

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet Rifat KARASALİHOĞLU

TİMOKİNONUN ASPİRİN OTOTOKSİTESİNE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Esmâ SÜLEYMAN

EDİRNE-2019

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük destek, ilgi ve yardımlarını gördüğüm, bilimsel katkıları ve örnek kişilikleri ile bana rehber olan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet R. KARASALİHOğLU, Prof. Dr. Muhsin KOTEN, Prof. Dr. Cem UZUN, Prof. Dr. Recep YAğIZ, Prof. Dr. Abdullah TAŐ, Dr. Öğr. Üyesi. Selis Gülseven GÜVEN'e; birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Araştırma Görevlisi hekim arkadaşlarıma; tez çalışmamdaki katkıları sebebiyle Prof. Dr. Necdet SÜT'e, Dr. Öğr. Üyesi Erdoğan BULUT'a, Prof. Dr. Serap ŐIRVANCI'ya ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne; beraber çalışma şansına sahip olduğum bütün sağlık emekçilerine tesekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
KULAK ANATOMİSİ	3
KOBAY (GUINEA PIG) TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ	12
İŞİTME FİZYOLOJİSİ	12
OTOAKUSTİK EMİSYONLAR	15
İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI	18
ASİRİN	19
ASİRİN OTOTOKSİTESİ	21
TİMOKİNON	22
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	32
TARTIŞMA	42
SONUÇLAR	48
ÖZET	50
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	54
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

- ABR** : “Auditory Brainstem Response”, İşitsel Beyinsapı Yanıtları
- COX** : Siklooksijenaz
- dB** : Desibel
- DPOAE** : “Distortion Product Otoacoustic Emission”, Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar
- DTH** : Dış Tüylü Hücre
- Hz** : Hertz
- İTH** : İç Tüylü Hücre
- NSAİİ** : Non steroid antiinflamatuvar ilaç
- OAE** : Otoakustik emisyon
- PG** : Prostaglandin
- SNİK** : Sensörinöral İşitme Kaybı
- SNR** : “Signal Noise Ratio”, Sinyal Gürültü Oranı
- TEM** : Taramalı Elektron Mikroskopisi
- TEOAE** : “Transient Evoked Otoakoustic Emission”, Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar

GİRİŞ VE AMAÇ

Aspirin Hipokrat döneminde söğüt ağacı kabuğu ekstresi şeklinde analjezik olarak kullanılan, antipiretik etkisi 200 yıldan uzun bir süredir bilinen, antiagregan etkisi ise bundan yaklaşık 70 yıl sonra bulunan (1), ilk defa 1989 yılında alman Bayer şirketi tarafından piyasaya sürülen (2), dünyanın her yerinde kullanılan etkili ve ucuz bir ilaçtır . Aktif bileşeni salisilat olan aspirin; antiagregan, antipiretik, analjezik ve antiinflamatuvar olarak yaygın kullanılmaktadır. Antiagregan etkisini düşük dozlarda, antipiretik ve analjezik etkisini orta dozlarda, antiinflamatuvar etkisini ise yüksek dozlarda kullanıldığında göstermektedir. 20. yy' da antiinflamatuvar olarak romatoid artrit tedavisinin temelini oluşturuyordu ve ilk bu dönemlerde salisilatın tinnitus, hafif düzeyde bilateral sensörinöral işitme kaybı ve hiperakuzi yaptığı ortaya konulmuştur (3).

Geleneksel tıpta Nigella Sativa'nın (N. Sativa) tohum ve yağı ateş, öksürük, burun tıkanıklığı, bronşit, astım, dispne, hipertansiyon, diyabet, iltihaplanma, süt üretimi, egzama, baş dönmesi ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıklar için doğal bir ilaç olarak dünyanın her tarafında kullanılmıştır (4, 5). N. Sativa'ya ait özellikler esansiyel yağ içerenin majör bileşeni olan timokinona atfedildiği için timokinon, majör bioaktif bileşen olarak kabul edilir (5, 6). Timokinonun antineoplastik, antiinflamatuvar, immünomodülatör, hipoglisemik, antihipertansif, antimikrobiyal, antiparazitik ve antioksidan etkileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (7). KBB klinikleri için yeni bir bileşen olan timokinon akustik travma (8) ve external otit (9) tedavilerinde denenmiş; ancak henüz rutin kullanım endikasyonu olan bir hastalık yoktur.

Aspirinin aktif bileşeni salisilatın yüksek doz kullanımının reversible orta dereceli sensörinöral işitme kaybı ve tinnitus yaptığı iyi bilinmektedir. Günümüzde antiinflamatuvar

olarak yüksek dozda kullanım sıklığı azalmış olmakla birlikte salisilatın ototoksik etkilerine karşı henüz etkin kullanımı olan bir madde bulunamamıştır. Ülkemizde akustik travmada timokinonun protektif etkisini elektrofizyolojik testler ile araştıran birkaç çalışma yapılmış (8); ancak salisilat ototoksitesi üzerine etkisini araştıran çalışma yoktur. Biz elektrofizyolojik testler ve elektron mikroskop değerlendirmesi ile salisilatın akut ototoksik etkisine, timokinonun protektif etkisinin varlığını veya yokluğunu araştırmayı amaçladık.



GENEL BİLGİLER

KULAK ANATOMİSİ

Kulak işitme ve dengenin periferik organıdır ve temporal kemik içine yerleşmiş, görevleri ve yapıları birbirinden farklı üç bölümden oluşur: 1-Dış kulak, 2-Orta kulak, 3.İç kulak (10).

Dış Kulak (*Auris Externa*)

Kulak kepçesi(*Auricula*) ve dış kulak yolu(*Meatus acusticus externus*) dış kulağın iki kısmını oluşturur (11).

Kulak kepçesi, deri ve perikondrium ile örtülü ince elastik bir kıkırdak yapıdan oluşmuştur (11)

Dış kulak yolu, konkadan kulak zarına kadar olan mesafeyi içine alır (10). Hafif 'S' şeklinde oblik yerleşimi bulunan dış kulak yolunun arka-üst duvar uzunluğu yaklaşık olarak 25 mm iken, ön-alt duvar uzunluğu 31 mm'dir (10, 12). Dış kulak yolunun 1/3 dış bölümünü arka üst kısmı açık bir boru biçimindeki fibroelastik bir yapı (kıkırdak) oluştururken 2/3 iç bölümü ise kemiksel yapıdadır. Dış kulak yolunun kıkırdak kısmını kaplayan deride kıl kökü, yağ, ter ve serumen bezleri bulunmaktadır. Kemik kısmını kaplayan deri ise oldukça ince olup sadece periostun üzerini kaplar; yağ, kıl ve serumen bezleri bulundurmaz (10-12).

Orta Kulak (*Auris Media*)

Kulak zarı ile kemik labirent arasında yerleşim gösteren ve üstü müköz membranla örtülü bir bölümdür. Vertikal ve anteroposterior çapları 15 mm, mediolateral derinliği üstte yaklaşık 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm' ye kadar iner (12).

Orta kulak boşluğu, ön tarafta *tuba auditiva* (östaki borusu) ile nazofarinkse açılmakta, arkada ise *aditus ad antrum* yolu ile mastoid mastoid antrum ve hücreleri ile devamlılık göstermektedir (11). Orta kulak kavitesi topografik olarak kulak zarına göre üç bölümden oluşur. Mezoimpanum kulak zarı seviyesini, epitimpanum kulak zarının üstünde kalan kısmı, hipotimpanum ise kulak zarının altında yer alan orta kulak boşluğunu ifade eder (10).

Orta kulak kavitesinin 6 duvarı bulunmaktadır (10):

Üst duvar (*tegmen tympani*): Bu duvar epitimpanum tavanını oluşturmaktadır. Orta kulak boşluğunu orta fossa durasından ayırır (10).

Alt duvar: Hipotimpanumun döşemesini oluşturur. Bulbus vena juguli ve internal karotis arter ile komşuluğu bulunmaktadır (10).

Ön duvar: Ön duvarın en alt kısmı *canalis caroticus*'un dikine parçasıyla komşuluk gösterir. Üstte tensor timpani kasını içinde bulunduran yarım kemik kanal ve hemen altındaysa östaki borusunun timpanik orifisi yer alır (10).

Arka duvar: Orta kulak ile mastoid arasındaki duvardır. Üstteki parçasını *aditus ad antrum* oluşturur. *Eminentia pyramidalis* burada bulunur. *Eminentia pyramidalis* içinde *m. stapedius* yer alır. Bu bölüm fasial sinirin ikinci parçası ile yakın komşuluk gösterir. *Chorda tympani eminentia pyramidalis*'in lateralinden orta kulağa girer. *Chorda tympani* ile *eminentia pyramidalis* arasında *recessus fasialis* bulunmaktadır. *Eminentia pyramidalis* medialinde sinüs timpani yer alır (10-14).

Dış duvar: Bu duvarı kulak zarı ile skutum oluşturur. Skutum epitimpanumda *incisura tympanicus*'u üstten örten skuamöz kemiğin uzantısıdır. Kulak zarı, timpanik kemiğin *sulcus tympanicus*'una uyan Gerlach halkası olarak adlandırılan fibröz anulus aracılığı ile tespit edilmiştir (10, 12, 13, 15). Anulus üst tarafta tam değildir. Posterior ve anterior malleolar ligamentlerle devam eder. Kulak zarının bu ligamentler üzerinde yer alan gevşek bölümüne *pars flaccida* (Shrapnell zarı), alttaki gergin kısma ise *pars tensa* adı verilir. Kulak zarı oval biçimli, yarı geçirgen ve sedef renktedir. Vertikal uzunluğu 9-10 mm olan zarın horizontal uzunluğu 8-9 mm, kalınlığı ise 0.1 mm'dir (11, 15-18). Kulak zarının pars tensa kısmında, ortada yukarıdan aşağıya doğru uzanım gösteren malleusun kulak zarı içerisinde yer alan kısmı olan *manubrium mallei* bulunur. *Manubrium mallei*'nin bitimindeki nokta

şeklindeki görüntü umbo olarak adlandırılır (11-13). Umbodan başlayarak öne ve aşağıya doğru kulak zarının kenarına kadar ilerleyen üçgen biçimindeki aydınlık bölgeye Politzer üçgeni denir (14). Kulak zarının pars tensa bölümü üç tabakadan oluşmuştur. Dış yüzde dış kulak derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve bunların arasında ise fibröz tabaka yer alır (10-13). Kulak zarının *pars flaccida* bölümünde fibröz tabaka bulunmamaktadır (11).

İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayıran duvardır. Epiteimpanum kısmında horizontal, anterior ve posterior vertikal semisirküler kanal ile fasial sinirin geçtiği Fallop kanalı yer alır. Mezotimpanumdaki iç duvarda ise fasyal sinirin hemen alt kısmından başlayan ve kokleanın birinci turu hizasına rastlayan promontoryum ve labirent pencereleri vardır. Promontoryumun arka üst tarafındaki çukurluk, oval pencere (*fossula fenestra vestibuli*) olarak adlandırılır. Stapes tabanı buraya yerleşir. Promontoryumun arka alt tarafında yuvarlak pencere (*fossula fenestra cochlea*) yer alır ve *membrana secundaria* olarak isimlendirilen fibröz bir doku ile örtülüdür (10-14). Timpanik boşluğa uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına temel geçiş yeri olan yuvarlak pencere yaklaşık 1.5 mm genişliğinde ve 2-3 mm uzunluğundadır (19). Yuvarlak pencere nişinin şekli, orta kulak efüzyonlarının ve orta kulaktaki değişik maddelerin bu bölgede birikmesine sebep olur (20). Bu şekilde orta kulak sıvılarının iç kulağa difüzyonlarının artmasına neden olabilir. Bunun yanında yuvarlak pencere membranı ses iletiminde de rol alır. Promontoryumun orta kısmında sinir ve damarlardan oluşmuş bir ağ (*plexus tympanicus*) yer alır (10-14).

Orta kulak kavitesinde malleus, incus ve stapes olmak üzere üç adet hareketli kemikçik bulunmaktadır (11-13, 17). Kemikçikler manubrium mallei ile kulak zarına ve anuler ligament aracılığı ile oval pencereye bağlanmışlardır. Kemikçiklerin arasındaki inkudo-malleolar ve inkudo-stapedial olmak üzere iki eklem bulunur. Bunun yanında kemikçikleri orta kulak duvarına bağlayan dört ligament ve iki kas bulunur. Dört ligamentin üçü malleusa biri ise inkusa aittir. Kemikçiklere tutunan kaslar *m.stapedius* ve *m.tensor tympani*'dir (10, 13, 18).

İç Kulak (*Auris Interna*)

İç kulak, işitme ve denge ile ilgili reseptörlerin yer aldığı bölümdür ve temporal kemiğin petröz parçasında yer almaktadır (10-12). Oval ve yuvarlak pencere aracılığı ile orta kulakla, koklear ve vestibüler aquaduktus yolu ile kafa içi ile bağlantılıdır (10, 11).

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

arterden hatta vertebral arterden bile kaynaklandığı olur (11, 14-16, 21). İç kulağın venöz dönüşü ise arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yoluyla meydana gelen labirentin ven ile olur. Lenfatik sistem perilenf ve endolenf olarak kabul edilir (22).

İç kulak sıvıları perilenf, endolenf ve korti lenf olmak üzere üç türden oluşmaktadır. Perilenf kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıya benzer, Na⁺'dan zengin (Na⁺ 148 mEq/L), K⁺'dan ise fakirdir (K⁺ 4-6 mEq/L). Endolenfin yapımında *stria vaskularis* rol almaktadır. K⁺ açısından zengin (K⁺ 140-160 mEq/L), Na⁺'dan fakirdir (Na⁺ 6-10 mEq/L). Kortilenf Corti tüneli ile Nuel boşluklarında yer alır. Beyin omurilik sıvısından kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde uzanım gösteren akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin K⁺ içeriğinin yüksek olması sinirsel iletiyi engelleyeceği için Corti tünelinin içinde uzanım gösteren dış tüylü hücrelere ait lifler kimyasal açıdan perilenfe benzeyen kortilenfle sarılmıştır (16).

İç kulak membranöz (zar) ve kemik (periotik) labirent olmak üzere iki bölümden oluşur (11-14).

Kemik labirent: Otik kapsül olarak adlandırılan sert kompakt kemik dokusu tarafından oluşturulur. Zar labirentse bunun içinde bulunur. Aralarında perilenf denen sıvı yer alır. Kemik labirent şu kısımlardan meydana gelir (21):

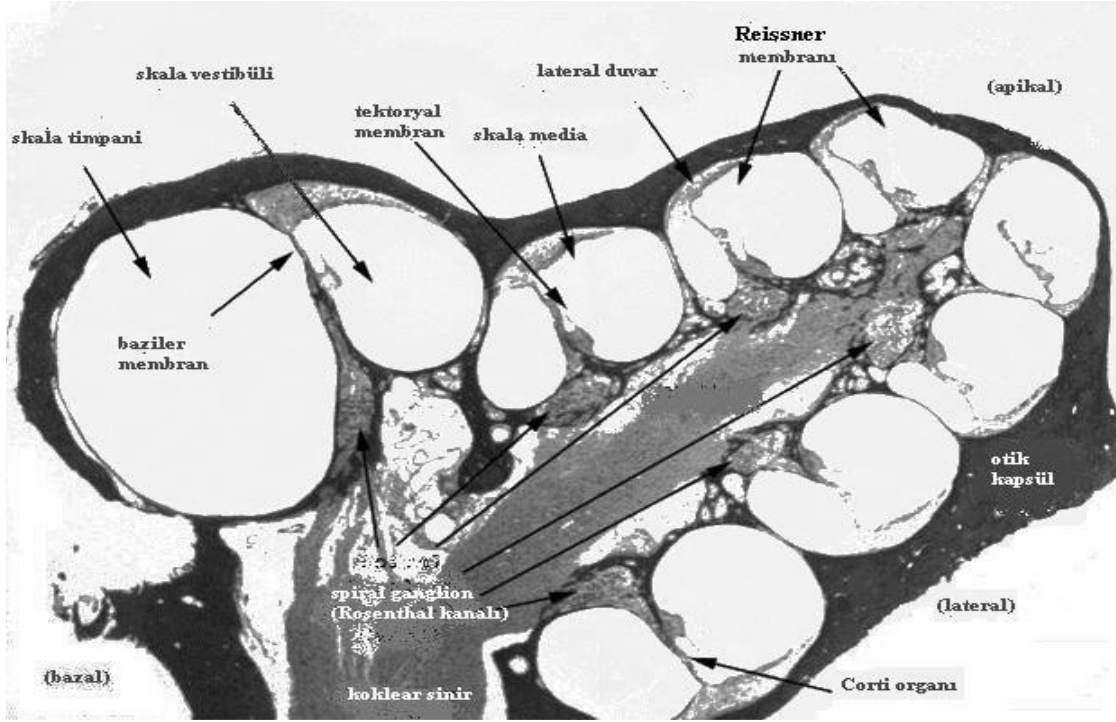
- 1- Vestibulum
- 2- Kemik semisirküler kanallar
- 3- Koklea
- 4- Vestibuler akuaduktus
- 5- Koklear aquaduktus

1- Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid şekilde boşluktur. Dış yan duvarı oval ve yuvarlak pencere aracılığı ile timpanik boşluğa; ön duvarsa kokleaya komşudur. Arka üst duvarda semisirküler kanallarla birleşir. İç yan duvardaysa ön altta sakkulusun yerleştiği sferik reses, arka üstte ise utrikulusun yerleştiği eliptik reses yer alır (21, 22).

2- Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior, lateral adlı üç semisirküler kanal uzayın üç düzlemine yerleşik bulunmaktadır. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadar olan bu semisirküler kanallar vestibulumu açılır (12, 21, 22).

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

sekizinci kranial sinirin lifleri uzanım gösterir. Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral biçimde olmasından dolayı modiolusun spiral kanalı olarak da adlandırılan Rosenthal kanalına açılırlar (Şekil 1). Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen Corti ganglionu yer alır (21, 22).



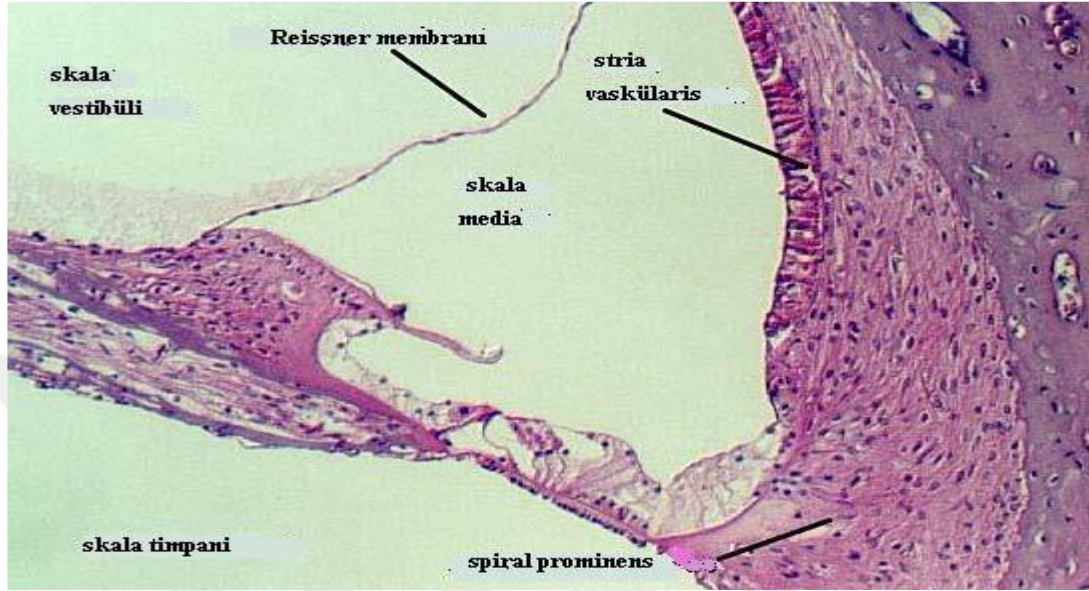
Şekil 1. Kokleanın radyal kesiti (bazal→apeks) (20)

Canalis spiralis cochlea, modiolustan uzanım gösteren kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devamlılık bulur ve karşı duvara ulaşarak *canalis spiralis cochlea*'yı iki parçaya böler. Vestibulumuna açılan üstteki parçaya vestibuler skala, fenestra koklea aracılığı ile kavum timpaniye açılan alttaki parçaya ise skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema olarak adlandırılan açıklıkla birleşirler (21, 22)

Lamina osseanın serbest kenarıyla *canalis spiralis cochlea*'nın dış yan duvarı arasındaki baziler membranın üst tarafında, Corti organı (Şekil 2) adı verilen işitme organı yer alır (21-23).

4- Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlayıp petröz kemiğin fossa subarkuata denilen çukurunda sonlanır. Bu kanalın içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus vardır (13, 21, 22).

5- Aquaduktus koklea: Skala timpaniden başlayıp petröz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. Periotik doku ile doludur ve gerçek bir kanal niteliği taşımaz (10).



Şekil 2. Koklear skalalar ve Corti organı (20)

Zar labirent: Zar labirenti oluşturan bölümler; utrikulus, sakkulus, duktus semisirkularis, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis'dir (10).

1- Utrikulus: Hafifçe düzleşmiş oval bir keseciktir ve vestibulun girişini işgal eder. Ön ve dış bölümünde makula bulunur. Burası denge sisteminin duyarlı epitelini içerir (10).

2- Sakkulus: Sakkul de oval biçimlidir fakat utrikulustan küçüktür. Yapı bakımından utrikulusun aynısı olmasına rağmen, makulası utrikulustaki gibi yatay değil, dikey konumda yerleşmiştir. Makulalar yer çekimi ve lineer hareketlerden etkilenirler (10).

3- Duktus semisirkularis: Kemik semisirkuler kanalların içerisinde bulunurlar. Ancak kemik kanalların 1/5 kalınlığındadır. Diğer 4/5'lik kısmı perilenf ile doludur. Membranöz kanalların ampullalarında krista ampullaris adı verilen bölgelerde duyu epitelini mevcuttur (10).

4- Duktus endolenfatikus: Duktus utrikulosakkularis adlı borucuktan doğar. Aquaduktus vestibuli adlı kemik kanal içinde ilerler. Fossa subarkuatadaki sakkus endolenfatikus adlı şişlikte duramater altında sonlanır (10).

5- Duktus perilenfatikus: Aquaduktus koklea içerisinde bulunur ve skala timpani ile subaraknoidal boşluğu birleştirir. İçinde perilenf bulunur (21, 22).

6- Duktus koklearis: Membranöz labirentin bu parçası kemik kokleanın spiral kanalını tüm uzunluğunca takip eder (12).

Üçgen şeklindeki koklear duktus üç bölgeye ayrılabilir (21):

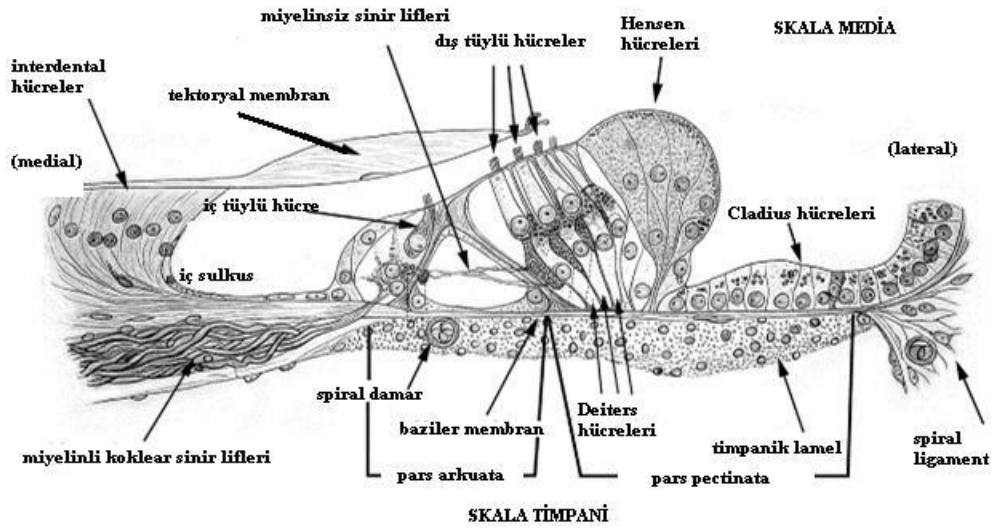
- 1- Skala media ve skala vestibüli arasındaki sınırı oluşturan Reissner membranı.
- 2- Spiral ligaman, stria vaskülaris, spiral prominens ve dış sulkusu içeren lateral duvar.
- 3- Skala media ve skala timpani arasında sınır oluşturan baziler membran ve osseöz spiral lamina.

Reissner membran (Vestibüler membran); Skala mediayı skala vestibüliden ayıran üç katmanlı bir yapıdır. Bu üç katmanlı yapı, bir bazal lamina ile ayrılan iki hücre tabakasından oluşur. Reissner membranı spiral limbusun modiolar kenarına ve lateralde stria vaskülarisin apeksinde spiral ligamana yapışır (21).

Spiral ligaman; Koklear duktusun lateral duvarının en büyük kısmını oluşturur. Gevşek bağ dokusu ve iyon transportunda görevli enzimleri içeren hücrelerden oluşur. Lateral sınırını otik kapsülün iç yüzü, medial sınırını ise stria vaskülaris ve spiral prominens oluşturur. Spiral ligaman skala vestibüli ve skala timpani içlerine kadar uzanarak bu iki perilenfatik kanal arasındaki ilişkinin lateral yolunu oluşturur. Spiral ligaman matriksi fibroblast benzeri hücreler ve çok sayıda ekstraselüler filaman içerir. Spiral ligamanda tip I fibroblast benzeri hücreler baskındır. Bununla birlikte diğer 4 tip fibroblast benzeri hücre (II,III,IV,V) ve dış sulkus hücreleri spiral prominens yakınlarında bulunabilir (21).

Stria vaskülaris; Reissner membranının yapışma yerinden spiral prominense kadar uzanır. Stria vaskülaris bazal membranı olmayan özel bir epiteldir. Temel olarak üç hücre tipi (marjinal, intermediate ve bazal hücreler) içeren stratifiye epitelyum ve intraepitelyal kapillerlerden oluşur. Marjinal hücreler stria vaskülarisin temel fonksiyonel birimidir. Pozitif endokoklear potansiyel üretir ve endolenfin düşük sodyum, yüksek potasyum iyon konsantrasyonunun sürdürülmesini sağlar (21).

Spiral prominens; Stria vaskülaris ve baziler membran arasında uzanan bir doku kenarıdır. Spiral prominensin konnektif doku matriksi omega şeklinde kapillerler ve çok sayıda tip II fibroblast hücreleri içerir. İyon transportunda görev alır. Dış sulkus; Spiral ligaman ve baziler membranın Claudius hücreleri tarafından oluşturulan açık kanala denir (21).

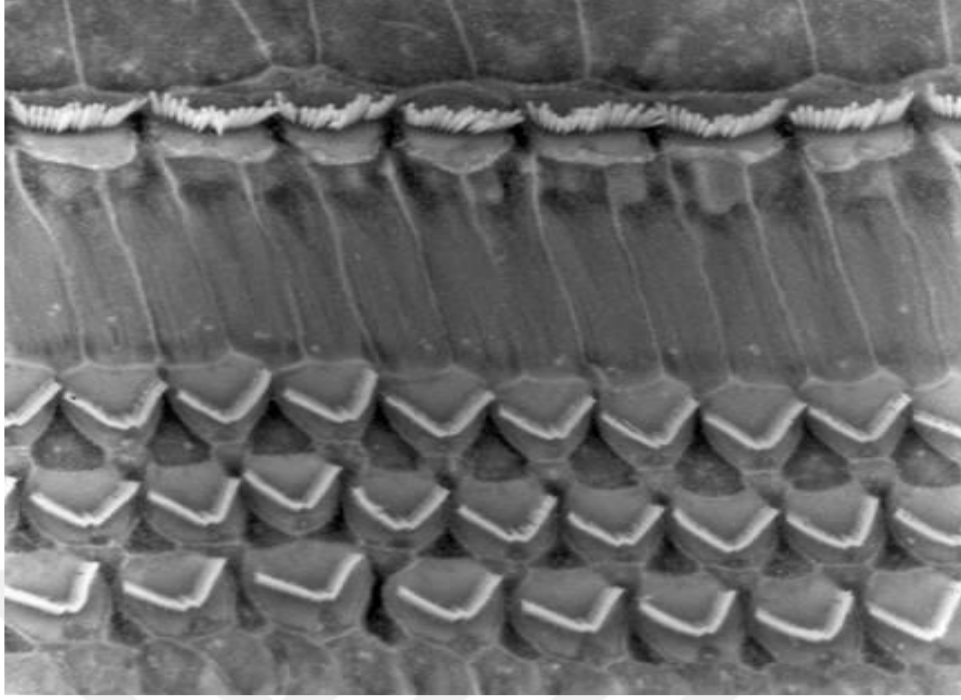


Şekil 3. Baziler membran bölgeleri ve Corti organı (20)

Baziler membran; Kemik spiral laminanın lateral kenarından spiral ligaman içine kadar uzanır. İnsanda ortalama uzunluğu 31.5 mm'dir. Genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru artar. Baziler membranın uzunluğu boyunca, kalınlığı ve genişliğindeki değişiklikler membranın frekans spesifik maksimum vibrasyonlar ve "travelling wave" oluşumundan sorumludur (10, 21). Baziler membranın dış tarafında Claudius ve Boettcher hücreleri bulunur. Bundan sonra Corti organı başlar (Şekil 3) (10, 21, 23).

Corti organı: Baziler membranın iç kenarında dizilmiş nöroepitelial yapıları içerir. İnsanda koklea içerisindeki toplam uzunluğu yaklaşık 35 mm civarındadır. Genişliği bazalden apekse giderek artar. İTH ve DTH'ler olmak üzere 2 farklı duyuşal hücre ve destek hücrelerini içerir. DTH'lerin etrafını saran geniş bir ekstrasellüler boşluk (Nuel boşluğu) ve DTH ile İTH arasında tünel biçiminde bir boşluk (Corti tüneli) bulunur. Bu boşluklar destek hücrelerinin özelleşmesi ile meydana gelir. Boşlukların içerisinde perilenf bulunur (21).

Corti organı yapısında destek hücreler olarak; Hensen hücreleri, Deiters hücreleri, sütun hücreleri (pillar hücreler) ile falangeal (parmaksı) hücreler bulunmaktadır (21, 23). Corti organı yapısındaki DTH'ler ve İTH'ler mekanik (akustik) enerjinin, elektriksel (nöral) enerjiye dönüşümünde majör rol oynar. Her iki hücre morfolojik olarak ve nöral innervasyon yönünden belirgin farklılık gösterir (10, 24).



Şekil 4. İç ve dış tüylü hücre stereosilya diziliminin Taramalı Elektron Mikroskop görüntüsü (20)

Dış tüylü hücreler; silindirik yapıda olup, nükleusları bazal yerleşim gösterir. 3-4 sıra halinde bulunurlar. Dış tüy hücre demetleri karakteristik olarak “W” şeklinde izlenir. Tektoryal membran ile temas halindedir ve 3 sıralı 46-148 adet stereosilyadan oluşur. DTH’lerin uzunlukları koklea bazalinden apekse doğru giderek artar. Stereosilyalarında da benzer bir artış olur (21, 23).

İç tüylü hücreler; basık ve silindirik yapıdadır. Genelde tek sıra halinde yerleşirler. Bu hücrelerin tüycükleri düz bir hat veya geniş bir “U” şeklinde dizilirler. Stereosilyalar tektoryal membran ile temas etmez. Her hücrenin tüyleri, apeksleri modiolustan uzakta yerleşmiş, 2 sıralı ve çift “V” şeklinde (Şekil 4) düzenlenmiş 120 stereosilya içerir (21, 23).

Afferent sinir liflerinin %90-95’i İTH’ler ile sinaps yapar. Bunlar Tip I nöron olarak adlandırılır. Her bir İTH yaklaşık 15-20 Tip I nöron tarafından innerve edilir. DTH’ler geri kalan %5-10’u tarafından innerve edilir. Bunlara Tip II nöron denir. Her bir Tip II nöron yaklaşık 10 DTH’i innerve eder. Tip I nöronlar miyelinli liflerdir. Tip II nöronlar ise miyelinsizdirler. İç ve DTH’leri innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmiştir (10, 12, 21, 25).

KOBAY (GUINEA PIG) TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ

Koklea, timpanik bulla içindeki en belirgin yapıdır ve timpanik bulla medial duvarının büyük bölümünü yapar. İç kulak kavitesi geniştir ve iç kulak ince bir duvarla sarılmıştır. Koklea ve her üç semisirküler kanal orta kulak kavitesinde çıkıntı yaparlar ve böylece kolaylıkla tanınabilirler (26). Koklea insanda olduğu gibi skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç tubuler kompartmandan oluşur. Kobay ve insan kulağı morfolojisi bir çok yönden benzerlikler göstermesine rağmen bazı farklılıklar mevcuttur. Bu farklılıklar şunlardır (26-28):

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

İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Aurikulanın topladığı ses enerjisinin, kulağın çeşitli bölümlerinde değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri halinde beyine gönderilip burada ses halinde algılanması olayına işitme denir (11). İşitme, işitme sistemi (auditory system) adı verilen geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Dış, orta ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır. İşitme organı fonksiyonel bakımdan iki kısımda incelenir (10):

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

Bunlardan iletim aygıtı; dış kulak ve orta kulak, persepsiyon aygıtı ise iç kulak, işitme siniri ve onun santral bağlantıları ile işitme merkezinden oluşur (11). Ses dalgasının Corti organına iletilmesi sürecinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici etkileri vardır (12). İşitme fonksiyonu ses dalgalarının dış kulak

yoluna girmesi ile başlar. Dış kulak yolu ses dalgalarını sıkıştırır ve gergin olan kulak zarına iletir. Hava yolu denilen bu sisteme karşılık kafa kemikleri de titreşimleri iç kulağa kadar ulaştırabilmektedir. Buna kemik yolu denilmektedir. Normal bir kulakta hava yolu ile işitme, kemik yolu ile işitmeden ortalama iki kat fazladır (11).

İşitme için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden Corti organına iletilmesi gerekir (iletim-kondüksiyon). Bu mekanik bir olaydır ve sesin bizzat kendi enerjisi ile sağlanır. İkinci olarak Corti organında, ses enerjisi biyokimyasal olaylar ile sinir enerjisi haline dönüştürülür (dönüşüm-transdüksiyon). Üçüncü olarak iç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriki akım kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur. Bu olaya neural coding ya da relay adı vrilir. Son olarak da tek tek gelen bu sinir iletimleri işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür (10).

Dış Kulak Yolu Fizyolojisi

Kulak kepçesi, konumu ve biçimi ile çevredeki sesleri toplamaya, yönlendirmeye yarar. Konka ise megafon görevi yapar ve ses dalgalarını dış kulak yolunda yoğunlaştırır. Bu şekilde ses dalgalarının şiddetini 6 dB arttırdığı sanılmaktadır. Ses dalgalarının atmosferde yayılması ile dış kulak yolundaki yayılması karşılaştırıldığında yetişkin bir insanda sesin şiddetinin arttığı ve bu artışın 1000-8000 Hz frekansları arasında olduğu saptanmıştır. Normal yetişkinlerde bu şiddet artışı 3500-4000 Hz frekansındaki en yüksek değerine erişmektedir (10, 25, 29, 30).

Orta Kulak Fizyolojisi

Orta kulak ses enerjisini dış kulak yolundaki hava ortamından kokleadaki sıvıya iletim rolünü üstlenir (25, 31). Ses dalgaları ortam değiştirirken hava ve perilemf arasındaki rezistans farkından dolayı yaklaşık 30 dB kayba uğrar. Orta kulağın görevi ortam değiştirmekten meydana gelen bu kaybı karşılamak yani sesin şiddetini 30 dB artırmaktır (10, 31). Orta kulak burada transduser gibi rol oynayarak impedans adaptasyonu sağlar ve koklear sıvılara geçen akustik enerji amplifiye olur (29, 31).

Orta kulak sesin şiddetini üç mekanizma ile artırır (10):

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

Kulak zarı ses alıcısı ve transformatördür. Kulak zarının titreşim bakımından kemik anulus ve manibrium mallei olmak üzere iki sabit noktası vardır. Kulak zarı kemiğe sıkıca

yapıştığı için anulusda titreşmez, ancak ince olan orta kısımda titreşir. Bu şekilde ses enerjisi kısmen hareketli manubriumu büyüterek geçer. Buna "catenary lever" denilmektedir. Sonuçta dış kulak yolundan kulak zarına gelen ses enerjisi kemikçik sistemine amplifiye edilerek ulaştırılır (10). Kemik zincirinin manivelası malleus başı ile lentiküler çıkıntı arasındadır. Bu sistemin yükseltici etkisi umbo ve procesus brevis arasındaki doğru ile inkus'un uzun kolunun birbirine oranından ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde kemikçik sisteminin yükseltici etkisi 1,3/1 olarak hesaplanmıştır. Bu yaklaşık 2,5 dB'lik artış sağlar (10, 11, 25). Orta kulağın amplifikatör etkisinde en önemli rol hidrolik mekanizmaya aittir. Bu mekanizma kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki yüzey alan farkından kaynaklanmaktadır. Kulak zarının titreşime katılan bölümü $\sim 55 \text{ mm}^2$, oval pencere membranının yüzölçümü $\sim 3.2-3.5 \text{ mm}^2$ 'dir. Bunun ikisinin arasındaki oran 17/1 'dir. Bu yaklaşık 25 dB'lik bir artışa neden olur (11).

Orta kulak kaslarının ses iletimini etkilediği aşıkardır, ancak hala bu etkinin derecesi ve ayrıntıları tam olarak bilinmemektedir (25). M. stapedius ve m. tensor tympani'nin kontraksiyonları şiddetli sesleri söndürme (attenuation) etkisi ile iç kulak yapılarını koruyucu etkiye sahiptir (30, 31).

Orta kulak, genel olarak bakıldığında sesleri iç kulağa geçiren pasif bir mekanik sistemdir. Orta kulak mekanik bakımdan lineer özelliklere sahiptir. Yani sesin şiddeti yükselince iç kulağa iletilen enerji miktarı da yükselir. Orta kulağın bu görevine transfer fonksiyonu adı verilir. Alçak frekanslar için lineer özellikler değişmese bile yüksek frekanslarda kulak zarı titreşimleri düzensiz bir hal alır ve şiddet yükselmesi ile paralel olmayan bir enerji iç kulağa iletilir (25, 31).

İç Kulak Fizyolojisi

Kemik zinciri ile iletilen ses, kokleadaki iç kulak sıvısına oval pencere yoluyla girer. Normal koşullarda kulak zarı ve kemikçik sistemi ile oval pencereye ulaşan ses enerjisi hem hızlı hem de yukarıda bahsedilen üç sistemin yükseltici etkisinden dolayı, hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşan ses enerjisinden fazladır. Pencereye ulaşan iki ayrı ses dalgası arasında iletim hızının farklı olması yüzünden faz farkı ortaya çıkar. Bu faz farkı sonucu, ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziler membranda titreşimler meydana gelir (10, 11). Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy, bu harekete gezinen dalga "travelling wave" adını vermiştir (10).

Bazal turda baziler membran daha gergindir ve baziler membran genişliği arttıkça gerginlik giderek azalır. Bu fark nedeniyle ses dalgası bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile götürülmüş olur. Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir noktada, baziler membran

amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziler membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde baziler membran amplitüdü bazal turda en yüksek seviyededir. Buna karşılık alçak frekanslarda baziler membran amplitüdü apikal turda en yüksek seviyeye erişir (10, 11, 25, 31). Bu yüzden yüksek frekanslı seslerde gezinen dalga bazal turda kalır, fakat alçak frekanslı seslerde bazal turdan başlayarak apikal tura kadar devam eder (10, 25). Orta kulaktaki lineer özelliklerin aksine baziler membrandaki titreşim amplitüdüleri non-lineerdir. Yani şiddetin artması ile amplitüd aynı oranda artmaz ve bu özellik yüksek frekanslarda daha belirgindir (31).

Corti organının iç ve DTH'leri, mekanik (akustik) enerjinin elektriksel (nöral) enerjiye dönüşümünde (transduction) major bir rol oynar. Dönüşüm olayının meydana gelişinde tüylü hücre ve sterosilya kompleksinin rolü olduğu herkes tarafından kabul edilmektedir. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Bu kanallar sterosilyaların hareketleri ile açılır veya kapanırlar. Baziler membran hareketleri ile sterosilyalar hareket eder ve iyon kanalları hareketin yönüne göre açılır veya kapanırlar. Sonuçta, baziler membran hareketleri elektriki akıma dönüşmüş olur ve kendileri ile ilişkili olan afferent sinir liflerine bu elektriki potansiyel aktarılır. Sinir lifleri ile hücreler arasında spesifik bir nörotransmitter olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Sinir lifleri ilgili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtır. Karakteristik frekansı ve nonlineer özellikler, aynen sinir liflerinde de görülür. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur (25, 29). Bu enerji de sinir impulsları doğurarak sesin VIII. sinir lifleriyle merkeze iletilmesine sebep olur. Ses uyaranları taşıdıkları frekanslara göre beyinde değişik yerlerde sonlanır. Yüksek tonlar işitme merkezinin derinliklerinde düşük tonlar ise yüzeylelerinde sonlanır (11). İşitme merkezi temporal lobdaki Sylvian yarığında yerleşmiştir (25).

OTOAKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonlar (OAE), kokleadaki aktif süreçlerin bir yansıması olarak ortaya çıkan ve dış kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli seslerdir. İlk olarak 1978 yılında Kemp tarafından tanımlanmışlardı (32-35). Dış tüylü hücre hareketi koklea içerisinde mekanik bir enerji ortaya çıkar. Bu enerji, oval pencere ile orta kulağa, daha sonra timpanik membrana ve kulak kanalına doğru iletilir. Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) oluşur ve bu sinyal hassas bir mikrofona ölçülebilir (34-36).

Otoakustik emisyonların ölçümü periferik işitsel fonksiyonu değerlendirmede hassas bir göstergedir. Hem işitme kaybının koklear komponentini saptamaya hem de diğer odyolojik metodlarla saptanamayan, kokleanın durumundaki küçük değişiklikleri objektif

olarak izlemeye olanak tanır (33). Kolay ve hızlı uygulanırlar. Hasta tarafından kolay tolere edilirler. Objektif sonuca dayalı, girişimsel olmayan testlerdir. Çocuklar, yaşlılar, ototoksik ilaç kullanan ağır durumdaki hastalar, yabancı bir dili konuşanlar, subjektif testler için yeterli işbirliğini gösteremeyen olguların işitme fonksiyonunun araştırılmasında OAE'lar özel bir yere sahiptir (34, 37, 38). Uyarılmış OAE normal ya da normale yakın işitmesi olan tüm kulaklarda kaydedilebilir (32). DTH yapısal olarak tahrip olduğunda veya fonksiyon yapamadıklarında emisyonlar üretilemez (35). Ayrıca orta kulağın iletim fonksiyonu da OAE saptanmasında önem taşır. Çünkü hem akustik uyarın hem de kokleanın ürettiği sesler orta kulağı geçmek zorundadırlar. Dolayısıyla, emisyonların saptanması hem koklea hem de orta kulak sistemlerinin normal veya normale yakın fonksiyon göstermesiyle bağlantılıdır (37, 39).

Emisyonların sınıflandırılması ortaya çıkarılmaları için kullanılan stimulus cinsine göre yapılmıştır. Buna göre emisyonlar, spontan ve uyarılmış (evoked) emisyonlar adı altında iki geniş sınıfa ayrılabilir (34, 36).

Spontan Otoakustik Emisyonlar

Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE) dışarıdan bir uyarı olmaksızın ortaya çıkarlar ve insan kulağında, dışarıdan bir uyarı olmaksızın %40-60 oranında elde edilebilirler (32, 36). Klinikte koklear fonksiyonu değerlendirme açısından pratik değildir (39).

Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

Bir dış akustik uyarın varlığında kulak kanalından ölçülen düşük seviyeli akustik sinyallerdir. Kullanılan uyarının cinsine göre üç sınıfa ayrılırlar (37):

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

1- Uyarı frekansı otoakustik emisyonlar: Kokleanın pür ton uyarıya, uyarıyla aynı frekansta kendiliğinden oluşan yanıtlarıdır. Uyarı frekansı emisyonların kaydedilmeleri güçtür ve klinik olarak yararlanımları sınırlıdır (34, 36, 40).

2- Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar: Eş zamanlı olarak uygulanan iki pür tonun, koklea içerisinde non-lineer etkileşiminden doğan ve kulak kanalından ölçülen akustik enerji olarak tanımlanırlar (36). Dışarıdan verilen iki frekans tonu ile içeride üçüncü bir frekans oluşturulur. Emisyon uyarıcı iki ton f_1 ve f_2 primerleri olarak isimlendirilir. İnsanda en belirgin emisyon yanıtları f_2/f_1 oranı 1.2'ye eşit olduğunda elde edilir. DPOAE teknolojik

olarak ölçümü en kolay emisyonlardır; nispeten parazitsizdir ve ölçüm sonrası işlem gerektirmez. Diğer emisyon ölçümlerinde olduğu gibi mikrofon içeren bir prob gerekmektedir. Ancak iki farklı frekansta uyarıyı vermek için iki kanal gerekmektedir. Uyarılar kulak yolunda karışmaktadır. Gürültü eşiğini azaltmak primerlerin seviyelerini ve distortion ürününün analizini yapmak için kulak yolu ses basıncı ortalamaları alınır. DPOAE'ların gürültüden ayırt edilmesini sağlayan en düşük primerler seviyesi, eşik seviyesini verir. DPOAE 50-60 dB'e ulaşan sensorinöral işitme kayıplarında genellikle yoktur. Ölçümde primerler iki şekilde maniple edilir; seviye sabit tutulurken frekans değişir, frekans sabit tutulurken seviye değişir. Birincinin sonucuna "distortion ürünü odyogram" adı verilir. İkinci input/output (I/O) işlevini verir. Distortion ürünü odyogram, pürton odyogram gibi işitme eşiklerini göstermez. DPOAE eşiklerini I/O işlevi verir. Klinik uygulamalarda en uygun uyarı değişkeni henüz kesinleşmemiştir. Uyarı değişkenlerindeki çeşitlilik nedeniyle de DPOAE'ların tanısal anlamlılığı netlik kazanmamıştır. DPOAE odyogramları geniş bir frekans alanında, ancak genellikle sadece 1-2 seviyede bilgi sağlar (34, 41-43).

3- Transient evoked otoakustik emisyonlar: Klikler veya tone bipler gibi kısa süreli uyarılarla ortaya çıkarılırlar. Genellikle 80 dB SPL civarında stimulus kullanılır. Koklea tarafından üretilen emisyon yanıtları kulak kanalındaki hassas mikrofonla ölçülür ve arka plandaki gürültüden ayrılarak averajlanır. Sinyallerin incelenmesinde non-linear yanıtlar dikkate alınır; akustik prob ve dış kulak yolunun lineer cevabı iptal edilir. Non-linear uyarı dörtlü bir gruptan oluşur. Bu grup içerisindeki ilk üç stimulus aynı fazda sunulurken, dördüncüsü ters fazda ve ilk üçünün amplitüdlerinin 3 katı olarak sunulur. Dolayısıyla her bir hafıza bankasında $260 \times 4 = 1040$ transient yanıt toplanır. Ortalaması alınan yanıtlar iki ayrı hafıza bankasında depolanır ($1040 \times 2 = 2080$) ve iki ayrı dalga formu ortaya çıkar. Bu dalga formlarının elde edilmesi için depolanan toplam stimulus sayısı 2080'dir. İki ayrı hafıza bankasındaki dalga formları arasındaki çapraz korelasyon "reprodüktibilite" yüzdesini verir (35, 44). Klinik pratikte, reprodüktibilitenin % 50-60 veya üzerinde olması "yanıt var" anlamına gelir (34-36, 45). Geçici uyarılmış otoakustik emisyonların yorumlanmasında reprodüktibilite değeri, emisyon amplitüdüleri (echo level, response level, emission strength) ve signal/noise oranları incelenebilir. Response level (emission strength) TEOAE amplitüdünün dB cinsinden ifadesidir. Düzeltilmiş response level (response level-noise) de eğer 2,4 dB ve üzeriyse "yanıt var" anlamına gelir (45). Signal/noise (S/N) oranını elde etmek için, çeşitli uyarılara alınan yanıtların ortalaması hesaplanır. Yanıtın ilk 2.5 ms'nin uyarıdan ayırmak için dışlanır (44, 46).

Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar, işitme eşiğinin 35 dB'den düşük olduğu durumlarda çoğunlukla mevcuttur (47). Normal işiten kişilerde ise hemen daima var oldukları kabul edilir. Normal işitmeli bir kişide eğer TEOAE yanıtları yoksa bu; ya subklinik bir işitsel disfonksiyona, ya çevresel şartların uygun olmayışına ya da teknik problemlere bağlı olabilir (34).

Günümüzde en çok TEOAE ve DPOAE'ların kullanım alanları bulunmaktadır ve başlıca kullanım alanları şunlardır (42, 48).

I- Tanısal amaçla:

- 1- İşitme kaybının koklear lokalizasyonunu objektif olarak doğrulamak amacıyla;
 - a) Gürültüye bağlı işitme kaybı
 - b) Presbiakuzi
 - c) Ailesel işitme kaybı
 - d) İdiopatik işitme kaybı
- 2- İşitme kaybının koklear komponentinin belirlenmesi amacıyla;
 - a) Meniere hastalığı
 - b) Ani idiyopatik sensorinöral işitme kaybı
 - c) Akustik nörinoma

II- Tarama amacıyla:

- 1- Yenidoğan taraması
- 2- Oyun çocuğu taraması
- 3- Mesleki işitme kaybı riski olanlarda tarama

III- Monitorizasyon amacıyla:

- 1- Ototoksik ilaç kullanımı
- 2- Gürültüye bağlı işitme kaybı
- 3- Progressif işitme kayıpları (ailesel, Meniere hastalığı, akustik nörinoma)
- 4- İntraoperatif monitorizasyon (akustik nörinoma cerrahisi).

İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI

İşitsel beyinsapı yanıtları (ABR), işitme sinirinin başlangıcından ponsun en üst bölümüne kadar olan anatomik bölgede işitme yollarındaki elektriksel akımın senkronize aktivitesini kaydedebilen elektrofizyolojik bir test yöntemidir. İşitsel uyarılma potansiyellerinin kayıt tekniği, temelde işitme sistemi ve beynin bir ses uyarısına verdiği yanıtın elde edilmesi olduğundan; yapılan kayıtlarda ses uyarısı ve bu uyarının özellikleri önemli bir rol oynar (49).

İşitsel beyinsapı yanıtları kayıtlarında en çok tercih edilen, klik uyarı tipidir ve amplitüdü dB olarak ölçülür (50, 51). Klik uyarılarla kokleanın bütün frekans alanlarının aynı anda uyarıldığı kabul edilir. Bu yüzden frekansa özgü ABR kayıtları yapabilmek için kısa süreli tonal uyarılar kullanılır ki bu tip ses uyarılarına tone-burst veya tone-bip denir. Uyarılmış işitme potansiyellerinin kaydı sırasında elektrotların konumları; kaydedilen cevabın varlığını ve kalitesini doğrudan etkiler. Aktif elektrot için verteks sık olarak seçilen bir elektrot yerleştirme noktasıdır. Referans elektrotlar ise aurikula lobülü veya mastoid proçes'e koyularak horizontal yerleşim tamamlanır (49, 52, 53). İşitsel uyarılma potansiyellerine alınan cevaplar; latensleri esas alınarak erken, hızlı, orta ve geç olarak altgruplara ayrılır (49, 50, 53).

İşitsel beyinsapı yanıtları, akustik sinir ile birlikte beyin sapındaki nükleusların biyoelektriksel aktivite gösteren dalga serilerinden oluşur. Bu seri insanda 7 pozitif tepeden ibarettir; bu tepelerin orijinleri 1970'den bu yana değişik şekillerde isimlendirilmiş, son yıllarda yapılan çalışmalara göre her ABR dalgasının birden fazla beyinsapı işitme nükleusundan ve işitme yollarını meydana getiren sinir liflerinden oluştuğu sonucuna varılmıştır (49, 52). Son görüşe göre; I. dalga işitme siniri distalinden, II. dalga işitme siniri proksimalinden, III. dalga koklear nükleusdan, IV. dalga superior olivar kompleksden, V. dalga lateral lemniscusdan, VI. ve VII. dalgalar inferior colliculus'dan orijin almaktadır. Eşik altındaki uyarı düzeylerinde cevap trasesi neredeyse düz bir formda iken, eşığın hemen üzerinde V. dalga latensi ortaya çıkmaktadır. Orta düzeydeki ses şiddetlerinde III. dalga belirginleşirken; I. II. ve IV. dalgalar ancak yüksek şiddetlerde belirginleşmektedir. Bunlardan II. ve IV. dalgalar değişkendir ve herkeste elde edilmeyebilir. Aynı şekilde VI. ve VII. dalgalar da bu değişkenlik özelliğine sahiptir. Bu nedenle klinik uygulamalarda I. III. ve V. dalgalar tanı aracı olarak kullanılırlar (50). İşitsel beyinsapı yanıtları ile eşik tayini adayları; davranış odyometrisi tekniklerinin uygulanmasının mümkün olmadığı olgulardır. Bunların çoğunluğunu yenidoğanlar, küçük çocuklar, zihinsel özürlüler, deneysel kobay çalışmaları ve simülasyonla kendini hasta göstermeye çalışanlar oluşturur. ABR'nin objektif oluşu eşik tayini açısından deneysel modelde araştırmacı için büyük kolaylık sağlamaktadır (49, 50).

ASPIRİN

Aspirinin etken maddesi olan asetilsalisilik asit, söğüt kabuğu ekstresi şeklinde Hipokrat zamanında analjezik ve antipiretik olarak kullanılmış. İlk kez 1897 yılında Alman kimyacı Felix Hoffman asetilsalisilik asiti sentezlemiş ve bileşiğin açık kimyasal yapısını ortaya koymuştur (54). Bayer ilaç şirketi sentezlenen bu ilaca 1899 yılında aspirin adını vererek ilaç piyasasına çıkarmıştır. Etki mekanizması ise bundan yıllar sonra, 1971 yılında

Prof. Dr. John Vane tarafından ortaya konmuştur. Prof. Dr. John Vane (55), aspirinin siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek prostaglandinlerin (PG) üretimini azalttığını göstermiş ve aspirinin antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etki mekanizmasını ortaya koymuştur. Bu buluşuyla Prof. Dr. John Vane 1982 yılında Nobel ödülü almıştır.

1976 yılında Hemler ve ark. (56) araşidonik asitten PG oluşumunu sağlayan membrana bağlı glikoprotein yapıdaki COX enzimlerini izole etmişlerdir. Siklooksijenaz, COX-1, COX-2 ve COX-3 olmak üzere üç farklı izoforma sahiptir (57, 58). Aspirinin temel etki mekanizması, COX-1 ve COX-2 enzim aktivitelerini geri dönüşümsüz olarak inhibe etmesidir, bu enzimleri geridönüşümsüz inhibe eden tek NSAİİ ilaç olmasıyla diğerlerinden ayrılır (59, 60). Bu inhibisyon COX-1 enziminin 529. noktasındaki serinin (ser529), COX-2'de ise 516 noktasındaki serinin (ser516) asetillenmesi ile olmaktadır (61, 62). Asetillenen enzimin aktivitesi geri dönüşümsüz olarak baskılanmaktadır. Trombosit membranındaki fosfolipaz A2 enziminin aktivasyonu sonrası, araşidonik asit (AA) salınımı artar. COX-1 ve COX-2 izoenzimleri AA'ı PG H₂'ye dönüştürürler. PG H₂ bir ara ürün olup, PG D₂, E₂, F_{2α}, I₂ ve Tx A₂'nin öncüsüdür. Sonuçta PG'lerin oluşumu ve bilinen en güçlü agregan ve vazokonstriktör ajan olan Tx A₂ oluşumu azalmaktadır (63). COX-3 ise COX-1 varyantıdır ve nöronal yolda yer alır (57).

Aspirin COX-1'i COX-2'ye göre daha fazla inhibe eder (64). COX-1 trombositlerde, COX-2 ise inflamatuvar yanıt gösterebilen hücrelerde daha fazla oranda bulunmaktadır. COX izoenzimlerin inhibisyonu aspirin dozu ile ilişkilidir. Düşük doz aspirin COX-1'i inhibe edebilirken, COX-2'nin inhibisyonu için ise, yüksek dozlar gerekmektedir. Aspirinin antiagregan ve antiinflamatuvar dozunun farklı olması bundan kaynaklanmaktadır (65).

Aspirin akut iskemik atakta, kardiyovasküler hastalıkların birincil ve ikincil korunmasında düşük dozlarda antiagregan olarak, çeşitli klinik ve KBB kliniklerinde otitis media, sinüzit, tonsillit gibi hastalıklar için de analjezik olarak intermediate dozlarda halen aktif şekilde kullanılmaktadır. Romatoid artit gibi romatizmal hastalıklarda yüksek dozlarda kullanım gerektiği ve değişik NSAİİ preparatlar ortaya çıktığı için sıklığı azalmış olsa da halen kullanılan bir ilaçtır.

Aspirin değişen dozlarda antipiretik, antiagregan ve antiinflamatuvar olarak birçok hastalık için yaygın bir şekilde kullanılmakta olduğu için birçok yan etkisi söz konusudur. Aspirin kullanımına bağlı yan etkilerin başında gastrointestinal yan etkiler yer almaktadır. Gastrik ülserasyonlar, dispepsiler, epigastrik ağrı ve hemorajiler başlıca GIS yan etkilerdir (66). Diğer sık görülen yan etkiler renal fonksiyon bozuklukları, alerjik reaksiyonlar ve

kardiyovasküler komplikasyonlardır. Bu yan etkilere ek olarak yüksek dozda antiinflamatuvar olarak kullanıldığında ototoksik etkileri ortaya çıkmaktadır (67).

ASPIRİN OTOTOKSİTESİ

Aspirinin aktif bileşeni olan salisilat yüzyıllar önce bulunan, ilk olarak yüksek ateş tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Ototoksik etkisi ilk olarak 19. yy.'da aspirini antiromatizmal ilaç olarak kullanan hastalarda ifade edilmiştir (68). Günümüzde; antipiretik, analjezik ve antiinflamatuvar olarak yaygın kullanılan, ucuz, etkili ve ototoksik etkileri en iyi aydınlatılmış ilaçlardan biridir. Aspirin oral alımıyla birlikte gastrointestinal sistemden hızlıca emilerek kan dolaşımına geçer ve salisilik asite hidrolize olur. Sistemik alımı takiben dakikalar içinde perilenfe ve bosa geçer. Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalar sistemik enjeksiyondan yaklaşık iki saat sonra perilenfte maksimum seviyeye ulaştığını göstermiştir (69). Perilenfte artan salisilatın ilaç kesimini takiben kısa sürede düzelen ort. 10-30 dB, yüksek frekansları etkileyen, doz bağımlı bilateral sensörinöral işitme kaybı ve bu işitme kaybından önce ortaya çıkan bilateral yüksek perdeli sübjektif bir tinnitusa neden olduğu iyi bilinmektedir (70-72).

Salisilat ototoksitesi altında yatan mekanizmaların hangisinin temel etki mekanizması olduğu belirsizliğini korumasına rağmen, yüksek doz uygulamasının geçici işitme kaybı ve tinnitus yaptığı net bir şekilde ortaya konmuştur. Dış saç hücresi aktivitesinin göstergesi olan DPOAE'lardaki azalma (73), spiral ganglion aktivitesinin göstergesi olan ABR 1. Dalga'nın amplitundeki azalma (74) ve koklea sensitivitesini gösteren özellikle yüksek frekanslardaki koklea ilişkili aksiyon potansiyellerindeki azalma (73, 75) salisilatın belirtilen ototoksik etkilerini kanıtlar niteliktedir.

DTH ve koklear sinir fonksiyon bozukluğu ile DPOAE ve koklear sinir aksiyon potansiyelinde azalma işitme kaybına neden olur (73, 76). Bu etkilere birçok çalışma açıklama getirmeyi amaçlamıştır. Prestin'in DTH motor proteini olduğu bilinmektedir ve Oliver ve ark (77) Cl bağımlı prestin bölgesi için salisilatın yarışmalı antagonist gibi davrandığını göstererek DTH motilite kaybını incelemişlerdir. Hakizimina ve ark (78) Cl bağımlı prestin motor proteinin aktivasyonu ile DTH fonksiyon bozukluğunu göstermişlerdir. Bulut ve ark (79) salisilatın dış tüylü hücrelerin motor proteini olan prestin üzerindeki etkisinin ilgili genin metilasyonu olduğunu göstermişlerdir. Feng ve ark (80) salisilatın caspaz 3 aktivasyonu ile spiral ganliona apoptozu indüklediğini göstermişlerdir. Salisilata bağlı ototoksitenin DTH'lerde uzama ve daralma yaptığını gösteren birkaç morfolojik çalışma da mevcuttur (81, 82).

Yüksek doz salisilat uygulamasını takiben oluşan işitsel korteksteki eksitasyonun tinnitusa neden olduğu ileri sürülmüştür (83). Salisilatın santral eksitasyonu işitme korteksinde ve inferior colliculusta serotonin bağımlı gabaerjik inhibisyonu suprese ederek oluşturduğu gösterilmiştir (84, 85). Cortikal alfa aktivitesinde azalma ile santral işitsel kortekste eksitasyon ile tinnitusun korele olduğu gösterilmiştir (86). COX inhibisyonu ile artan araşidonik asitin, iç saçlı hücreler ile spiral ganlion arasındaki sinaptaki NMDA reseptörleri gibi davranarak nöral outputu azalttığı ve bunun tinnitus ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (87, 88).

TİMOKİNON

Nigella sativa (*N. sativa*) Akdeniz ülkeleri, Güney Avrupa ve Kuzey Afrika gibi dünyanın farklı bölgelerinde yetiştirilip, kullanılan Güney ve Güneybatı Asya'ya özgü yıllık çiçekli bir bitkidir. Yeşil – mavi renkli çiçekleri ve siyah trigonal tohumları olan yeşil bir bitkidir (89). Çok eskiden beri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan Türkçe'de çörekotu olarak adlandırdığımız *N. sativa*, Arapça'da Habbat el-barakah, Farsça'da Siah-Daneh ve İngilizce'de black cumin veya black seed gibi çeşitli folklorik isimlere sahiptir (4, 7, 89). Geleneksel tıpta *N. sativa* tohum ve yağı ateş, öksürük, burun tıkanıklığı, bronşit, astım, dispne, hipertansiyon, diyabet, iltihaplanma, süt üretimi, egzama, baş dönmesi ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıklar için doğal bir ilaç olarak dünyanın her tarafında kullanılmıştır (4, 5).

N. sativa tohumlarında sabit yağlar, proteinler, alkaloidler, saponin ve esansiyel yağlar bulunur (4, 6). *N. Sativa*'ya ait özellikler esansiyel yağ içeriğinin majör bileşeni olan timokinona atfedildiği için timokinon majör bioaktif bileşen olarak kabul edilir (5, 6). Timokinonun antineoplastik, antiinflamatuvar, immünomodülatör, hipoglisemik, antihipertansif, antimikrobiyal, antiparazitik ve antioksidan etkileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (7).

Özellikle onkoloji olmak üzere birçok klinik branş için timokinon uzun yıllardan beri çalışma alanıdır ve literatürde birçok çalışma mevcuttur. Tek bir yol üzerinden değil birçok yolu aktifleyerek veya inaktifleyerek çeşitli hastalıkların tedavisinde etkili olabileceği gösterilmiştir (90, 91).

Kbb klinikleri için timokinon yeni sayılabilecek bir bileşendir ve kliniklerde henüz rutin kullanım için endikasyonu olan bir hastalık yoktur. Son yıllarda özellikle ülkemizde kbb klinisyenleri timokinon ile ilgili çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Topikal kullanımı ile external otitt tedavisinde (9), travmatik fasial paralizi tedavisinde (92), sisplatin (93) ve gentamisin (94) ototoksisinde protektif, akustik travmada iyileştirici etkisinin olabileceğini göstermişlerdir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (Ek-1) alındıktan sonra Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) 'ne sunulmuş ve TÜBAP- 2018/330 no'lu proje ile gerekli kimyasal ve sarf malzemelerin alımı sağlanmıştır (Ek-2). Bu çalışma için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilen, 4-8 aylık ve ağırlıkları 400-600 g arasında değişen 28 adet auropalpebral refleksli, pigmente hartley suşu erişkin kobay (Guinea pig) kullanılmıştır. Kobaylar %50 nem, 16-21 °C ısı koşullarında pellet yem, mevsimsel taze sebze ve meyve ile beslenerek barındırılmıştır. Çalışmamızda Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların refah ve korunmasına dair 13.12.2011 tarih ve 28141 sayılı yönetmeliğine ve uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyulmuştur.

Elektrofizyolojik ölçümler, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Birimi'nde yapıldı. Elektrofizyolojik ölçümler genel anestezi altında yapıldı. Genel anestezi, ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg + xylazine hidroklorür (Rhompun flakon, Bayer, İstanbul) 10 mg/kg intramusküler (i.m) ile sağlandı. Tekrarlayan anestezi dozu gerektiğinde, ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin hidroklorür i.m olarak uygulandı.

Genel anestezi altında toplam 28 kobayın 56 kulağının otomikroskopik bakısı yapıldı, dış kulak yolundaki debris veya buşonlar temizlendi. Bütün kobaylarda normal timpanik membran görüntüsü saptandı. İntraperitoneal (i.p) ilaç uygulaması öncesinde, tüm kobay kulaklarında DPOAE ölçümleri ile normal dış tüylü hücre fonksiyonu ve ABR ölçümü ile

normal işitmenin varlığı araştırıldı. DPOAE ve ABR testleri sonucunda, emisyon varlığı ve işitmesi normal saptanan toplam 28 kobayın 56 kulağı çalışma kapsamına alındı ve randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Bu 3 grubun biri çalışma grubu diğer ikisi kontrol (pozitif ve negatif) grupları olarak planlandı. Çalışma grubundaki kobaylara intraperitoneal olarak 300 mg/kg asetilsalisilik asit (Sodyum salicylate, Sigma, Amerika) serum fizyolojikle (%0.9 NaCl) sulandırılarak ve 20 mg/kg timokinon (Thymoquinone >%98, Aldrich, Amerika), pozitif kontrol grubundaki kobaylara 300 mg/kg asetilsalisilik asit serum fizyolojikle sulandırılarak, negatif kontrol grubundakilere ise serum fizyolojik (%0.9 NaCl) i.p olarak enjekte edildi. Tüm gruplarda i.p enjeksiyonlar tek doz olarak uygulandı (Şekil 5).



Şekil 5. Salisik asit ve timokinon (çalışmamızda kullanılan ilaçlar)

I. grup (negatif kontrol grubu): 8 kobaya 0.1 ml serum fizyolojik 1 kez i.p olarak yapıldı.

II. grup (pozitif kontrol grubu): 10 kobaya 300 mg/kg asetilsalisilik asit 0.1 ml serum fizyolojik ile sulandırılarak 1 kez i.p olarak yapıldı.

III. grup (çalışma grubu): 10 kobaya 300 mg/kg asetilsalisilik asit 0.1 ml serum fizyolojik ile sulandırılarak 1 kez ve aynı anda 20 mg/kg timokinon da 1 kez i.p olarak yapıldı.

İntraperitoneal enjeksiyonlar, kobay uygun bir şekilde tutulduktan sonra abdomen bölgesinin sağ veya sol alt kadranına 21 no'lu iğne ile 45 derecelik bir açıyla deriye girilecek, deri altında bir miktar ilerledikten sonra hafifçe itilerek karın kasları geçilecek ve periton içine gelecek şekilde uygulandı.

Bütün anestezi süresi boyunca, enjeksiyonlar ve ölçümler süresince kobaylar ısıtılmış pedlerle örtülerek vücut sıcaklıkları korunmaya çalışıldı. İşlemler, nem oranı %50 ve sıcaklığı 16-21 °C arasında değişen bir ortamda yapılarak kobayların sıvı kaybı azaltılmaya çalışıldı. Tek doz ilaç uygulamasından 2 saat sonra kobaylara tekrar ketamin ve xylazin ile genel anestezi uygulandıktan sonra DPOAE ve ABR ölçümleri tekrarlandı. Ölçümlerin hemen sonrasında kobay koklealarını taramalı elektron mikroskopisinde incelemek üzere ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin hidroklorür i.m olarak uygulandıktan sonra dekapitasyon yapıldı. Bütün gruplardaki kobayların temporal kemikleri ultrastrüktürel incelemeler için diseke edildi.

ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Ölçümü

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (2f1-f2 kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) Capella-MADSEN (GN Otometrics A/S Taastrup, Denmark) cihazı kullanılarak DPOAE modunda ölçüldü. Kobayların dış kulak yollarına göre plastik tüp adaptörlerinin 1 cm'lik ucuna yenidoğan için kullanılan 1-2 numaralı timpanometri plastik prob uçlarına OAE prob ucu (Capella-MADSEN) yerleştirildi (Şekil 6). F2 ve f1 frekansları arasındaki oran ($f2/f1$) 1.22 olacak şekilde ayarlanarak, uyaran şiddeti f1 frekansı için L1 (L1=65 dB SPL), f2 frekansı için L2 (L2=55 dB SPL) olarak alındı ve distorsiyon ürünü emisyonlar 2f1-f2 modunda ölçüldü. Otoakustik emisyonlar f1 ve f2 nin 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 kHz frekanslarında, geometrik ortalamalarında kaydedildi. Alınan her bir kayıt süresi yaklaşık 1 dk'idi. Kayıtlar gürültü şiddetinin 50 dB'in altında olduğu bir ortamda alındı.

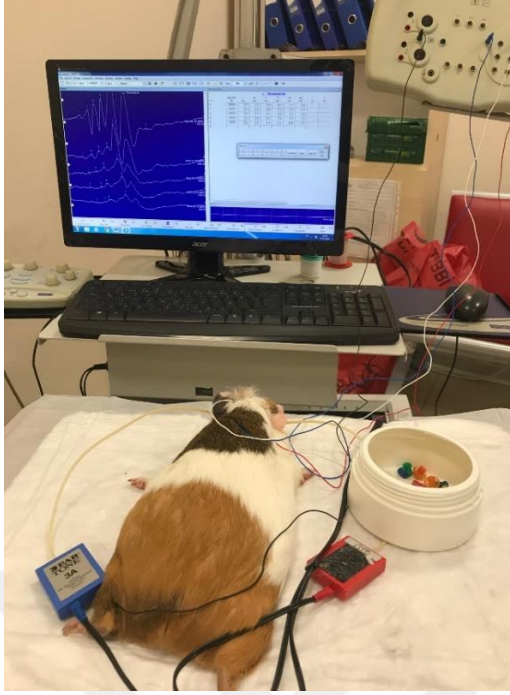


Şekil 6. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Ölçüm Cihazı ve deney sırasında örnek bir kobayda ölçümü

DPOAE sonuçları değerlendirilirken; her bir frekansta yani 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 ve 8 kHz frekans bantlarında oluşan SNR esas alınarak, 6 dB ve üzerindeki sonuçlar anlamlı kabul edildi (95). DPOAE cevapları değerlendirilirken SNR, DPOAE amplitüdlerine kıyasla daha anlamlı bulunmuştur (29, 34) Çalışmamızda frekansa spesifik olarak SNR cevaplarının, yüzde değişimleri (ilk ve son ölçümler arasındaki fark değişimleri alınarak) her bir kobay için değerlendirilerek, SNR frekans bantlarında yüzde değişim grafikleri oluşturuldu.

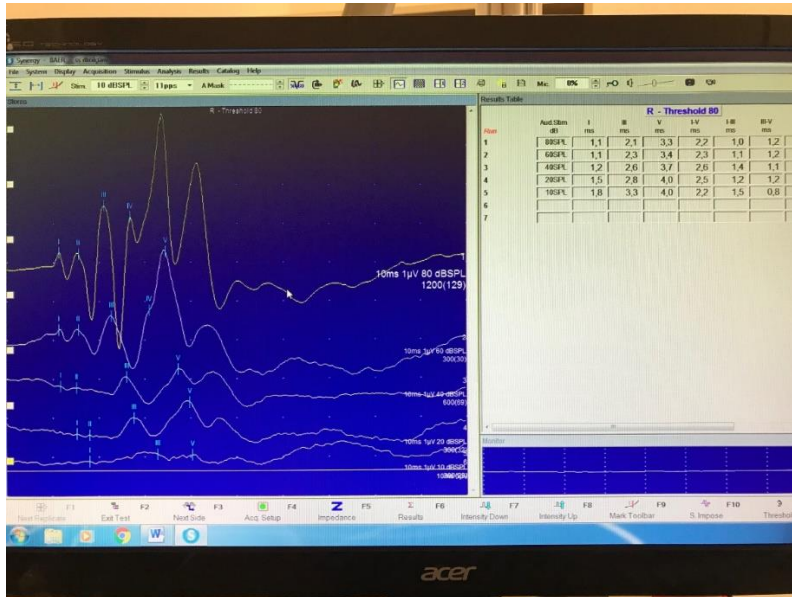
İşitsel Beyinsapı Yanıtları

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



Şekil 7. Deneyimizden bir kobaya ait örnek ABR kaydı

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



Şekil 8. Deneyimizden bir kobay kulağına ait örnek ABR kaydı

TEMPORAL KEMİK DİSEKSİYONU VE ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ve ABR testleri tamamlandıktan sonra kobaylar yüksek doz ketamin ve xylazin enjeksiyonunun ardından dekapitasyon yapılarak sakrifiye edildiler. Bütün kobayların sağ ve sol kulaklarının temporal kemik diseksiyonları, koklea ve iç kulak yapılarına hızlı erişim sağlayacak bir teknik ile gerçekleştirildi. Oksipital bölgeden horizontal ensizyon yapıldı. Cilt ve cilt altı dokular kranium üzerinden öne doğru eleve edildi. Her iki taraftaki temporal kas ve periost önce parietal kemiğin, ardından temporal kemiğin skuamöz parçası üzerinden eleve edildi. Aurikula laterale ekarte edilerek kıkırdak dış kulak yolu keskin diseksiyon ile timpanik halkadan ayrıldı. Subperiostal planda kas dokuların elevasyonuna devam edilerek temporal kemiğin mastoid ve timpanik parçaları (bulla) ortaya konuldu. Bundan sonraki aşamada mastoid parça oksipital kemikten; skuamöz parça parietal, frontal, palatin ve etmoid kemiklerden; bulla oksipital ve sfenoid kemiklerden; petröz parça sfenoid kemikten diseke edildi. Ortaya konan VII. ve VIII. kranial sinirlerin ekstraportal kısımları kesildikten sonra temporal kemik, çevre kas dokularından da diseke edilerek kafatasından ayrıldı. Temporal kemikler pH'ı 7.3 olarak ayarlanan, %2.5 glutaraldehit içeren fosfat tamponuna alınarak 12 saat bekletildi. Bu prefiksasyon işleminden sonra kemik doku fosfat tamponunda (PBS) 1 gün bekletilerek yıkandı. Sonrasında dokular pH'ı 7.3 olan 0.1 M Na-EDTA (Sigma-Germany) solüsyonunda 2 hafta süreyle oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. Dekalsifiye olan temporal kemiklerden timpanik bullaları açılarak koklear yapıya ulaşıldı. İzlediğimiz metod, temporal kemikte diseksiyonla kokleaya ulaşım şekline göre daha koruyucu bir yöntemdir (96, 97). Temporal kemik diseksiyonları Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde yapıldı.

Taramalı Elektron Mikroskopisi

Temporal kemik dekalsifikasyonu sonrası, koklear yapılar otik kapsül ile çevrili olduğundan dekalsifikasyonu bir kez daha tekrarlandı. Bu amaçla dokular; 0.1 M PBS'de 1 gün bekletildikten sonra, 0.1 M Na-EDTA (pH=7.3) ile 1 hafta daha oda sıcaklığında dekalsifiye edildi. Taramalı elektron mikroskopisi (TEM) görüntülenmesi için koklear yapıları örten otik kapsül asimetrik olarak bazalden apekse doğru diseke edildi (Şekil 8) ve bu yapılar 3 gün +4°C PBS 'de bekletilerek TEM takibine (Tablo 1) alındı.



Şekil 8. Deneyimizden bir kobaya ait örnek modiolar eksende bazaldan apekse doğru koklea

Tablo 1. Rutin taramalı elektron mikroskopisi takip protokolü

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

Hazırlanan dokular kritik kurutma noktasında karbonmonoksit (CPD 010, Balzer Union- Liechtenstein) ile kurutuldu. Karbon tutucular ile pirinç bloklar üzerine sabitlendi. TEM değerlendirmesinde öncelikle Corti organı yüzey anatomisi incelendi. Yüzey anatomisinde genel hücre morfolojisi ile dış tüylü hücre stereosilya morfolojisi Tablo 2'deki parametreler kullanılarak değerlendirildi (98). Değerlendirilen parametreler koklear frekans bandlarında bazalden apekse doğru ağırlıklı olarak dış tüylü hücre stereosilya morfolojisinin dizilimi incelendi. Rutin takip, dokuların hazırlanması ve TEM görüntülenmesi Marmara Üniversitesi Patoloji Biriminde yapıldı.

Tablo 2. Taramalı elektron mikroskopisi ile Corti organında yüzey anatomisi değerlendirme parametreleri (99)

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

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ve sayı (%) olarak ifade edildi. Niceliksel verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk test ile incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda değişkenlerin normal dağılıma uymamaları sebebiyle Kruskal Wallis test kullanıldı, anlamlı farklılık saptandığında bu farkın hangi grup ya da gruplar arasında olduğunu belirlemede Bonferroni düzeltilmiş Mann Whitney U testi kullanıldı. Grupların kendi içerisinde başlangıç ve uygulama sonrası değerlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon test kullanıldı. İstatistiksel analizler T.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi.



BULGULAR

ELEKTROFİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER

Çalışmamızda 3 grupta toplam 28 kobayın 56 kulağının elektrofizyolojik test sonuçları (DPOAE ve ABR ile) değerlendirildi. Grup 1’de 8, grup 2 ve grup 3’de 10 kobay yer almaktaydı. Çalışmanın başlangıcında ve intraperitoneal uygulamalardan 2 saat sonra her 3 gruptaki 56 kulağa tekrardan DPOAE ve ABR ölçümleri yapıldı. Elektrofizyolojik ölçümlerde uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik değerleri ve DPOAE 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarda SNR değerleri karşılaştırıldı.

Çalışma öncesi ve sonrası klik ABR eşik cevapları öncelikle gruplar arası uygulama öncesi karşılaştırıldı. Grup 1 başlangıç eşik cevapları ortalama 20 dB, grup 2’de 22 ± 6.16 dB, grup 3’te 23 ± 6.57 dB olarak saptandı ve gruplar arası başlangıç eşik cevapları ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (grup1 p: 1.0, grup2 p: 0.36, grup3 p: 0.69). İlaç uygulaması sonrası klik ABR eşik cevapları grup 1’de 20 dB, grup 2 de 37 ± 14.18 dB, grup 3 de 30.50 ± 14.68 dB’di ve gruplar arası uygulama sonrası klik ABR eşik cevapları kıyaslandığında grup 1 ile grup 2 (p=0.00), grup 1 ile grup 3 arasında (p=0.11) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, grup 2 ile grup 3 arasında (p=0.092) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (T ablo 3).

Tablo 3. Grupların uygulama öncesi ve sonrası klik ABR cevapları ve gruplar içi uygulama öncesi ve sonrası eşik cevap istatistik analizi (eşik_0: uygulama öncesi, eşik_2: uygulama sonrası eşik cevap)

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
Eşik 0	20	p: 1.0	22 ± 6.16	p: 0.36	23 ± 6.57	p: 0.69
Eşik 2	20		37 ± 14.18		$30,50 \pm 14.68$	

Grup 1 ve grup 2'nin uygulama öncesi ve sonrası yapılan klik ABR cevapları grup içi karşılaştırıldığında dalga 1, dalga 3, dalga 5 latanslarında ve 1-3, 1-5, 3-5 interpike değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Grup 3'ün uygulama öncesi ve sonrası dalga 5 latansı ($p=0.00$), 3-5 ($p=0.03$) ve 1-5 ($p=0.02$) interpike değerleri istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Uygulama öncesi ve sonrası klik ABR 5. dalga latans farkları gruplar arasında karşılaştırıldığında Grup 1 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.011$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Klik ABR latans ve interpike değerleri ortalamaları ve bu değerlerin gruplar içi istatistik analizi

	Grup 1	p	Grup 2	p	Grup 3	p
Dalga 1_0	1.27 ±0.20	0.67	1.20 ±0.10	0.34	1.24 ±0.20	0.27
Dalga 1_2	1.27 ±0.21		1.26 ±0.22		1.29 ±0.22	
Dalga 3_0	2.48 ±0.28	0.62	2.41 ±0.24	0.16	2.40 ±0.30	0.16
Dalga 3_2	2.56 ±0.50		2.59 ±0.56		2.56 ±0.38	
Dalga 5_0	4.37 ±0.08	0.57	4.26 ±0.27	0.21	4.29 ±0.20	0.00
Dalga 5_2	4.48 ±0.51		4.46 ±0.61		4.57 ±0.39	
İnterpik 1-3_0	1.21 ±0.21	0.48	1.20 ±0.17	0.13	1.56 ±0.20	0.39
İnterpik 1-3_2	1.30 ±0.39		1.33 ±0.38		1.23 ±0.29	
İnterpik 1-5_0	3.11 ±0.22	0.89	3.05 ±0.26	0.08	3.05 ±0.23	0.02
İnterpik 1-5_2	3.22 ±0.50		3.20 ±0.49		3.28 ±0.39	

Dalga 1_0, Dalga 3_0, Dalga 5_0: uygulama öncesi dalga 1, 2, 3 latans değerleri,
 Dalga 1_2, Dalga 3_2, Dalga 5_2: uygulama sonrası dalga 1, 2, 3 latans değerleri,
 İnterpik 1-3_0: 1. Ve 3. Dalganın uygulama öncesi interpike değeri,
 İnterpik 1-5_0: 1. Ve 5. Dalganın uygulama öncesi interpike değeri,
 İnterpik 1-3_2: 1. Ve 3. Dalganın uygulama sonrası interpike değeri,
 İnterpik 1-5_2: 1. Ve 5. Dalga uygulama sonrası interpike değeri)

Uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik cevap farkları gruplar arasında karşılaştırıldığında Grup 1 ve Grup 3 ($p=0.198$), grup 2 ve grup 3 ($p=0.129$) arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0.198$). Grup 1 ve Grup 2 arasında uygulama öncesi ve sonrası klik ABR eşik cevap farkları açısından değişim istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p=0.007$) (Tablo 5).

Tablo 5. Klik ABR eşik cevapları ve eşik cevap farkları gruplar arası istatistiksel analizi

p	eşik_0	eşik_2	eşik_f
Grup 1-2	0,17	0,00	0,00
Grup 1-3		0,011	0,10
Grup 2-3		0,092	0,04

Eşik_0: uygulama öncesi eşik cevap, Eşik_2: uygulama sonrası eşik cevap, eşik_f: uygulama öncesi ve sonrası eşik cevap farkı)

Grup 1, grup 2 ve grup 3 ilaç uygulaması öncesi ve sonrası 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz frekanslarında DPOAE SNR değerleri ve uygulama öncesi ve sonrası grup içi istatistiksel analizi Tablo 6'da verilmiştir. Grup 1'de 750 Hz'de uygulama öncesi ve sonrası istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken ($p=0.00$), diğer frekanslarda anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Grup 2'deki 6000 Hz frekansı hariç grup 2 ve grup 3'deki tüm frekanslarda uygulama öncesi ve sonrası istatistiksel olarak anlamlı düşme saptandı ($p<0.05$).

Tablo 6. Uygulama öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalama değerleri ve grup içi istatistik analizi (p: anlamlı düşme p*: anlamlı yükselme)

DPOAE SNR (dB) Ortalama \pm std (hz)	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	0	2	0	2	0	2
0: uygulama öncesi 2: uygulama sonrası						
750	10,82 \pm 5,19	10,62 \pm 7,27	8,70 \pm 6,72	3,71 \pm 7,22	11,18 \pm 6,73	2,56 \pm 7,27
P	0,00*		0,01		0,00	
1000	13,51 \pm 7,66	14,19 \pm 9,78	12,36 \pm 9,53	3,78 \pm 10,90	15,30 \pm 7,75	6,73 \pm 8,56
p	0,92		0,01		0,00	
1500	20,83 \pm 7,92	19,58 \pm 12,21	18,80 \pm 9,57	6,01 \pm 12,01	21,64 \pm 7,82	9,78 \pm 9,75
p	0,83		0,00		0,00	
2000	22,96 \pm 8,22	22,21 \pm 9,31	18,93 \pm 8,35	6,89 \pm 10	21,83 \pm 7,51	9,45 \pm 9,73
p	0,96		0,00		0,00	
3000	24,83 \pm 7,07	23,66 \pm 7,95	25,19 \pm 7,14	9,80 \pm 8,91	22,80 \pm 6,78	12,44 \pm 9,88
p	0,43		0,00		0,00	
4000	20,02 \pm 7,27	17,65 \pm 7,31	22,22 \pm 5,69	11,39 \pm 7,70	20,44 \pm 5,21	14,46 \pm 8,40
p	0,10		0,00		0,01	
6000	22,76 \pm 7,13	24,15 \pm 6,61	20,75 \pm 4,92	16,86 \pm 12,05	23,13 \pm 6,64	14,98 \pm 12,68
p	0,47		0,34		0,02	
8000	32,47 \pm 5,25	30,84 \pm 8,32	35,71 \pm 6,23	22,00 \pm 12,75	32,10 \pm 7,46	23,55 \pm 12,48
p	0,51		0,00		0,02	

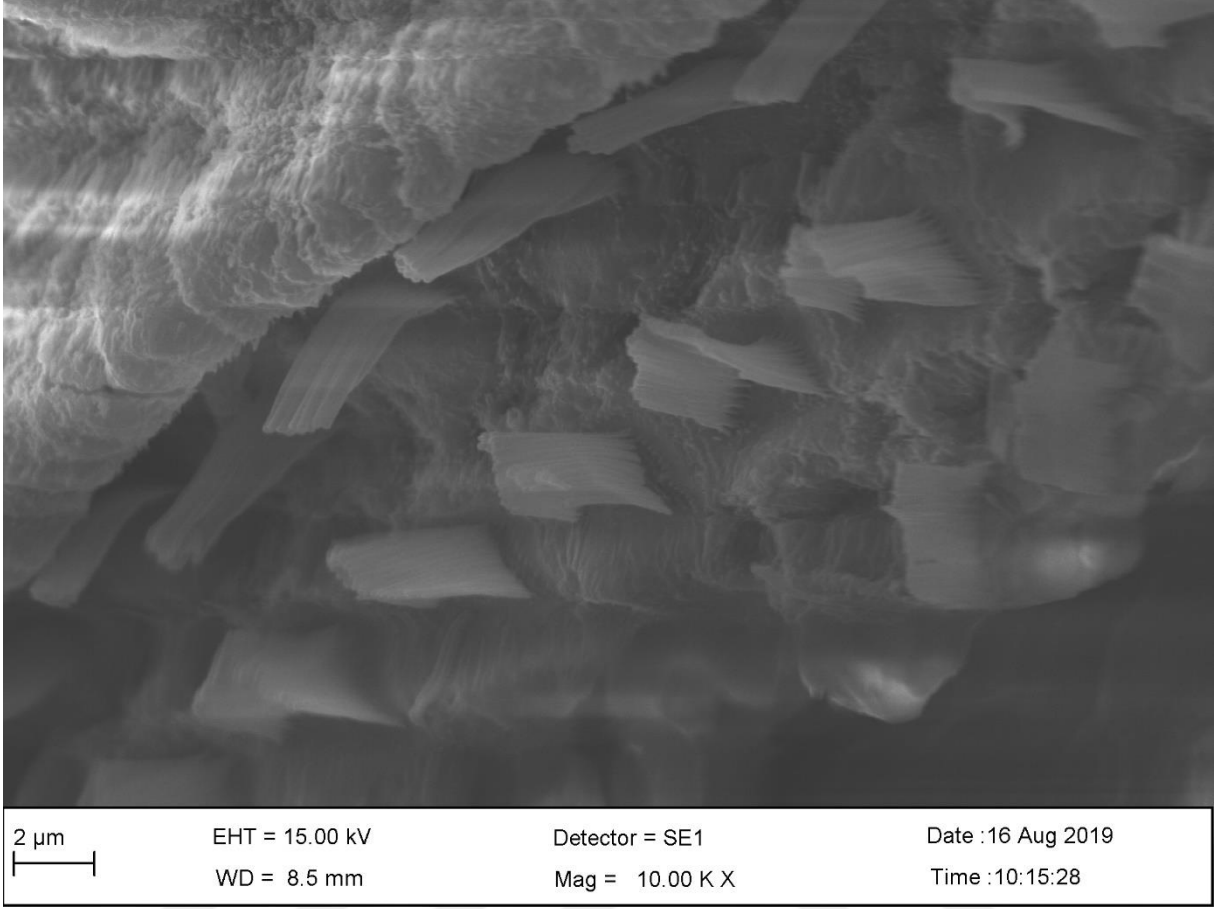
Grup 1, grup 2 ve grup 3 ilaç uygulaması öncesi ve sonrası grup içi DPOAE SNR değerleri arasındaki fark gruplar arası karşılaştırıldığında 750 Hz, 1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz frekanslarında grup 1 ve grup 2, grup 1 ve grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gösterirken ($p < 0,05$), grup 2 ve grup 3 arasında bu frekanslar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$). 4000 ve 8000 Hz DPOAE SNR değerleri arasındaki fark gruplar arası karşılaştırıldığında ise grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermişken ($p < 0,05$) grup 1 ve 3, grup 2 ve 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi ($p > 0,05$). 6000 Hz frekansında ise ilaç uygulaması öncesi ve sonrası grup içi DPOAE SNR değerleri arasındaki fark gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı ($p > 0,05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Gruplar içi uygulama öncesi ve sonrası DPOAE SNR değerleri arasındaki farkın gruplar arası istatistiksel analizi

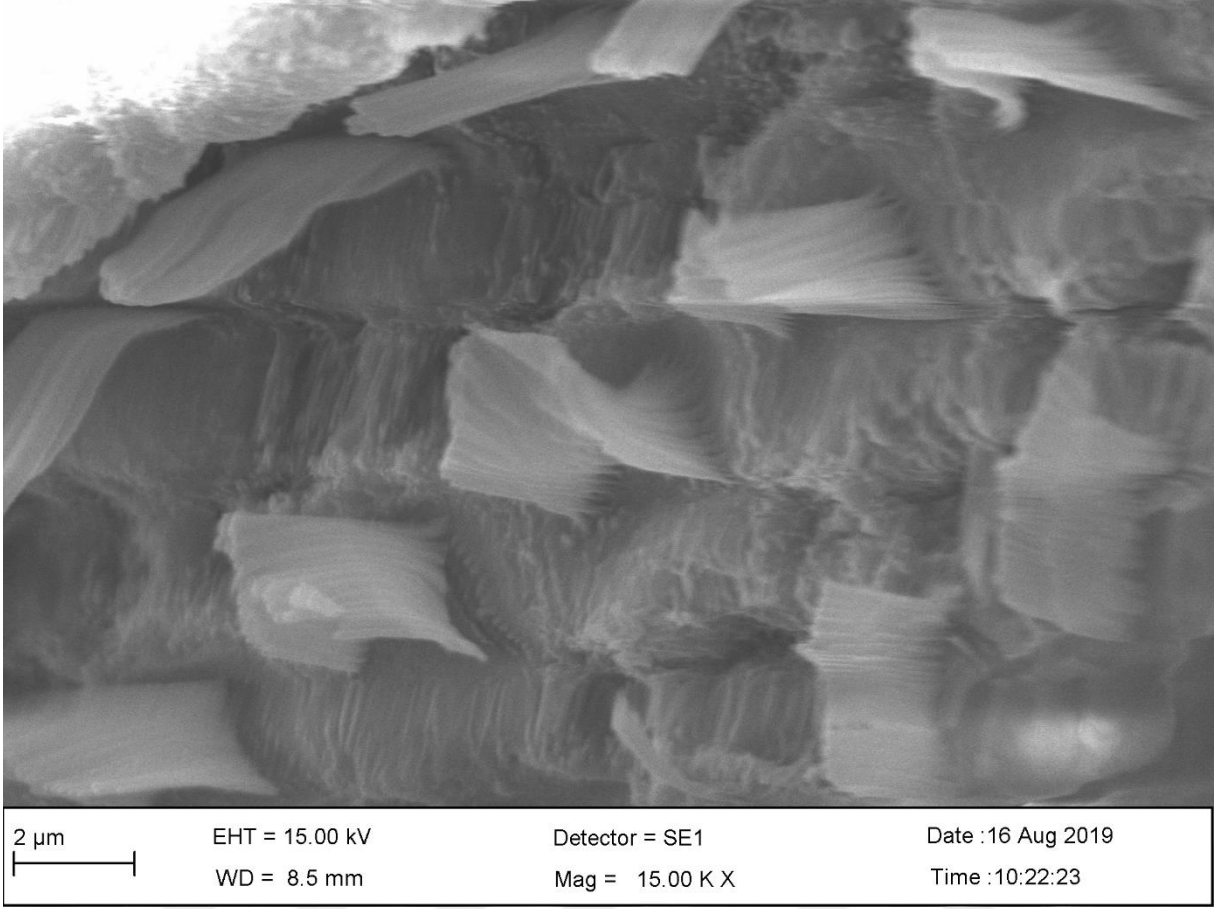
hz_f: uygulama öncesi ve sonrası grup içi fark	Grup 1- Grup 2 p değeri	Grup 1- Grup 3 p değeri	Grup 2- Grup 3 p değeri
750_f	0,04	0,00	0,34
1000_f	0,00	0,00	0,85
1500_f	0,00	0,00	0,76
2000_f	0,00	0,00	0,77
3000_f	0,00	0,00	0,19
4000_f	0,00	0,16	0,10
6000_f		0,1	
8000_f	0,00	0,09	0,15

ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEMELER

Grup 1'de yer alan kobayın kulaklarına ait koklealarda yapılan Corti organı yüzey anatomisi incelemesinde DTH sterosilya morfolojisi dizilimi değerlendirildiğinde dejenerasyon tespit edilmedi (Şekil 9,10).

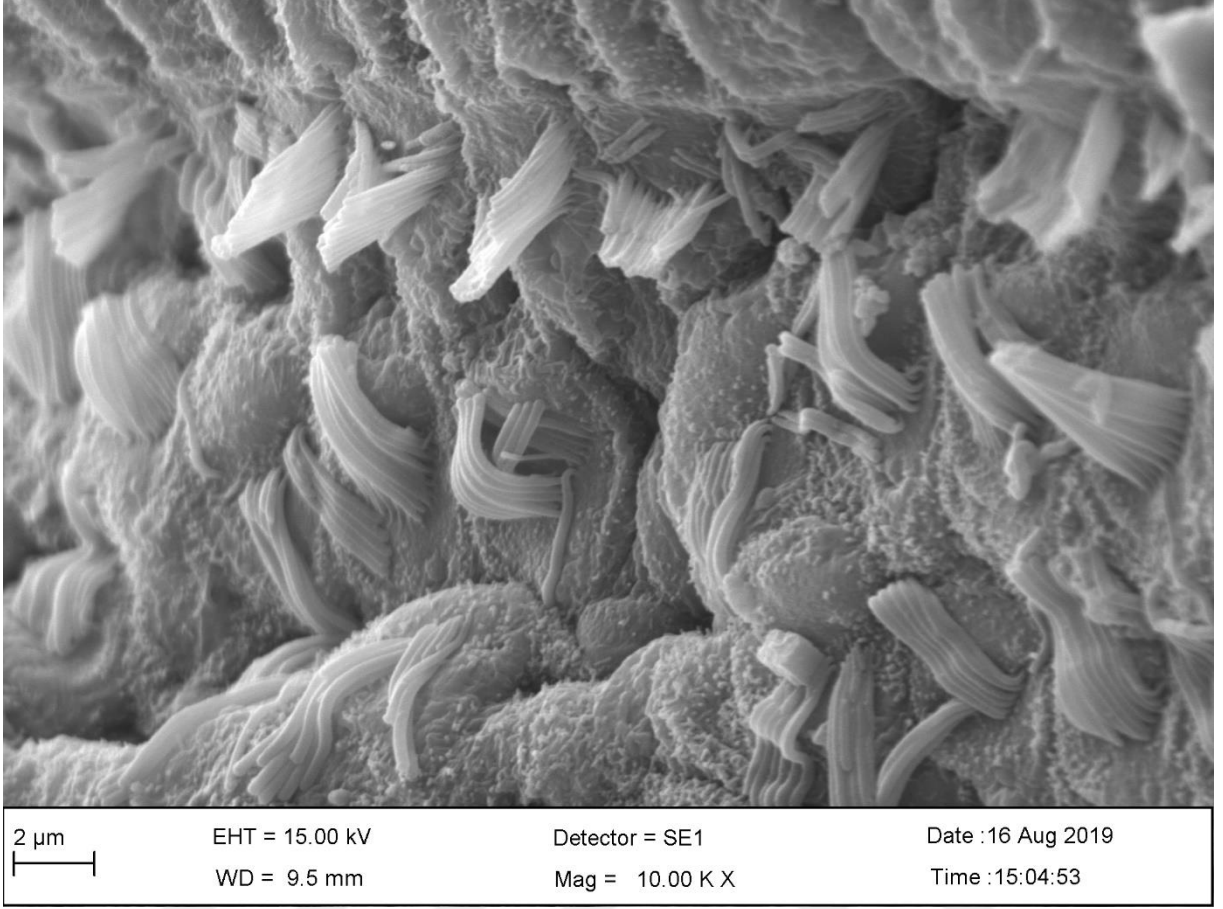


Şekil 9. TEM değerlendirmesinde Grup 1 (serum fizyolojik grubu) dış tüylü hücre stereosilya morfolojisi X10000.

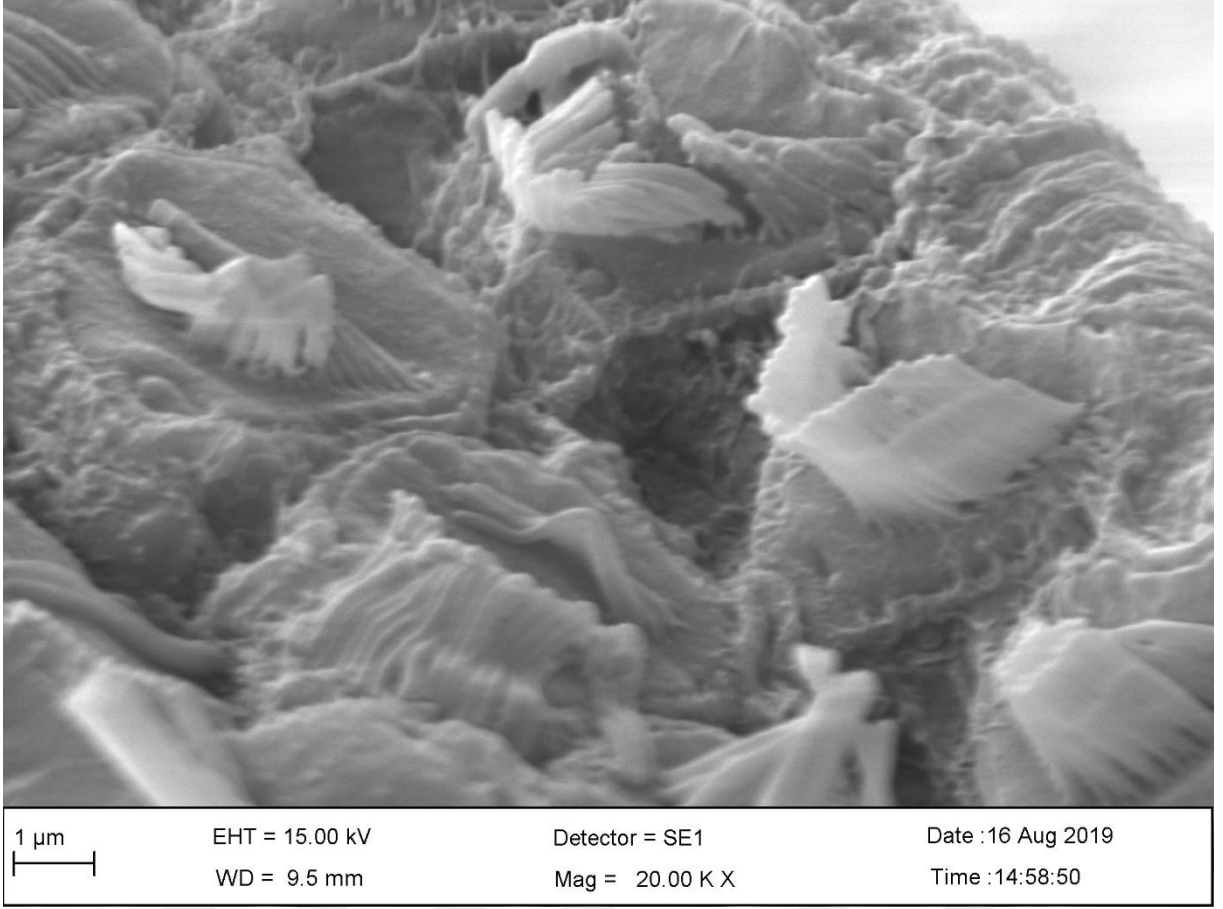


Şekil 10. TEM değerlendirmesinde Grup 1 (serum fizyolojik grubu) dış tüylü hücre stereosilya morfolojisi X15000.

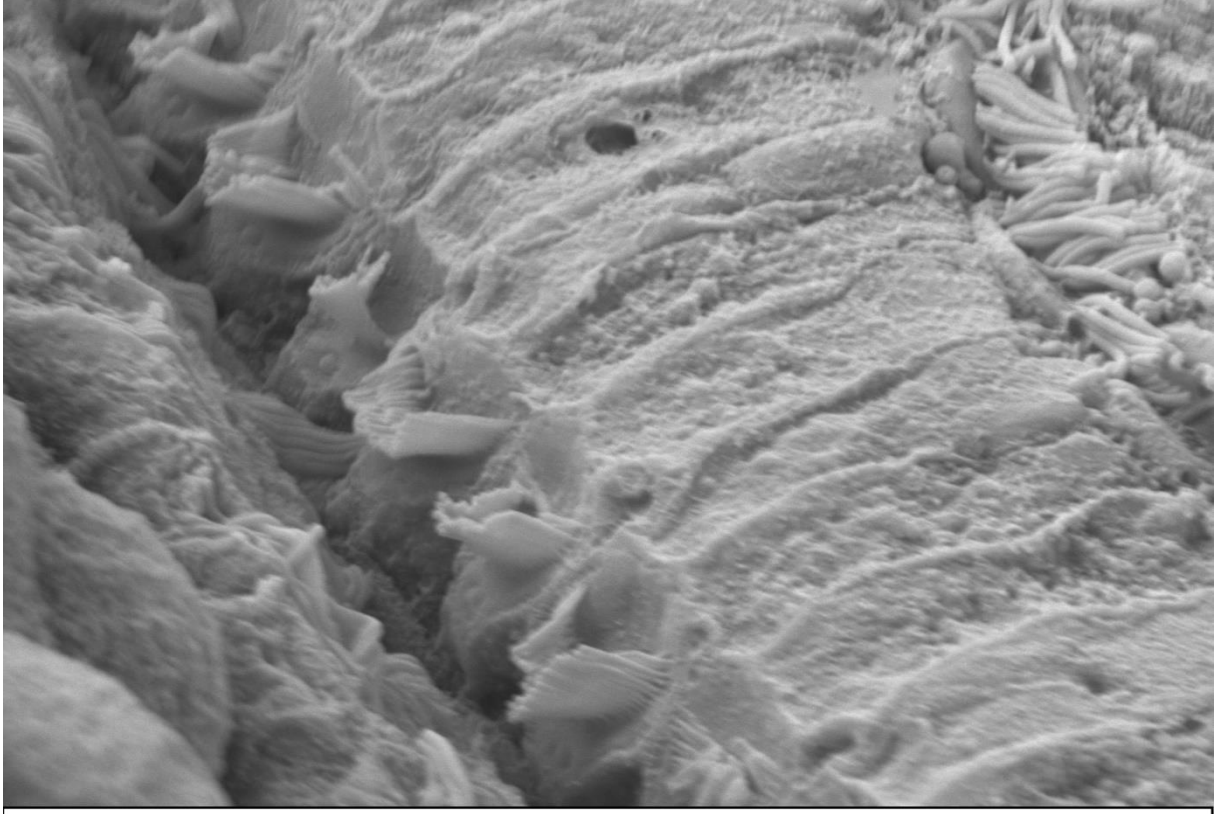
Grup 2'de yer alan kobayların koklealarında DTH stereosilyalarında düzensizlik mevcut idi (Şekil 11,12). Grup 3'te yer alan kobayların koklealarının DTH stereosilyalarının daha düzgün olduğu görülmektedir (Şeki 13,14). Ancak gruplardan elde ettiğimiz koklealarda taramalı elektron mikroskopisinde yeterli sayıda görüntü elde edemediğimiz için istatistiksel analiz yapılamadı.



Şekil 11. Grup 2'e (Salisilik asit grubu) ait Corti organı TEM görüntüsünde DTH sterolsiyaların yapısında bozulmalar gözlenmektedir X10000.

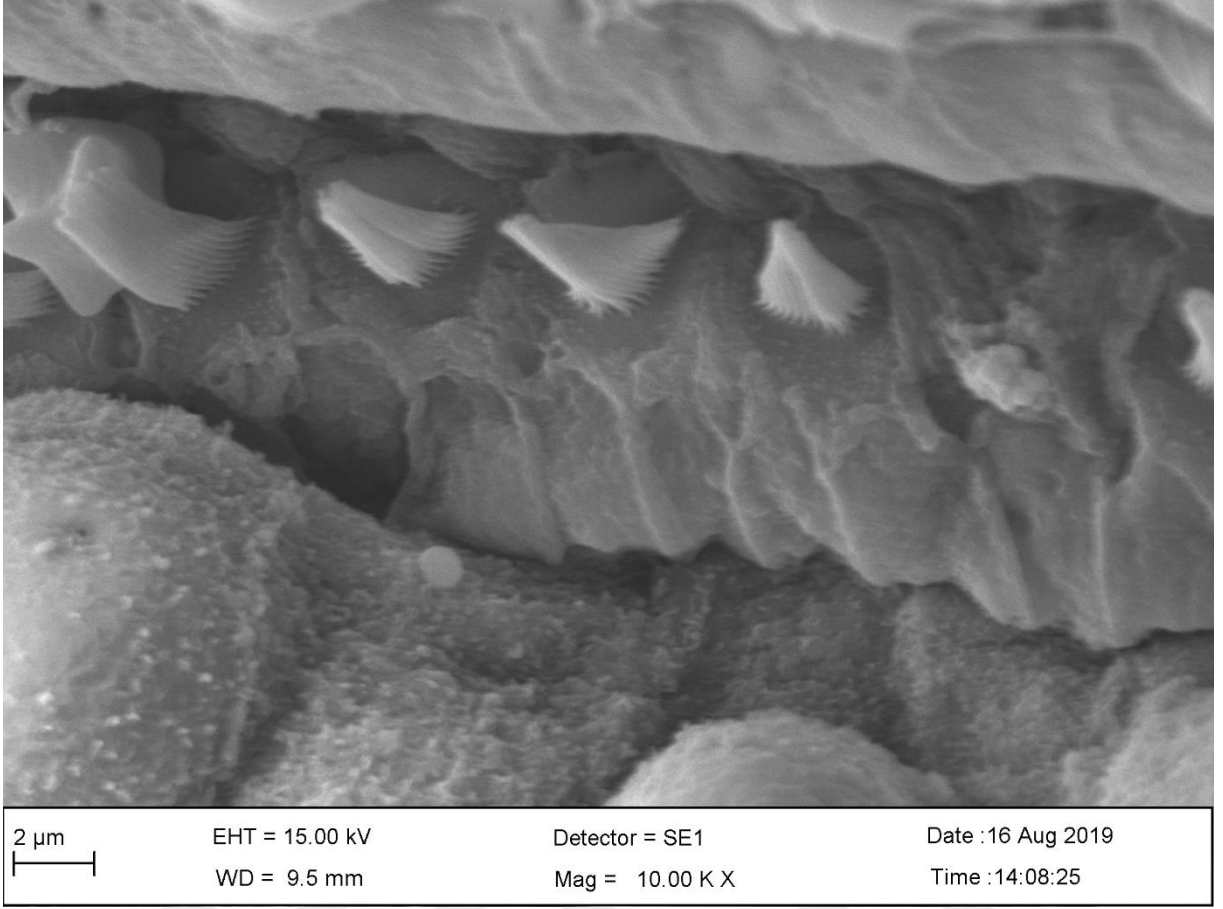


Şekil 12. Grup 2'e (Salisilik asit grubu) Corti organı TEM görüntüsünde DTH stereosilyaların yapısında bozulmalar gözlenmektedir X20000.



2 μ m -----	EHT = 15.00 kV WD = 10.0 mm	Detector = SE1 Mag = 10.00 K X	Date :16 Aug 2019 Time :14:38:02
---------------------	--------------------------------	-----------------------------------	-------------------------------------

Şekil 13. Grup 3'e (Salisilik asit+timokinon grubu) ait Corti organı TEM görüntüsünde DTH sterosilyaları X10000.



Şekil 14. Grup 3'e (Salisilik asit+timokinon grubu) ait Corti organı TEM görüntüsünde DTH stereosilyaları X10000.

TARTIŞMA

Sistemik veya lokal kullanılan ilaçlara bağlı ototoksite kbb hekimleri için önemli bir sağlık problemidir. Protektif veya tedavi etmeye yönelik, kbb sahası için veya herhangi başka bir sağlık problemi için kullanılan veya kullanılmak istenen ilaçların ototoksik etkileri için protektif ve/veya tedavi etmeye yönelik preparatlar üzerinde yaygın çalışmalar mevcuttur. Günümüzde ototoksitesi net bir şekilde ortaya konmuş birçok ilaçtan biri de aspirindir. Aspirinin antiinflamatuvar olarak yüksek doz kullanımı azalmış olsa da aspirin halen çok yaygın kullanıma sahip bir ilaçtır. Geçici tinnitus, hiperakuzi, hafif- orta düzeyli SNİK şeklinde ototoksik etkiler gösterdiği birçok çalışma ile gösterilmiş ancak etki mekanizması halen netlik kazanmamıştır. Ototoksitesi altında yatan mekanizmayı aydınlatmak ve buna yönelik tedavi edici ajanlar bulmak kbb klinisyenleri için yaygın çalışma alanıdır; ayrıca ototoksitesinin özelliği nedeniyle tinnitus gibi sık görülen bir semptom için hayvan çalışmalarına öncülük etmesi nedeniyle de önemi artmaktadır.

Salisilat ototoksite dozunu ve ototoksitesinin özelliklerini inceleyen birçok çalışma vardır. Lobarinas ve ark. (100), salisilatın tinnitus benzeri davranışa sebep olduğu dozu saptamak için ratlarda yaptıkları çalışmada 150 mg ve üzerinde salisilatın tinnitus benzeri davranış oluşturduğunu gösterdiler. Didier ve ark. (101) salisilat ototoksitesi üzerine kobaylarda yaptıkları bir çalışmada yüksek dozda salisilatın (200 ve 300 mg/kg, i.m) enjeksiyondan 2 saat sonra, CAP eşik cevaplarında yüksek frekanslarda (8 khz ve üzerinde), ortalama 10 ile 25 dB arasında yükselme ve dalga 1'in amplitunde düşme saptamışlardır. Bu çalışmalar ve benzer birçok çalışma ile salisilatın doz bağımlı ototoksite yaptığı, ilk etkilerini ortalama 2. saatte göstermeye başladığı ve etkilerinin ilacın kesilmesini takiben 48 veya 72 saat sonra kaybolduğu gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda bunları göz önüne alarak salisilatın

ototoksik etkilerini 300 mg/kg ilaç uygulayarak ve elektrofizyolojik çalışmaları enjeksiyondan 2 saat sonra yaparak gösterdik.

Biz çalışmamızda salisilat grubundaki eşik cevapları hem grup içi, hem de kontrol grubu eşik cevaplarıyla karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı eşik yükselmesini saptadık. Lee ve ark.'nın (102) ginkgo biloba ekstresinin salisilat ototoksitesi etkileri üzerine protektif etkisini araştırdıkları çalışmada ise 350 mg/kg salisilat enjeksiyonu öncesi ve 2 saat sonrası yaptıkları ABR eşik cevaplarında yükselme saptamışlar; ancak kontrol grubuna göre anlamlı yükselme saptamamışlardır. Bu çalışmadan farklı olarak biz çalışmamızda dalgaların latanslarını da inceledik. Salisilat grubunda eşik cevaplarda anlamlı yükselme saptamış olsak da dalga 1, 3, 5 latansları ve bunlar arasındaki interpik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık ($p>0.05$). Salisilatın ve salisilat+ timokinonun kontrol grubuyla kıyaslandığında dalga 1 amplitudlerinde düşmeyi görsel olarak saptasak da istatistiksel olarak değerlendirmedik.

Çalışmamızda aspirin ototoksitesini değerlendirdiğimiz diğer parametre DPOAE SNR değerleriydi. Aspirin grubunda başlangıç ve uygulama sonrası değerler kıyaslandığında 4000 Hz hariç tüm frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı düşme saptayarak salisilat ototoksitesini gösterdik. Stolzberg ve ark. (73) yaptığı çalışmada salisilat ototoksitesini enjeksiyondan 1 ve 2 saat sonra baktıklarında pes ve tiz tonlarda daha fazla olacak şekilde, tüm frekanslarda DPOAE SNR değerlerinde ve CAP amplitudlerinde azalma saptadılar. Yine Ralli ve ark. (103) salisilat ile kinin ototoksitesini karşılaştırdıkları çalışmada 4 gün boyunca salisilat vererek, ilaç sonrası 2. saatlerde 4000, 8000, 12000, 16000, 20000 Hz de DPOAE SNR değerlerine bakmışlar ve 8000 ile 16000 kHz'de istatistiksel anlamlı düşme saptayarak salisilat ototoksitesini göstermişlerdir. Bizim bulgularımız da bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Salisilat otoksitesine karşı uygun, etkili ve yan etkileri sınırlı bir ajan arayışı halen devam etmektedir. Antiepileptiklerin tinnitusun şiddetini azaltabileceği görüşüyle Zheng ve ark. (104) salisilata bağlı tinnitusu, davranış testleri ile göstermiş ve antiepileptik özellikleri olan kannabinoid reseptör agonistlerinin olası faydasını araştırdıkları çalışmalarında bunun aksine tinnitusu agra ve ettiğini saptamışlardır. Lobarinas ve ark. (105) 2006'da NMDA kanal blokeri olan memantini, salisilat ilişkili tinnitus tedavisinde kullanmış, memantin ve salisilat ortak kullanan grupta salisilat kullanan gruba göre daha az tinnitus benzeri davranış saptamış olsalar da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterememişlerdir. Daha sonra 2014'te Ralli ve ark. (88) salisilat ototoksitesinde memantini tekrar kullanmış; ancak Lobarinas ve ark.'nın (105) aksine tinnitus üzerine memantin tedavisi edici etkileri olabileceğini; ancak DPOAE SNR değerlerinde salisilatın yaptığı düşmeye faydasının olmadığını göstermişlerdir. Nam ve

ark. (82) deksametezonun, Hwang ve ark.(106) tümör nekrozis faktör blokerinin, Sheppard ve ark. (107) maxipost ve retigabın gibi K kanal blokerlerinin aspirin ototoksitesinde faydalı olabileceklerini göstermişlerdir. Ochi ve ark. (108) ise salisilat ototoksitesinde Ca kanal blokeri nimodipin kullanmış; ancak etkili olmadığını göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda salisilat ototoksitesine karşı timokinonun olası etkilerini inceledik.

Timokinonun antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojen, antihepatotoksik, antinefrotoksik, antidiabetik, antiallerjen... birçok özelliği gösterilmiştir (6). Sistemik hastalıkların tedavisinde uzun zamandır kullanılmasına rağmen kbb klinisyenleri için yeni sayılabilecek bir çalışma alanıdır. Timokinonun toksik dozuyla ilgili yapılan çalışmayı (109) esas alarak, çalışmamızda 20 mg/kg timokinon kullanarak timokinonun toksik etkilerinden kaçınmaya çalıştık.

Baş boyuna uygulanan radyoterapinin, tükürük bezine olan toksitesine karşı timokinon kullanılan bir çalışmada, timokinonun oksidatif ve nitrozatif strese azalma yaptığı gösterilmiştir (110). Yüksek konsantrasyonlu topikal timokinonun, topikal deksametazon ve düşük yoğunluklu timokinona karşı eksternal otitte daha etkili olabileceği gösterilmiştir (9). Oral timokinonun seröz otit tedavisinde olası faydasını araştıran başka bir çalışmada olumlu sonuç bulunamamıştır (111). Alerjik rinitli hastalarla yapılan bir çalışmada ise immunoterapiyle birlikte oral timokinon kullanımının tedavide etkili olabileceği gösterilmiştir (112). Tavşanlarda travmatik fasial paralizi oluşturularak steroid ile timokinonun sinir hasarı üzerindeki etkililiğinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada timokinonun steroidten daha etkili bir iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir (92).

Timokinon tüm bu multifaktöriyel etkileri nedeniyle kbb sahasında yukarıda sayılan ve bahsi geçmeyen başka patolojiler dışında, ototoksite için de bir tedavi seçeneği olarak araştırılmaya başlanmıştır. Literatürde salisilat ototoksitesinde timokinonun protektif veya tedavi edici özelliğini araştıran çalışma saptayamadık; ancak başka ototoksik ajanlarla ilgili çalışmalar mevcuttu.

Timokinonu oral olarak 40 mg/kg dozunda ve amikasin olarak 14 gün boyunca, amikasin ototoksitesinde kullanıldıkları çalışmada uygulama öncesi, 7. ve 15. günlerde elektrofizyolojik çalışmalar yapmışlardır. ABR eşik cevaplarında ve DPOAE SNR değerlerinde timokinonun istatistiksel olarak anlamlı protektif etki gösterdiği görülmüştür. Timokinonun tek başına verildiği grupta ise tüm parametrelerde kontrol grubuna göre herhangi bir anlamlı değişim saptamamışlardır (113). Bizim çalışmamızda aspirin ototoksitesini tek doz 300 mg/kg salisilat ile 2 saat sonra yaptığımız elektrofizyolojik testlerle gösterdik ve bu ototoksiteye karşı timokinonun olası protektif etkisini tek doz intraperitoneal

20 mg/kg timokinon ile araştırdık. Salisilat grubundaki 6000 Hz hariç tüm frekanslarda hem aspirin hem de aspirin+ timokinonu birlikte verdiğimizde başlangıç değerlerine göre istatikselsel olarak anlamlı düşmeyi gösterdik. Başlangıç ve son değerler arasındaki farkı aspirin ve diğer gruplarla kıyasladığımızda ise 4000 ve 8000 Hz'de timokinon+ salisilat grubu, kontrol ve salisilat grubuyla istatikselsel olarak anlamlı fark oluşturmadı; ancak bu frekanslarda aspirin ile kontrol grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı bir düşme vardı. Biz Aksoy ve ark'larından (113) farklı olarak ABR testini ilaç uygulamasından hemen sonra yaparak aspirinin ABR'de yaptığı akut eşik cevap yükselmelerini ve yine timokinonun buna karşı etkisini incelemek istedik. Salisilat ve salisilat+timokinon verdiğimiz grupta başlangıç değerlerine göre anlamlı eşik cevap yükselmesi saptadığ; ancak başlangıç değerlerine göre uygulama sonrası değerler arasındaki değişimi gruplar arası kıyasladığımızda kontrol grubuyla salisilat+timokinon verdiğimiz grup arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark saptamazken salisilat grubuyla hem kontrol hem de salisilat+ timokinon grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı fark saptadığ. Elde ettiğimiz bu sonuçlara dayanarak timokinonun salisilatın hem DPOAE SNR değerleri hem de ABR değerlerinde yaptığı ototoksik etkilere karşı protektif olmasa da azaltıcı/ tedavi edici etkilerinin olabileceğini düşünüyoruz.

Sagit ve ark. (93) ratlarda sisplatin ototoksitesi üzerine timokinonun etkisini araştırdıkları çalışmada, timokinonun protektif etkisinin olabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada timokinonu sisplatin uygulamasından 2 gün önce 40/mg/kg olarak vermeye başlamışlar. nc gün sisplatin ile birlikte, sonraki 2 gün tekrar timokinonu tek başına aynı dozda uygulayarak tedaviyi 5 güne tamamlamışlardır. Biz çalışmamızı timokinon ile salisilatı aynı anda, tek sefer ve daha düşük dozda vererek gerçekleştirdik. Sagit ve ark'larının (93) alışmasında da bizim çalışmamızla aynı şekilde 1000-8000 Hz bandında DPOAE ve klik ABR ile ototoksite değerlendirilmiş; ancak testler ilk kez başlangıçta ve bizim çalışmamızdan farklı olarak son kez tedaviden 3 gün sonra olacak şekilde 2 kez yapılmıştır. alışmalarında tüm frekanslarda grup içi DPOAE SNR değerleri timokinon+ sisplatin ve timokinon gruplarında istatikselsel olarak anlamlı fark göstermezken, sisplatin grubunda 1000 ve 1500 Hz hariç hepsinde anlamlı düşme olduğunu göstermişlerdir. Ancak çalışmalarında başlangıç ve son değerler arasındaki farkı gruplar arasında karşılaştırmamışlardır. Bizim alışmamızda ise timokinon+ salisilat grubunda tüm frekanslarda DPOAE SNR değerlerinde anlamlı düşme saptadığ; ancak bunlar arasındaki farkı gruplarla kıyasladığımızda 4000 ve 8000 Hz'de timokinonun salisilat toksitesini anlamlı düzeyde azalttığını gösterdik.

Akustik travma üzerine timokinonun etkisini araştıran bir çalışmada timokinon protektif değil tedavi edici bulunmuştur (114). Çalışmada akustik travmadan bir gün önce ve

travmadan sonra 10 gün boyunca 10mg/kg timokinon vererek uygulama öncesi, 1 gün sonrası, 5. Ve 10. günlerde DPOAE ve ABR testleri yapılmıştır. Akustik travma verdikleri grupta başlangıca göre travma sonrası 1. gün, 5. ve 10. günde DPOAE SNR değerlerinde anlamlı düşme saptayarak akustik travmanın 10. günde halen devam ettiğini göstermişlerdir. Akustik travmalı gruba timokinon verdiklerinde ise DPOAE SNR değerlerinde başlangıç ile travma sonrası 1. Günde yine istatistiksel olarak anlamlı düşme saptamışlar, ancak 5. ve 10. günleri başlangıca göre kıyasladıklarında anlamlı fark saptamamışlar. ABR eşik cevap değerlendirmelerinin de DPOAE ile benzer şekilde olduğu saptanmış. Biz çalışmamızda hem tek doz timokinon kullandık hem de salisilat ile timokinonu aynı anda uyguladık. Salisilat kullanımından önce ve sonrasında tekrarlayan timokinon uygulamalarının olduğu başka çalışmalar ile hem grup içi, hem de gruplar arası tüm frekanslarda, çalışmamızda 4000 ve 8000 Hz farkları arasında ve gruplar arası eşik cevap yükselmelerindeki fark ile timokinonun salisilat ototoksitesinde tedavi edici/ azaltıcı etkisi olduğu söylenebilir.

Akustik travmada timokinonun etkisini araştıran başka bir çalışmada ise timokinonun farklı dozları da karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada akustik travmadan 30 dk önce, travmadan 24 ve 48 saat sonra hem 20, hem de 40 mg/kg timokinon verilen gruplar mevcuttu. Elektrofizyolojik testleri travmadan önce, travmadan hemen sonra ve 96 saat sonra yapmışlar. 1000, 1400, 2000, 2800, 4000, ve 6000 Hz frekanslarına DPOAE ile bakılmış ve hem 20, hem de 40 mg/kg timokinonun 2800, 4000 ve 6000 Hz’de başlangıca göre 96 saat sonunda anlamlı derecede düzelme yaptığını göstermişlerdir. Ayrıca 20 mg/kg’ın 40 mg/kg ‘a göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde bu frekanslarda daha fazla düzelme yaptığını da göstermişlerdir. DPOAE SNR değerlerine paralel şekilde 4000 Hz ABR ile bakılan eşiklerde 20 g/kg timokinon ile yapılan tedavide eşik cevaplarda, 40 mg/kg timokinon tedavisine göre daha fazla düzelme saptamışlardır (8). Bizim çalışmamız da bu çalışmayla benzer özellikler göstermekteydi. Biz de salisilat ototoksitesinde 20 mg/kg timokinonu olarak uygulayarak DPOAE SNR değerlerinde 4000 ve 8000 Hz’de grup içi değişimleri, gruplar arasında kıyasladığımızda timokinonun koruyucu olabileceğini saptadık. Bizim çalışmamızda tone burst ABR değil klik ABR kullandığımız için frekans spesifik eşik cevap yükselmesi olup olmadığını gösteremedik; ancak tek başına salisilat uygulanan gruba oranla timokinon+salisilatın daha az eşik yükselmesi yaptığını göstermiş olduk.

Ototoksite ile ilgili yukarıda bahsettiğimiz tüm çalışmalarda timokinonun tek başına verildiği ve başlangıç ve son değerlerinin kıyaslandığı gruplar mevcuttu ve timokinonun hiçbir ototoksik etkisi ABR ve DPOAE ile saptanmamıştı. Bizim çalışmamızda timokinon+salisilat verdiğimiz grupta 5. dalga latansında grup içi ve diğer iki grup (kontrol ve

sadece salisilat verilen grup) ile karşılaştırıldığında anlamlı uzama saptadık. Ayrıca timokinon+salisilat grubunda başlangıca göre 1,3 intermik değerinde uzama yokken 1,5 intermik değerinde anlamlı uzama saptadık, ancak çalışmamızda sadece timokinon verdiğimiz grup yoktu. Bu veriler ışığında timokinonun akut olarak periferik işitme yolları üzerine protektif etkisinin yanında santral işitme yolları üzerine toksik etkisinin olabileceğini düşük ihtimal de olsa akılda tutulması gerektiğini ve böyle bir etki varsa bunun farklı timokinon dozlarını içeren ve/veya tekrarlayan dozlarının uygulandığı başka çalışmalarda yeniden gösterilmesine ihtiyaç vardır.

Silva ve ark. (115) salisilik asitin DTH sterosilyalarındaki reversibl toksitesini taramalı elektron mikroskopisiyle araştırdıkları çalışmada salisilat sonrası 2. Saatte diseke ettikleri guinea piglerin DTH'lerinde vezikülasyon ve silyalarda düzensizlik saptamışlardır. Biz de çalışmamızda ilaç uygulamasından 2 saat sonra guinea pig kulaklarını diseke ederek taramalı elektron mikroskopisinde inceledik ve kontrol grubuna kıyasla hem salisilat verilen hem de salisilatla birlikte timokinon verilen grup DTH sterosilyalarında bozulmayı gözlemledik. Ancak salisilat+ timokinon verilen grubun DTH sterosilyaları salisilat grubuna göre daha düzgün görünmekteydi.

Çalışmamızda DPOAE ile salisilatın tüm frekanslarda yaptığı düşmeyi timokinonun bazı frekanslarda azalttığını ve klik ABR ile salisilatın tek başına yaptığı eşik cevap yükselmesine karşı timokinonun bu yükselmeyi de azalttığını gösterdik. Tüm bu veriler, salisilat ototoksitesinde timokinonun yeni bir ajan olarak yararlı olabileceğini destekler niteliktedir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda tasarlanıp uygulanan, 'Timokinonun Salisilat Ototksitesitesine Etkisi' başlıklı tez çalışmamızda elektrofizyolojik test sonuçları ve ultrastrüktürel incelemeler ışığında şu sonuçlara varılmıştır:

1. Yüksek doz salisilatın guinea piglerin kulaklarında DPOAE SNR değerlerinde 6000 Hz hariç tüm frekanslarda SNR değerlerini azalttığı tespit edilmiştir.

2. Yüksek doz salisilat ile birlikte verilen timokinonun guinea piglerin kulaklarında DPOAE SNR değerlerinde tüm frekanslarda düşme yaptığı tespit edilmiştir.

3. Serum fizyolojik uygulanan grupta uygulama öncesi ve sonrası DPOAE SNR ve ABR değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

4. Salisilat grubuyla salisilatla birlikte timokinon verilen grupta DPOAE SNR değerleri arasındaki düşme farkları, iki grup arasında kıyaslandığında 4000 ve 8000 Hz'de, timokinon grubundaki düşmenin salisilat grubuna göre istatistiksel olarak daha az olduğu bulunmuştur.

5. Salisilat ile salisilatla birlikte timokinon verilen grupta grup içi anlamlı eşik cevap yükselmeleri bulunmuştur.

6. Salisilat ile salisilatla birlikte timokinon verilen gruptaki eşik cevap farklarını tüm gruplar arasında kıyasladığımızda timokinonlu grupta, salisilatın tek verildiği gruba göre istatistiksel olarak daha az eşik cevap yükselmesi olduğu bulunmuştur.

7. Salisilatla birlikte timokinon verilen grupta diğer tüm gruplarla kıyaslandığında ABR'de dalga 5'in latansında anlamlı uzama bulunmuştur.

8. Salisilat ve salisilatla birlikte timokinon verilen grupta yeterli materyal elde edememekle birlikte ultrastrüktürel incelemelerde DTH sterosilyalarında bozulmalar

gözlemledik; ancak bu bozulmanın salisilat verilen gruba göre salisilatla birlikte timokinon verilen grupta daha az olduğu bulunmuştur.

9. Bu çalışma; yüksek doz salisilat uygulamasında elektrofizyolojik testler ve ultrastrüktürel incelemeler ile ortaya konan ototoksik etkileri timokinonun azalttığını göstermiştir.

ÖZET

Timokinonun salisilat ototoksitesi üzerine olası protektif etkilerini elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel olarak araştırdığımız çalışmamızda, normal işitsel beyinsapı yanıtları (ABR) ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) sinyal gürültü oranları (SNR) varlığı tespit edilen 28 adet erişkin pigmente hartley suşu kobay randomize olarak 3 gruba ayrılmıştır. Grup 1 serum fizyolojik, Grup 2 salisilat+serum fizyolojik, Grup 3 salisilat+ timokinon uygulanan gruplardır. Uygulamalar intraperitoneal olarak birer kez yapılmıştır. Enjeksiyondan önce ve 2 saat sonra ölçülen ABR eşik cevapları, latanslar, interpik ve DPOAE SNR değerleri gruplar içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Uygulamalardan 2 saat sonra ultrastrüktürel incelemeler için kobayların temporal kemikleri hazırlanmış, kokleadaki DTH sterosilya hasarı karşılaştırılmıştır.

Başlangıç ABR eşik cevapları ve DPOAE SNR değerleri tüm gruplar arasında istatistiksel fark oluşturmuyordu ($p>0.05$). Grup içi eşik cevap farkı gruplar arasında kıyaslandığında Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı istatistiksel fark varken ($p<0.05$); Grup 1 ile Grup 3 arasında yoktu ($p>0.05$). DPOAE SNR değerleri uygulama öncesi ve sonrası grup içinde kıyaslandığında hem Grup 2 hem de Grup 3'te anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$), Grup 1'de istatistiksel bir fark yoktu ($p>0.05$). DPOAE SNR değerlerinin grup içi değişim farkı gruplar arasında kıyaslandığında 4000 ve 8000 Hz'de Grup 1 ile Grup 2, Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı istatistiksel fark varken ($p<0.05$), Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel fark yoktu ($p>0.05$). Ultrastrüktürel incelemelerde kontrol grubuna göre diğer gruplarda DTH sterosilyalarında bozulma mevcuttu; ancak Grup 3'deki bozulmanın Grup 2'ye göre daha az olduğunu gözlemledik.

Bu çalışmada kobaylarda timokinonun salisilat ototoksitesinin etkisini azalttığı gözlemledik.

Anahtar kelimeler: aspirin, timokinon, salisilik asit, ototoksite, otoakustik emisyon, işitsel beyinsapı yanıtları



THE AFFECTS OF THYMOQUINONE ON SALICYLATE OTOTOXICITY

SUMMARY

In our study, we investigated the possible protective effects of thymoquinone on salicylate ototoxicity in guinea pigs by electrophysiological and ultrastructural methods. Group 1 saline, Group 2 salicylate + saline, Group 3 salicylate + thymoquinone treated groups. The drug was administered once as intraperitoneal injections. The auditory brainstem responses (ABR) thresholds, latencies, interpic values, and distortion product otoacoustic emission (DPOAE) signal to noise ratio (SNR) measured before and 2 hours after injection were statistically compared within and between groups. After measurements, temporal bones of all guinea pigs were prepared for ultrastructural examinations and hairy cell damage and cochlea degeneration in the cochlea were statistically compared.

When the ABR threshold values and DPOAE SNRs were compared before Group 1, Group 2 and Group 3 drug administration, no statistically significant difference was found within the groups and between the groups ($p > 0.05$). ABR threshold values after Group 1, Group 2 and Group 3 drug administration were compared between the groups, there was a statistically significant increase between Group 1 and Group 2, Group 1 and Group 3 ($p < 0.05$). However, there was no statistically significant difference between Group 2 and Group 3 ($p > 0.05$). Differences between ABR thresholds before and after intra-group drug administration were compared between the groups, there was a statistically significant difference between Group 1 and Group 2, Group 2 and Group 3 ($p < 0.05$); however there was

no difference between Group 1 and Group 3 ($p > 0.05$). DPOAE SNR values were compared before and after drug administration within group, both Group 2 and Group 3 were significantly lower ($p < 0.05$). There was no statistical difference in Group 1 ($p > 0.05$). DPOAE SNR values before and after drug administration change difference were compared between groups, there was a statistically significant difference between Group 1 and Group 2, Group 2 and Group 3 at 4000 and 8000 Hz ($p < 0.05$), but there was no statistical difference between Group 1 and Group 3 ($p > 0.05$). Ultrastructural examinations showed deterioration of OHC sterility in the other groups compared to the control group; however, the deterioration in Group 3 was less than in Group 2.

In this study, we observed that thymoquinone reduced the effect of salicylate ototoxicity in guinea pigs.

Key words: aspirin, thymokinone, salicylic acid, ototoxicity, otoacoustic emission, auditory brainstem responses

KAYNAKLAR

1. Weiss HJ, Aledort LM. Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin ingestion. *Lancet* 1967;2(7514):495-7.
2. Osman N. Aspirin'in Öyküsü. *Bilim ve Teknik* 1981;14:37-39.
3. Mongan E, Kelly P, Nies K, Porter WW, Paulus HE. Tinnitus as an indication of therapeutic serum salicylate levels. *JAMA* 1973;226(2):142-5.
4. Amin B, Hosseinzadeh H. Black cumin (*nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone: an overview on the analgesic and anti-inflammatory effects. *Planta Med* 2016;82(1-2):8-16.
5. Tavakkoli A, Mahdian V, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Review on Clinical Trials of Black Seed (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone. *J Pharmacopunct* 2017;20(3):179-93.
6. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* 2003;17(4):299-305.
7. Randhawa MA, Alghamdi MS. Anticancer activity of *Nigella sativa* (black seed) - a review. *Am J Chinese Med* 2011;39(6):1075-91.
8. Ogurlu M, Celebi Erdivanli O, Tumkaya L, Ozgur A, Ozergin Coskun Z, Terzi S, et al. The therapeutic effect of thymoquinone on acoustic trauma-induced hearing loss in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2017;274(2):743-9.
9. Demirel H, Arli C, Ozgur T, Inci M, Dokuyucu R. The Role of Topical Thymoquinone in the Treatment of Acute Otitis Externa; an Experimental Study in Rats. *J Int Adv Otol* 2018;14(2):285-9.
10. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi, cilt-1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998:1-197.

11. Karasalihoğlu AR. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi. 3. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003:3-14.
12. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ears. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (Eds). Otolaryngology Head and Neck Vol.1. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1991:23-58.
13. Ömür M, Dadaş B. Klinik baş ve boyun anatomisi. Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996:181-213.
14. Wrigth A. Anatomy and ultrastructure of the human ear. In: Keer AG, Gleeson M (Eds). Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1. 16 th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish; 1997: ch 1,1-50.
15. Lee KJ. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. 8th ed. Newyork: Medical Publish Co, 2003:1-24.
16. Austin DF. Kulağın anatomisi (çeviri: G. Hafız). şenocak D (Editör). Ballenger Otolaringoloji Baş Boyun Cerrahisi'nde, cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000:838-57
17. Cruz OLM. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In: Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT et al (Eds). Otolaryngol Head& Neck Surg Vol.4, 4th ed. Baltimore: Elsevier Mosby; 2005:2801-31.
18. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983:759-88.
19. Toth M, Alpar A, Patonay L, Olah I. Development and surgical anatomy of the round window niche. Ann Anat 2006;188(2):93-101.
20. Cureoglu S, Schachern PA, Rinaldo A, Tsuprun V, Ferlito A, Paparella MM. Round window membrane and labyrinthine pathological changes: an overview. Acta Otolaryngol 2005;125(1):9-15.
21. Santi PA, Mancini P. Koklear anatomi ve santral işitme yolları (çeviri: F. Karayel). Koç C(Editör). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi'nde, cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007:3373-97.
22. Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. Anatomi. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 1997:466-90.
23. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. Brain Res Bull 2003;60(5-6):397-422.
24. Mills JH, Khariwala SS, Weber PC. Anatomy and physiology of hearing. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD (Eds). Otolaryngology Head&Neck Surgery Vol.2, 4th ed. Texas: Lippincott Williams&Wilkins; 2006:1883-903.
25. John HM, Waren YA. Anatomy and physiology of hearing. In: Bailey BJ (Ed). Otolaryngol Head Neck Surgery Vol.2, Philedelphia: JB Lippincott Co; 1993:1441-61.

26. Goksu N, Haziroglu R, Kemaloglu Y, Karademir N, Bayramoglu I, Akyildiz N. Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992;101(8):699-704.
27. Sehitoglu MA, Uneri C, Celikoyar MM, Uneri A. Surgical anatomy of the guinea pig middle ear. *Ear Nose Throat J* 1990;69(2):91-7.
28. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. *Hear Res* 2005;199(1-2):103-10.
29. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, Luebke AE. Physiology of the auditory and vestibular systems. In: Ballenger JJ, Snow JB (Eds). *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. 15th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 1996:879-929.
30. Pickles JO. Physiology of hearing. In: Kerr AG, Gleeson M (Eds). *Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1*, 6th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish Ltd; 1997: ch 2,1-34.
31. Abbas PJ, Miller CA. Physiology of the auditory system. In: Cummings CW, Fredrickson LM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (Eds). *Otolaryngology Head and Neck Surgery vol.4*, 3th ed. St. Louis Missouri: Mosby Year Book Inc; 1998:2831-74.
32. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 1978;64(5):1386-91.
33. Kemp DT. Exploring cochlear status with otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:1-47.
34. Hall JW, Baer JE, Chase PA, Schwaber MK. Clinical application of otoacoustic emissions: what do we know about factors influencing measurement and analysis? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;110(1):22-38.
35. Johnson KC. Audiologic assessment of children with suspected hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 2002;35(4):711-32.
36. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1993;14(1):11-22.
37. Plinkert PK, Bootz F, Vossieck T. Influence of static middle ear pressure on transiently evoked otoacoustics emissions and distortion products. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):95-9.
38. Nozza RJ, Sabo DL, Mandel EM. A role for otoacoustic emissions in screening for hearing impairment and middle ear disorders in school-age children. *Ear Hear* 1997;18(3):227-39.
39. Bright KE. Spontaneous otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:74-94.
40. Lonsbury-Martin BL. Introduction to otoacoustic emissions. *Am J Otol* 1994;15(1):1-3.

41. Ueda H, Hattori T, Sawaki M, Niwa H, Yanagita N. The effect of furosemide on evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear Res* 1992;62(2):199-205.
42. Karasalihođlu A, Adalı MK, Karasalihođlu S, Koteń M, Acunaş B, Uzun C et al. Normal ve Riskli Yenidođanlarda Transient Evoked Otoakustik Emisyon (TEOAE) ile İşıtme Taraması. *Cerrahpaşı Tıp Fak. XIX. Akademik Hafta Pediatrik Otolarengoloji Sempozyumu Kongre Kitabı, İstanbul, Türkiye. 1996:48-53.*
43. Salata JA, Jacobsen JT, Strasnick B. Distortion-product otoacoustic emissions hearing screening in high risk newborn. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;118(1):37-43.
44. Glatke TJ, Robinette MS. Transient evoked otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:95-115.*
45. Harris FP, Probst R. Otoacoustic emissions and audiometric outcomes. In: Robinette MS, Glatke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers Inc; 2002:213-42.*
46. Ross UH, Rogowski M, Reiss G, Gloddek B. Detection of cochlear dysfunction by the measurement of transiently evoked otoacoustic emissions in Guinea pigs with autoimmune-induced labyrinthitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):80-3.
47. Moulin A, Collet L, Veuillet E, Morgon A. Interrelations between transiently evoked otoacoustic emissions, spontaneous otoacoustic emissions and acoustic distortion products in normally hearing subjects. *Hear Res* 1993;65(1-2):216-33.
48. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, McCoy MJ, Whitehead ML. New approaches to the evaluation of the auditory system and a current analysis of otoacoustic emissions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;112(1):50-63.
49. Özdamar Ö. İşıtsel uyarılma potansiyellerinin tarihçesi. Muş N, Özdamar Ö (Editörler). *İşıtsel Beyin Sapı Cevapları Temel Bilgiler ve Klinik Uygulamaları'nda, Ankara: 1996:31-3,35-55.*
50. Sphelman R, Stoneham MA. *Evoked potential primer. 2nd ed. London: Butterworth Heinaman Publish; 1985:194-232.*
51. Northern JL, Roush J. Differential audiometry in otologic diagnosis. In: *English Otolaryngology. Vol 1. PA, JB, Lippincott Company 1998;1-28.*
52. Saydam L, Özlüoğlu L. Gürsel B. Serebellopontin köşe tümörlerinin tanısında beyin sapı odyometrisinin kullanımı. *Türk Otolaringoloji Arşivi* 1994;32:69-73.
53. Muş N, Yenişehir S, Özkaptan Y. Retrokoklear ABR anormalliklerinin nörofizyolojik temeli. *Kulak Burun Boğaz İhtis Derg* 1991;1:65-70.
54. Sneider W. The discovery of aspirin: a reappraisal. *BMJ* 2000;321(7276):1591-4.
55. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971;231(25):232-5.

56. Hemler M, Lands WE. Purification of the cyclooxygenase that forms prostaglandins. Demonstration of two forms of iron in the holoenzyme. *J Biol Chem* 1976;251(18):5575-9.
57. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Nat Acad Sci USA* 2002;99(21):13926-31.
58. Spangler RS. Cyclooxygenase 1 and 2 in rheumatic disease: implications for nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy. *Semin Arthritis Rheum* 1996;26(1):435-46.
59. Oktay Ş. Antiinflamatuvar İlaçlar. *Farmakoloji: Nobel Tıp Kitapevleri*. 1998;401–19
60. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34(3):497-500.
61. Roth GJ, Majerus PW. The mechanism of the effect of aspirin on human platelets. I. Acetylation of a particulate fraction protein. *J Clinical Investigat* 1975;56(3):624-32.
62. Loll PJ, Picot D, Garavito RM. The structural basis of aspirin activity inferred from the crystal structure of inactivated prostaglandin H2 synthase. *Nat Struct Biol* 1995;2(8):637-43.
63. Clappers N, Brouwer MA, Verheugt FWA. Antiplatelet treatment for coronary heart disease. *Heart* 2007;93(2):258-65.
64. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1998;38:97-120.
65. Schror K. Aspirin and platelets: the antiplatelet action of aspirin and its role in thrombosis treatment and prophylaxis. *Semin Thromb Hemost* 1997;23(4):349-56.
66. Griffin MR. Epidemiology of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastrointestinal injury. *Am J Med* 1998;104(3a):23-9; discussion 41-2.
67. Boettcher FA, Salvi RJ. Salicylate ototoxicity: review and synthesis. *Am J Otolaryngol* 1991;12(1):33-47.
68. Marchese-Ragona R, Marioni G, Marson P, Martini A, Staffieri A. The discovery of salicylate ototoxicity. *Audiol Neurootol* 2008;13(1):34-6.
69. Michael M. Paparella GRH. *Year Book Of Otolaryngology Head and Neck Surgery* 2004. 2004:2952-4
70. Berger JI, Coomber B, Hill S, Alexander SPH, Owen W, Palmer AR, et al. Effects of the cannabinoid CB1 agonist ACEA on salicylate ototoxicity, hyperacusis and tinnitus in guinea pigs. *Hear Res* 2017;356:51-62.
71. Chen GD, Stolzberg D, Lobarinas E, Sun W, Ding D, Salvi R. Salicylate-induced cochlear impairments, cortical hyperactivity and re-tuning, and tinnitus. *Hear Res* 2013;295:100-13.

72. Jastreboff PJ, Brennan JF, Coleman JK, Sasaki CT. Phantom auditory sensation in rats: an animal model for tinnitus. *Behav Neurosci* 1988;102(6):811-22.
73. Stolzberg D, Chen GD, Allman BL, Salvi RJ. Salicylate-induced peripheral auditory changes and tonotopic reorganization of auditory cortex. *Neurosci* 2011;180:157-64.
74. Berger JI, Owen W, Wilson CA, Hockley A, Coomber B, Palmer AR, et al. Gap-induced reductions of evoked potentials in the auditory cortex: A possible objective marker for the presence of tinnitus in animals. *Brain Res* 2018;1679:101-8.
75. Muller M, Klinke R, Arnold W, Oestreicher E. Auditory nerve fibre responses to salicylate revisited. *Hear Res* 2003;183(1-2):37-43.
76. Chen G-D, Kermany MH, D'Elia A, Ralli M, Tanaka C, Bielefeld EC, et al. Too much of a good thing: long-term treatment with salicylate strengthens outer hair cell function but impairs auditory neural activity. *Hear Res* 2010;265(1-2):63-9.
77. Oliver D, He DZ, Klocker N, Ludwig J, Schulte U, Waldegger S, et al. Intracellular anions as the voltage sensor of prestin, the outer hair cell motor protein. *Science (New York, NY)*. 2001;292(5525):2340-3.
78. Hakizimana P, Fridberger A. Effects of salicylate on sound-evoked outer hair cell stereocilia deflections. *Euro J Physiol* 2015;467(9):2021-9.
79. Bulut E, Budak M, Öztürk L, T. TÜrkmen M, Uzun C, SİPahİ T. DNA methylation of the prestin gene and outer hair cell electromotileresponse of the cochlea in salicylate administration. *Turk J Med Sci* 2017;47:1626-33.
80. Feng H, Yin SH, Tang AZ, Tan SH. Salicylate initiates apoptosis in the spiral ganglion neuron of guinea pig cochlea by activating caspase-3. *Neurochem Res* 2011;36(6):1108-15.
81. Zhi M, Ratnanather JT, Ceyhan E, Popel AS, Brownell WE. Hypotonic swelling of salicylate-treated cochlear outer hair cells. *Hear Res* 2007;228(1-2):95-104.
82. Nam BH, Kim PS, Park YS, Worrell LA, Park SK, John EO, et al. Effect of corticosteroid on salicylate-induced morphological changes of isolated cochlear outer hair cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113(9):734-7.
83. Yang G, Lobarinas E, Zhang L, Turner J, Stolzberg D, Salvi R, et al. Salicylate induced tinnitus: behavioral measures and neural activity in auditory cortex of awake rats. *Hear Res* 2007;226(1-2):244-53.
84. Stolzberg D, Salvi R, Allman B. Salicylate toxicity model of tinnitus. *Front Syst Neurosci* 2012;6(28).
85. Bauer CA, Brozoski TJ, Holder TM, Caspary DM. Effects of chronic salicylate on GABAergic activity in rat inferior colliculus. *Hear Res* 2000;147(1-2):175-82.
86. Berger JI, Coomber B, Wallace MN, Palmer AR. Reductions in cortical alpha activity, enhancements in neural responses and impaired gap detection caused by sodium salicylate in awake guinea pigs. *Eur J Neurosci* 2017;45(3):398-409.

87. Ruel J, Chabbert C, Nouvian R, Bendris R, Eybalin M, Leger CL, et al. Salicylate enables cochlear arachidonic-acid-sensitive NMDA receptor responses. *J Neurosci* 2008;28(29):7313-23.
88. Ralli M, Troiani D, Podda MV, Paciello F, Eramo SL, de Corso E, et al. The effect of the NMDA channel blocker memantine on salicylate-induced tinnitus in rats. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2014;34(3):198-204.
89. Gholamnezhad Z, Havakhah S, Boskabady MH. Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: A review. *J Ethnopharmacol* 2016;190:372-86.
90. Saygin B, Esrefoglu M, Bayindir N, Tok OE, Selek S, Bulut H, et al. Protection with thymoquinone against formaldehyde-induced neurotoxicity in the rats. *Bratisl Lek listy*. 2018;119(11):726-30.
91. Meydan S, Esrefoglu M, Selek S, Akbas Tosunoglu E, Ozturk O, Kurbetli N, et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester and thymoquinone on toluene induced liver toxicity. *Biotech histochem* 2019;94(4):277-82.
92. Sereflican M, Yurttas V, Ozyalvacli G, Terzi EH, Turkoglu SA, Yildiz S, et al. The histopathological and electrophysiological effects of thymoquinone and methylprednisolone in a rabbit traumatic facial nerve paralysis model. *Am J Otolaryngol* 2016;37(5):407-15.
93. Sagit M, Korkmaz F, Akcadag A, Somdas MA. Protective effect of thymoquinone against cisplatin-induced ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;270(8):2231-7.
94. Sagit M, Korkmaz F, Gurgen SG, Kaya M, Akcadag A, Ozcan I. The protective role of thymoquinone in the prevention of gentamicin ototoxicity. *Am J Otolaryngol* 2014;35(5):603-9.
95. Le Calvez S, Avan P, Gilain L, Romand R. CD1 hearing-impaired mice. I: Distortion product otoacoustic emission levels, cochlear function and morphology. *Hear Res* 1998;120(1-2):37-50.
96. Glueckert R, Pfaller K, Kinnefors A, Rask-Andersen H, Schrott-Fischer A. Ultrastructure of the normal human organ of corti. new anatomical findings in surgical specimens. *Acta Otolaryngol* 2005;125(5):534-9.
97. Glueckert R, Pfaller K, Kinnefors A, Schrott-Fischer A, Rask-Andersen H. High resolution scanning electron microscopy of the human organ of Corti. A study using freshly fixed surgical specimens. *Hear Res* 2005;199(1-2):40-56.
98. Poyrazoğlu E, Güngör A, Gökhan U, İmer O, Hasan C. Ototopikal siprofloksasinin koklear etkilerinin taramalı elektron mikroskopisi ile gösterilmesi. *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi'nde* 1997:116-21.
99. Basut O. Otitis mediada bakteriyoloji ve tedavi. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2005;1(7):20-5.

100. Lobarinas E, Sun W, Cushing R, Salvi R. A novel behavioral paradigm for assessing tinnitus using schedule-induced polydipsia avoidance conditioning (SIP-AC). *Hear Res* 2004;190(1-2):109-14.
101. Didier A, Miller JM, Nuttall AL. The vascular component of sodium salicylate ototoxicity in the guinea pig. *Hear Res* 1993;69(1-2):199-206.
102. Lee SY, Han SY, Shim YJ, Han JJ, Cho D, Kim JE, et al. Effect of Ginkgo Biloba Extract on N-Methyl-D-Aspartic Acid Receptor Subunit 2B Expression in a Salicylate-Induced Ototoxicity Model. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2019;12(2):169-75.
103. Ralli M, Lobarinas E, Fetoni AR, Stolzberg D, Paludetti G, Salvi R. Comparison of salicylate- and quinine-induced tinnitus in rats: development, time course, and evaluation of audiologic correlates. *Otol Neurotol* 2010;31(5):823-31.
104. Zheng Y, Stiles L, Hamilton E, Smith PF, Darlington CL. The effects of the synthetic cannabinoid receptor agonists, WIN55,212-2 and CP55,940, on salicylate-induced tinnitus in rats. *Hear Res* 2010;268(1-2):145-50.
105. Lobarinas E, Yang G, Sun W, Ding D, Mirza N, Dalby-Brown W, et al. Salicylate- and quinine-induced tinnitus and effects of memantine. *Acta Otolaryngol Suppl* 2006(556):13-9.
106. Hwang JH, Huang DC, Lu YC, Yang WS, Liu TC. Effects of Tumor Necrosis Factor Blocker on Salicylate-Induced Tinnitus in Mice. *Int Tinnitus J* 2017;21(1):24-9.
107. Sheppard AM, Chen GD, Salvi R. Potassium ion channel openers, Maxipost and Retigabine, protect against peripheral salicylate ototoxicity in rats. *Hear Res* 2015;327:1-8.
108. Ochi K, Kinoshita H, Kenmochi M, Nishino H, Ohashi T. Effects of nimodipine on salicylate ototoxicity. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111(12 Pt 1):1092-6.
109. Abukhader MM. The effect of route of administration in thymoquinone toxicity in male and female rats. *Indian J Pharm Sci* 2012;74(3):195-200.
110. Akyuz M, Taysi S, Baysal E, Demir E, Alkis H, Akan M, et al. Radioprotective effect of thymoquinone on salivary gland of rats exposed to total cranial irradiation. *Head Neck* 2017;39(10):2027-35.
111. Gulmez MI, Okuyucu S, Dokuyucu R, Gokce H. The effect of caffeic acid phenethyl ester and thymoquinone on otitis media with effusion in rats. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol* 2017;96:94-9.
112. Isik H, Cevikbas A, Gurer US, Kiran B, Uresin Y, Rayaman P, et al. Potential adjuvant effects of Nigella sativa seeds to improve specific immunotherapy in allergic rhinitis patients. *Med Princ Pract* 2010;19(3):206-11.
113. Aksoy F, Dogan R, Ozturan O, Tugrul S, Veyseller B, Ozer OF, et al. An Evaluation of the Protective Effects of Thymoquinone on Amikacin-Induced Ototoxicity in Rats. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2015;8(4):312-9.

114. Aksoy F, Dogan R, Yenigun A, Veyseller B, Ozturan O, Ozturk B. Thymoquinone treatment for inner-ear acoustic trauma in rats. *J Laryngol Otol* 2015;129(1):38-45.
115. Almeida-Silva I, Oliveira JA, Rossato M, Salata FF, Hyppolito MA. Spontaneous reversibility of damage to outer hair cells after sodium salicylate induced ototoxicity. *J Laryngol Otol* 2011;125(8):786-94.



EKLER





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

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2019/04

Karar Tarihi: 29.04.2019

Karar No: 2019.04.02

Hayvan Sayısı ve Cins::

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Rifat KARASALİHOĞLU'nun yaptığı, Araş. Gör. Dr. Esmâ SÜLEYMAN'ın uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2018/10 protokol nolu "Timokinon'un Salisilat Kaynaklı Tinnitus Etkisi" başlıklı çalışmanın isminin "Timokinon'un Salisilat Ototoksitesine Etkisi" olarak değiştirilmesi önerisi görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmelik ve Trakya Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-KATILMADI-

Vet. Hekim Didem DÖNMEZ
Vet. Hek. Üye

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-KATILMADI-

Prof. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-KATILMADI-

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Ecz. F. Uygur GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Ayhan YILMAZ
Sivil Üye

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır



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

Sayı : 59803669-604.99 -E.132516
Konu : Sözleşme

11/12/2018

Sayın Prof. Dr. Ahmet Rifat KARASALİHOĞLU
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve Arş. Gör. Dr. Esmâ SÜLEYMAN'ın "Timokinon'un Salisilat Kaynaklı Tinnitus Etkisi" başlıklı tıpta uzmanlık projesinin, 12 (on iki) ay süre ve 26.202,00 TL ile desteklenmesine, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 27.11.2018 tarih ve 2018/17 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 8. maddesinin 4. bendi uyarınca düzenlenen Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Mümin ŞAHİN
Rektör Yardımcısı

Ek:Protokol sözleşmesi (2 sayfa)

Evrakı Doğrulamak İçin : https://cbys.trakya.edu.tr/en/Vision/Validate_Doc.aspx?V=BERABB7FE

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

Bilgi için: Cennet AYYILDIZ
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni



