115(September), 71–76.
- Yamamoto-Fukuda T, Terakado M, Hishikawa Y, Koji T, Takahashi H. (2008). Topical application of 5-fluorouracil on attic cholesteatoma results in downregulation of keratinocyte growth factor and reduction of proliferative activity. *European archives of oto-rhino-laryngology*. 265(10): 1173-1178.

# ÖZGEÇMİŞ

## I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Halil ELDEN

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli

Askerlik durumu: Yapıldı

İletişim adresi ve telefonu: Tekeler Mahallesi 1006 Sokak No:4 Daire:4  
Adapazarı/SAKARYA Telefon: 0537 775 30 25

Yabancı dili İngilizce

## II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2016-2021: Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz  
ve Baş Boyun Cerrahisi Uzmanlık Eğitimi

2009-2015: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

## III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru): Doktor

## IV- Mesleki Deneyimi:

2016: Rize Kalkandere Şaban Cengiz İlçe Devlet Hastanesi

2016- 2021: Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz  
ve Baş Boyun Cerrahisi Uzmanlık Eğitimi

## V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

## VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları: (Ulusal ya da uluslararası makale, bildiri, poster, kitap/kitap bölümü vb.)

1. Kara, A., Guven, M., Yilmaz, M. S., Demir, D., **Elden, H.** (2017). Are neutrophil, platelet and eosinophil-to-lymphocyte ratio and red blood cell distribution width can be used for nasal polyposis?. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 1-5.
2. Demir, D., Yılmaz, M. S., Güven, M., Kara, A., **Elden, H.**, & Erkorkmaz, Ü. (2018). Comparison of clinical outcomes of three different packing materials in the treatment of severe acute otitis externa. *The Journal of Laryngology & Otology*, 132(6), 523-528.
3. Kara, A., Guven, M., Sinan Yilmaz, M., Demir, D., Adigul, Ç., Durgut, M., **Elden, H.**, Mutlu, F., & İseri, M. (2019). Comparison of two different bone anchored hearing instruments: Baha-5 vs Ponto-plus. *Acta oto-laryngologica*, 139(6), 517-521.



4. Demir, D., **Elden, H.**, Güven, M., Yılmaz, M. S., & Kara, A. (2021). Evaluation of nasal tip shape in patients with severe caudal septal deviation after modified extracorporeal endonasal septoplasty. *Auris, nasus, larynx*, 48(1), 90–97.
5. Güven EM, Karacan K, Güven M, **Elden H**, Özçelik Korkmaz M.(2021). Topographic anatomy of the internal branch of the superior laryngeal nerve. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*;278(3):727-731
6. Kara A, **Elden H**, Güven M, Yılmaz MS, Demir D. Paranasal Sinüs Bilgisayarlı Tomografi İncelemeleri ile Keros Sınıflaması ve Kribriiform Plate Derinliği Asimetrisinin Değerlendirilmesi. *Sakarya Medical Journal*, (2018); 8: 352-58

#### **VII- Bilimsel Etkinlikleri**

Aldığı burslar: -

Ödüller

1. “Öjenolün Sıçan Modelinde Deneysel Olarak İnüklenen Miringoskleroz Üzerine Etkisi” Çalışması İle Sözel Bildiri 3.’ lük Ödülü, Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz Ve Baş Boyun Cerrahisi Sanal Kongresi, 26-28 Kasım 2020
2. Projeleri  
Verdiği konferans ya da seminerler  
Katıldığı paneller (panelist olarak)

#### **VIII- Diğer Bilgiler**

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

1. 39. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, Antalya, 8-12 Kasım 2017
2. 12. Uygulamalı Polisomnografi Kursu, İstanbul, 15-18 Mart 2018
3. 10. Ulusal Larengoloji Kongresi, Ankara, 4-5 Mayıs 2018
4. “III. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” Eğitim Kursu, Sakarya, 23 Kasım-2 Aralık 2018
5. 15. Türk Rinoloji Kongresi, 7.Ulusal Otoloji Nörootoloji Kongresi ve 3.Ulusal Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, Antalya, 4-7 Nisan 2019
6. Türk KBB-BBC Derneği Asistan Okulu Taze Donmuş Kadavra Uygulamalı Endoskopik Sinüs Cerrahisi Disseksiyonu, Temporal Kemik Disseksiyonu, Rinoplasti ve Fasiyal Plastik Disseksiyon Kursu, Ankara, 15-16 Şubat 2020
7. Adım Adım Allerjik Rinit Kursu, 31 Ağustos – 24 Eylül 2020
8. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Sanal Kongresi, 26-28 Kasım 2020

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri