

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

**İNTRATİMPANİK GENTAMİSİN UYGULAMASINA BAĞLI
KOKLEOTOKSİK ETKİYİ ÖNLEMEDE
DEKSAMETAZONUN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Haşim AYDIN

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Cemil MUTLU**

Manisa, 2006

ÖNSÖZ

Tez araştırmamın konu belirleme, planlama, gerçekleştirme, dokümentasyon gibi her aşamasındaki katkıları için tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Cemil MUTLU'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deyimlerinden faydalandığım, daima hoşgörölü ve anlayışlı olan, beni her konuda destekleyen başta hocam Sayın Prof. Dr. H. Halis ÜNLÜ'ye, hocalarım Prof. Dr. Onur ÇELİK, Prof. Dr. Ali Vefa YÜCETÜRK, Prof. Dr. Cemil MUTLU ve ayrıca tez çalışmamın birçok aşamasında yardımları ve fikirleri ile katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Asım ASLAN'a,

Araştırmanın yürütölmesindeki değerli yardımları için başta uzmanım Dr. Kıvanç GÜNHAN olmak üzere, uzman olup ayrılan Dr. Görkem ESKİİZMİR, Dr. Gülay GÜÇLÜ ASLAN ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Histopatolojik değerlendirme aşamasındaki katkıları için faköltemiz Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Sevinç İNAN'a, deksametazonun aktif hammadde halinde teminindeki yardımları ve işbirliği için "DEVA İlaç İzmir Bölge Müdürlüğü"ne,

Asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım ve eğitimimde büyük payları olan uzmanlarıma ve asistan arkadaşlarıma, bölümümüzün hemşire, odyometrist, sekreter ve tüm çalışanlarına,

DeneySEL çalışmanın tüm zorluklarını benimle birlikte paylaşan sevgili eşim Elif'e, kobayların bakımında her türlü yardımı severek yapan babama teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca bana destek olan, bugünlere gelmemi sağlayan, beni ben yapan sevgili aileme saygı, sevgi ve minnetlerimi sunuyorum.

Dr. Haşım AYDIN

İÇİNDEKİLER	Sayfa
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
1. Kulak Anatomisi	3
A. Dış Kulak	3
a. Aurikula	4
b. Dış Kulak Yolu	5
B. Orta Kulak	6
a. Timpanik Membran	6
b. Kemikçikler	7
c. Orta Kulak Kasları	8
d. Yuvarlak Pencere Membranı	9
e. Tuba Östaki	11
C. İç Kulak	12
a. Kemik Labirent	12
b. Membranöz Labirent	14
2. İşitme Fizyolojisi	24
A. İletim (Kondüksiyon) Fazı	24
B. Dönüşüm (Transdüksiyon) Fazı	27
C. Nöral Kodlama	28
D. Analiz ve Algılama Fazı	29
3. Vestibüler Fizyoloji	31
4. Guinea Pig	35
A. Genel Bilgiler	35
B. Guinea pig'lerin Temporal Kemik Anatomisi	36
5. Meniere Hastalığı	39
A. Tanım ve Tarihçe	39
B. Epidemiyoloji	40
C. Patoloji ve Patofizyoloji	42

D. Klinik	43
E. Tanı	45
F. Tedavi	47
a. Atakların Tedavisi	48
b. Profilaksi	49
c. Bilateral Meniere Hastalığında	
Medikal Tedavi	49
d. Cerrahi Tedavi	50
e. Vestibüler Rehabilitasyon	50
f. Meniere Hastalığında İntratimpanik	
İlaç Uygulamaları	52
i. Aminoglikozidler	53
ii. Kortikosteroidler	58
6. Apoptozis, Ototoksisite ve TUNEL Yöntemi	63
III. GEREÇ VE YÖNTEM	66
1. Genel Bilgiler	66
2. İntratimpanik Uygulama	69
3. Gruplar	70
4. Histopatolojik İnceleme	72
IV. BULGULAR	79
V. TARTIŞMA	100
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	109
VII. ÖZET	110
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	112
IX. KAYNAKLAR	114

I. GİRİŞ

Meniere hastalığı, kulak çınlaması, kulakta basınç hissi ile beraber ani vertigo ataklarıyla karakterize bir iç kulak hastalığıdır. Fluktuan nörosensoriyal işitme kaybı bu hastalığın bir diğer karakteristik bulgusudur.

Hastalığın medikal tedavisini az tuzlu diyet ve diüretikler, steroidler ve vazodilatörlerin kullanımı oluşturmaktadır. Medikal olarak tedavi edilemeyen inatçı olgularda çeşitli cerrahi tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda, iç kulakta oluşturduğu vestibüler toksisiteden faydalanılarak, aminoglikozid antibiyotikler (özellikle gentamisin ve streptomisin) yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Özellikle intratimpanik uygulamaları popüler hale gelmiştir. Gentamisin ve streptomisinin intratimpanik uygulamalarında hem kullanılan doz, hem de uygulama süresi yönünden literatürde çok değişik protokoller mevcuttur. Günlük birkaç doz uygulamasından, haftalık, hatta aylık tek doz uygulamaya kadar değişen uygulama yöntemleri sunulmuştur.

Bu hastalığın medikal tedavilerinden bir tanesi de son yıllarda kullanıma giren intratimpanik deksametazon ve hidrokortizon gibi topikal steroid uygulamalarıdır. Özellikle hastalığın başlangıç dönemlerinde işitme düzeyi iyi olan hasta gruplarında uygulanmaktadır.

İnatatimpanik uygulanan aminoglikozid ilaçların vestibülotoksik etkileri yanında kokleotoksik etkilerinin de olması ve işitme kaybına neden olmaları kullanımlarına sınırlama getirmiştir. Bu nedenden dolayı işitme düzeyi belli oranlarda azalmış hastalarda kullanılması önerilmektedir. Bununla birlikte bu hasta gruplarında bile işitmede daha fazla kayba neden olduğu bildirilmektedir. Son yıllarda bu kokleotoksik etkiyi azaltmak için yoğun çalışmalar yapılmıştır. Guinea pigler ile gerçekleştirilen deneysel bir

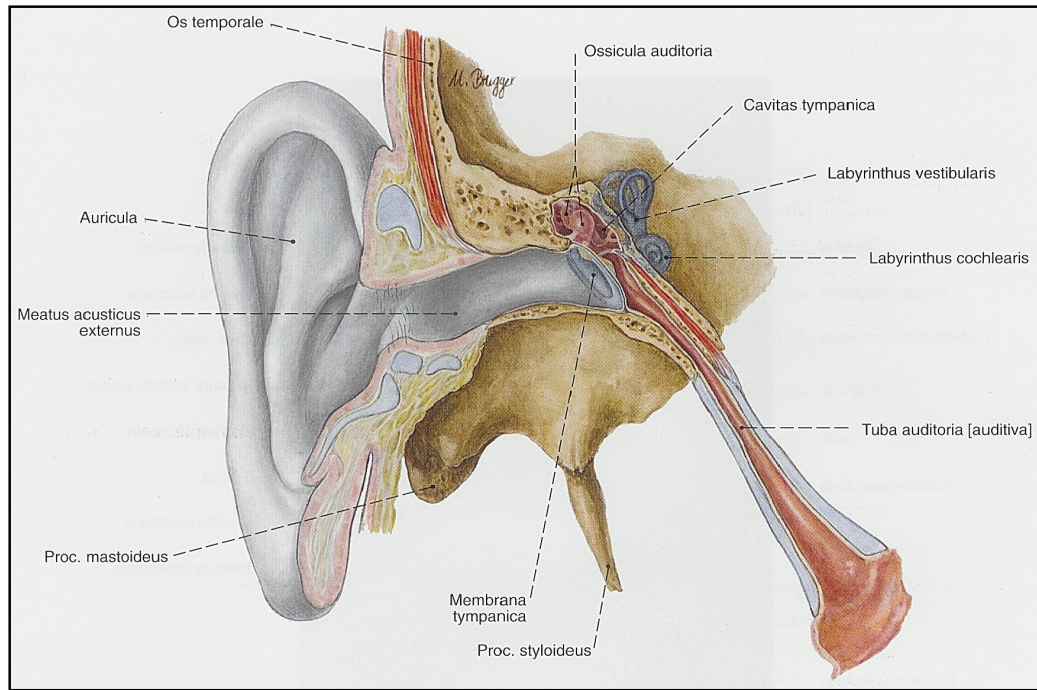
Çalışmada intrakoklear deksametazon uygulamasının sistemik kanamisin ototoksisitesini azalttığı gösterilmiştir.

Araştırmamızda, Meniere hastalığının tedavisinde yaygın olarak tercih edilen intratimpanik gentamisin uygulamasının neden olduğu kokleotoksik etkilerin azaltılması veya önlenmesinde topikal deksametazonun rolünün araştırılması hedeflenmiştir.

II. GENEL BİLGİLER

1. KULAK ANATOMİSİ

Kulak anatomisi dış, orta ve iç kulak olmak üzere 3 bölümde ele alınmaktadır.



Şekil 1. Kulak anatomisinin genel görünümü

A. DIŞ KULAK

Diş kulak aurikula ve diş kulak yolundan meydana gelir.

a. Aurikula

Deri ve perikondriumla çevrilmiş sarı, elastik fibrokartilajinöz dokudan oluşmuştur. Genellikle lateral yüzü konkavdır. Her bir konkav alan medial yüze karşılık gelen bir konveksiteye sahiptir. Lateral yüzü örten deri perikondriuma sıkıca yapışıktır. Buna karşılık medial yüzü örten deri epidermisin altında daha gevşek bir areolar dokuya yapışmıştır. Heliksin krusu, en büyük konkav alan olan auriküler konkayı üstte simba konka, altta kavum konka olarak ikiye ayrılır. Kavum konkanın kıkırdağı dış kulak yolunun kıkırdak kısmına doğru uzanır. Bu kıkırdak superiora tam bir bütünlüğe sahip değildir. Buraya auriküler çentik veya insisura terminalis denir. Bu insisuranın aşağısında belirgin bir çıkıntı olarak tragus, daha aşağıda tragusun karşısında ve altında yerleşmiş antitragus bulunur. Konkal kıkırdağın posterosuperior kenarı belirgin bir yükseklik yapar ve antiheliks olarak adlandırılır. Bu da yukarıda triangular fossayı oluşturan iki kabartı ile devam eder. Aurikulanın en dış kenarı heliks adını alır. Bu yukarıda heliks krusu ve aşağıda lobül ile devam eder. Aurikulanın kıkırdak içermeyen tek kısmı lobüldür.

Aurikula, timpanik kemiğe fibrokartilajinöz kanala verdiği lifler sayesinde sıkıca yapışıktır. Anterior, superior ve posterior auriküler ligamanlar ve az gelişmiş 6 adet intrinsek kas tarafından daha gevşek olarak tespit edilir. Aurikulanın ayrıca anterior, superior ve posterior olmak üzere 3 adet ekstrinsek kası mevcuttur.

Aurikula ve dış kulak yolunun duyuşal inervasyonu 5., 7., 10. kranial sinirler ve 3. servikal sinir tarafından sağlanır (1,2).

Aurikula ve dış kulak yolunun arteriyel kanlanması eksternal karotid arter sisteminden gelmektedir. Posterior auriküler arter mastoid çıkıntının ön yüzü boyunca seyreder ve mastoid kemiğın bir kısmının ve aurikulanın arteriyel beslenmesini sağlar. Oksipital arter aurikulanın posteroinferior bölgesinin beslenmesine katkıda bulunur. Superfisiyal temporal arter ise aurikulayı anteriordan besler. Aurikulanın venleri, arterlere eşlik ederek juguler vene drene olurlar. Aurikulanın lenfatik drenajı ise parotid, retroauriküler ve yüzeysel servikal lenf nodlarına olmaktadır.

b. Dış Kulak Yolu

Konkal kıkırdaktan timpanik membrana kadar uzanır. Posterosuperior duvarın uzunluğu yaklaşık 25 mm, anteroinferior duvar uzunluğu ise yaklaşık 30 mm civarındadır. Aradaki 5 mm'lik fark timpanik membranın oblik yerleşmesinin sonucudur (1). Kanal mediale gittikçe anteroinferior yönde seyrederek ve hafif "S" şeklindedir. Lateral 1/3 kısmı kıkırdak, medial 2/3 kısmı kemikten oluşur. Kıkırdak kısmın posterosuperior da bütünlüğü tam değildir. Kıkırdağın ön duvarında Santorini fissürleri denen iki yarık bulunur.

Kemik kanalın anterior, inferior duvarları ve posterior duvarın alt kısımları timpanik halkadan meydana gelir. Posterior duvarın üst parçası ve superior duvar, temporal kemiğin skuamöz parçasından meydana gelir. Superior duvar timpanik kavitenin attik bölgesinden medialde ince bir kemik ile ayrılır. Lateralde daha kalın bir kemik, dış kulak yolunu orta fossadan ayırır. Posterior duvar, mastoid hücreler ve fasial kanalın inen kısmı ile yakın ilişkiindedir. Inferior duvar daha yoğun bir kemikten oluşmuştur. Fakat bazı durumlarda büyük veya dehissans juguler bulbusu ortaya koyacak şekilde ince olabilir. Anterior duvar glenoid fossanın posterior sınırını belirler, mandibulanın kondiline komşudur ve ince, hatta dehissans olabilir. Dış kulak yolu kemik kısmı orta kısmında bir isthmus oluşturur. Kanalın çapı 7-9 mm arasındadır ve vertikal çapı daha büyüktür (1).

Dış kulak yolunun arteriyel kanlanması internal maksiller arterin bir dalı olan derin auriküler arter aracılığı ile olur. Bu arter, dış kulak yolu ile birlikte timpanik membranın lateral yüzünü besler. Dış kulak yolunun venöz drenajı superfisiyal temporal ven ve posterior auriküler ven yolu ile olmaktadır. Lenfatik drenajı ise aurikulanın lenfatik drenajı gibidir.

B. ORTA KULAK

Orta kulak boşluğu sagittal planda yerleşmiştir ve 6 duvarı mevcuttur:

- 1) Lateralde timpanik membran,
- 2) Medialde promontorium (koklea),
- 3) Superiorda tegmen timpani (orta fossa durası),
- 4) İneriorda juguler bulbus,
- 5) Anteriorda internal karotid arter ve Östaki tüpü,
- 6) Posteriorada adius ad antum, mastoid hava hücreleri.

a. Timpanik Membran

Orta kulağı dış kulaktan ayıran şeffaf, çok katlı, oval biçimde bir yapıdır. Vertikal uzunluğu 9-10 mm, horizontal uzunluğu ise 8-9 mm'dir. Ancak bazı ırklarda horizontal uzunluğu daha fazla olduğu ileri sürülmektedir (3). Timpanik membran, dış kulak yolu posterior duvarı ile geniş, anterior duvarı ile dar açı yapmaktadır. Timpanik membran, timpanik kemiğin anulusunda yerleşmiş olan fibröz anulusa tutunur (Gerlach halkası) ve malleusun lateral prosesi ile umbo arasında manubriuma yapışıktır. Umbo, timpanik membranın medial apeksini yapar.

Timpanik membran, anterior ve posterior malleolar ligamanlar ile üstte pars flaksida, altta pars tensa bölümlerine ayrılır. Timpanik membran yaklaşık olarak 0,1 mm kalınlığındadır (4). Pars tensa dış yüzde skuamöz, ortada fibröz ve iç yüzde ise mukozal tabakalardan oluşmuştur. Orta tabakada kollajenöz lifler boldur ve hem radyal, hem de sirkumferansiyel olarak dağılırlar. Pars tensa'nın kenarlarındaki lifler kalınlaşarak fibröz anulusu oluştururlar. Pars flaksida'da kollajen lifleri daha azdır ve seyrek dağılım gösterirler. Dolayısı ile pars flaksida'da pratikte fibröz tabakanın bulunmadığı söylenebilir. Ancak pars flaksida daha kalındır ve fibröz anulus bulunmaz.

Timpanik membranın dış yüzünün duyusal inervasyonu, dış kulak yolunu inerve eden sinirlerle sağlanır. İç yüzünün duyusal inervasyonunu ise glossofarengeal sinirin timpanik dalı (Jacobson siniri) sağlar.

Timpanik membranın dış yüzünün arteriyel kanlanması internal maksiller arterin bir dalı olan derin auriküler arter ile, iç yüzünün kanlanması ise posterior auriküler arter ve timpanik arter ile olur. Timpanik membranın venleri, arterlere eşlik eder.

Orta kulak boşluğu, superiorda ve inferiorda timpanik membrana teğet geçen horizontal plandaki hayali iki hat ile 3 adet alt boşluğa ayrılır: epitimpanum (attik), mezotimpanum ve hipotimpanum.

Orta kulak boşluğunun anteroposterior mesafesi yaklaşık 15 mm, vertikal mesafesi yaklaşık 15 mm'dir. Transvers planda orta kulak çapı epitimpanumda yaklaşık 6 mm, mezotimpanumda umbo seviyesinde yaklaşık 2 mm, hipotimpanumda ise yaklaşık 4 mm civarındadır (1).

b. Kemikçikler

Malleus; yaklaşık 23 mg ağırlığında olup baş, boyun ve 3 çıkıntıdan (timpanik membranın yapıştığı manubrium mallei, anterior ve lateral prosesler) oluşur (1). Malleus başı epitimpanumun büyük kısmını işgal eder ve kompleks bir ligaman sistemi ile desteklenir. 3 adet asıcı ligamanı bulunur: anterior, lateral ve superior malleolar ligamanlar.

İnkus; yaklaşık 27 mg ağırlığında olup gövde, uzun ve kısa kollardan meydana gelir (1). Gövde kısmı malleus başı ile eklem yapar. Kısa kolu epitimpanik resesin posterioruna uzanır ve burada posterior inkudal ligaman ile desteklenir. Uzun kol posterior yönde manubrium mallei'ye paralel seyrederek stapesin başı ile eklem yapar. Eklem yaptığı kısmına lentiküler proses denir. Medial ve lateral inkudomalleolar ligamanlar inkus gövdesini malleus başına bağlar.

Stapes; yaklaşık 2,5 mg ağırlığında olup vücuttaki en küçük kemiktir (1,5). Vestibülün lateral duvarında bulunan oval pencere üzerine oturmuştur. Baş, boyun, iki bacak ve tabandan oluşur. Baş, boyun ve bacaklar tabana tutunan bir ark meydana getirirler.

Orta kulak boşluğunu değişik kompartımanlara bölen birçok mukozal katlantı vardır: anterior malleolar katlantı (von Tröltsch katlantısı), lateral malleolar katlantı, tensor timpani katlantısı, superior malleolar katlantı, superior

inkudal katlantı, lateral inkudal katlantı, medial inkudal katlantı ve interossiküler katlantı.

Timpanik diafram, inkus gövdesi, malleus başı, lateral ve medial mukozal katlantılardan meydana gelir (6). Bu diafram, orta kulağın hava içeren boşluğunu tubotimpanik boşluk (protimpanum, hipotimpanum, mezotimpanum) ve epitimpanoantral boşluk (epitimpanum, mastoid antrum ve hava hücreleri) olmak üzere ikiye ayırır.

Orta kulakta, anatomik yapıların arasında kalan ve havalanmaları özellik gösteren boşluklar mevcuttur: Prussak boşluğu, anterior ve posterior von Tröltsch cebi.

c. Orta Kulak Kasları

Stapes kası, timpanik kavitenin posterior duvarında, mastoid kemik içine uzanan, fallop kanalına komşu ve hemen medialinde yer alan huni şeklinde kemik bir kanal içinde bulunur. Stapesin başına veya boynuna tutunur. Fasial sinir tarafından inerve edilir. Stapes tabanının ön kenarını laterale, arka kenarını mediale çekerek akustik uyarının neden olduğu hareket şiddetini azaltır.

Tensor timpani kası, orta kulak ön-üst duvarında kendine ait, tam olmayan bir kemik kanal içinde seyreder (semikanal tensor timpani), kokleariform prosten orta kulağa girer, malleusun boynuna, manubriumun medial ve anterior yüzlerine yapışır. Mandibüler sinirin dalı olan pterigoid sinir tarafından inerve edilir. Tensor timpani kası malleusun manubriumunu mediale çekerek timpanik membranın ve kemikçik zincirin kompliansını azaltır.

Mezotimpanumda orta kulağın medial duvarında, kokleanın bazal kıvrımı tarafından oluşturulan promontorium bulunur. Malleusun umbosu ile promontorium arası yaklaşık 2 mm kadardır (1,5). Mezotimpanumda oval pencerenin inferiorunda, malleusun posteriorunda yuvarlak pencere (fenestra koklea) bulunur. Yuvarlak pencere ince bir membran ile kokleadan ayrılır. Pencerenin orta kulağa bakan kısmı üzerinde kemik bir çıkıntı bulunur ve yuvarlak pencere nişi adını alır (7). Oval pencere nişinden posteriora doğru

uzanan kemiksi bir çıkıntı izlenir (pontikulus). Yuvarlak pencere nişi ise inferiorda ince bir kemik çıkıntı ile posteriora doğru devam eder. Buna subikulum denir.

d. Yuvarlak Pencere Membranı

Timpanik kaviteye uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına ana geçiş yeri olan yuvarlak pencere yaklaşık 1.5 mm genişliğinde ve 2-3 mm uzunluğundadır (8). Yuvarlak pencere nişinin şekli, orta kulaktaki değişik maddelerin ve orta kulak effüzyonlarının bu bölgede birikmesine neden olur (9). Böylece orta kulak sıvılarının iç kulağa diffüzyonlarının artmasına neden olabilir. Yuvarlak pencere membranı ayrıca ses iletiminde rol alır.



Resim 1. İnsan orta kulak medial duvarının posteroinferioru ve yuvarlak pencere nişi (taramalı elektron mikroskop görüntüsü) (10).

Yuvarlak pencere membranı nişten daha içeride yer alırken, nişin girişi bazen “yalancı yuvarlak pencere membranı” adını alan orta kulak mukozasının oluşturduğu katlantılar ile kaplı olabilir (8-13).

Yuvarlak pencere membranı, yuvarlak pencere nişini skala timpaniden ayırır ve perilenf ile temas halindedir. Kenarlarda daha kalın olan membran, skala timpaniye doğru biraz konvekstir (11). İnsanda membranın ortalama kalınlığı 70 μm 'dir ve yaşla değişmez (10,11). 3 tabakadan oluşan

membranın dış tabakasını orta kulak epiteli, orta tabakasını bağ dokusu ve iç tabakasını iç kulak epiteli oluşturur (9,10).

Dış epitel tabakasını tek veya iki katlı alçak kübik epitel oluşturur ve orta kulak epiteli ile devam eder. Hücrelerin serbest yüzeyinde mikrovilluslar bulunur. Hücrelerin altında devamlı bir bazal membran vardır.

Orta tabaka çok sayıda fibrosit, fibroblast, kollajen ve elastik lifler, kan ve lenf damarları, myelinli ve myelinsiz sinir lifleri içerir. Membranın iç kulak yüzeyine doğru fibroblast, kollajen ve özellikle elastik lif yoğunluğu artar. Vasküler yapılar, membranın orta kulak yüzeyine yakın yerleşir.

İç tabakayı oluşturan iç kulak epiteli tek katlı, yassı, uzun lateral sitoplazmik uzantılar içeren epitel hücrelerinden oluşur. Lateral uzantılar epitelin çok katlı görünmesine neden olur. Hücrelerde mikrovillus yoktur ve devamlı bir bazal membran bulunmaz. Yuvarlak pencere membranı morfolojisinin, kalınlık değişmekle birlikte, kedilerde, guinea piglerde (14) ve chinchillalarda insandaki ile aynı olduğu bulunmuştur (15).

Promontorium üzerinde glossofarengeal sinirin timpanik dalı (Jacobson siniri) izlenir. Bu sinir, juguler foramenin inferiorunda yerleşen glossofarengeal sinirin inferior ganglionundan ayrılır (17). Sonra internal karotid arter ile internal juguler ven arasındaki karotikojuguler spin içindeki timpanik kanaldan geçerek orta kulağa girer. Daha sonra yukarı doğru ilerleyerek genikulat gangliona ulaşır. Bu nedenle genikulat ganglionu gösteren önemli bir landmark olarak kabul edilir.

Fasial sinir kanalının mastoid parçasının medialinde bulunan ve superiorda pontikulus, inferiorda subikulum arasında kalan cep şeklindeki boşluk sinus timpani olarak bilinir. Subikulumun hemen altında bulunan cep posterior sinus olarak adlandırılır.

Orta kulak medial duvarında seyreden bir başka yapı koklear akuaduktustur. Koklear akuaduktus yuvarlak pencere yakınında kokleanın skala timpanisinden başlar. Kokleanın duvarı boyunca inferomediale seyreder. Sonra koklea duvarından ayrılır, hipotimpanumda laterale hafif bir dirsek yaparak juguler foramenin anteriorunda huni şeklinde genişleyerek sonlanır (18).

Mezotimpanumda orta kulağın posteriorunda fasial kanalın mastoid parçasının lateralinde de bir cep izlenir. Superiorda fossa inkudis, inferiorda korda timpani, lateralde timpanik anulus ile sınırlanan bu bölge fasial reses adını alır (7,19).

Orta kulağın inervasyonu pleksus timpanikus tarafından sağlanır. Pleksus timpanikus, glossofarengal sinirin timpanik dalı (Jacobson siniri) ve karotikotimpanik sempatik sinirler tarafından oluşturulur.

Orta kulak boşluğunun arteriyel kanlanması internal maksiller arterin anterior timpanik dalı, posterior auriküler arterin stilomastoid dalı, orta meningeal arterin ramus petrosus ve ramus timpanikus superior dalları, internal karotid arterin karotikotimpanik dalları ile sağlanır. Venöz drenaj pterigoid venöz pleksusa ve superior petröz sinüse olur.

e. Tuba Östaki

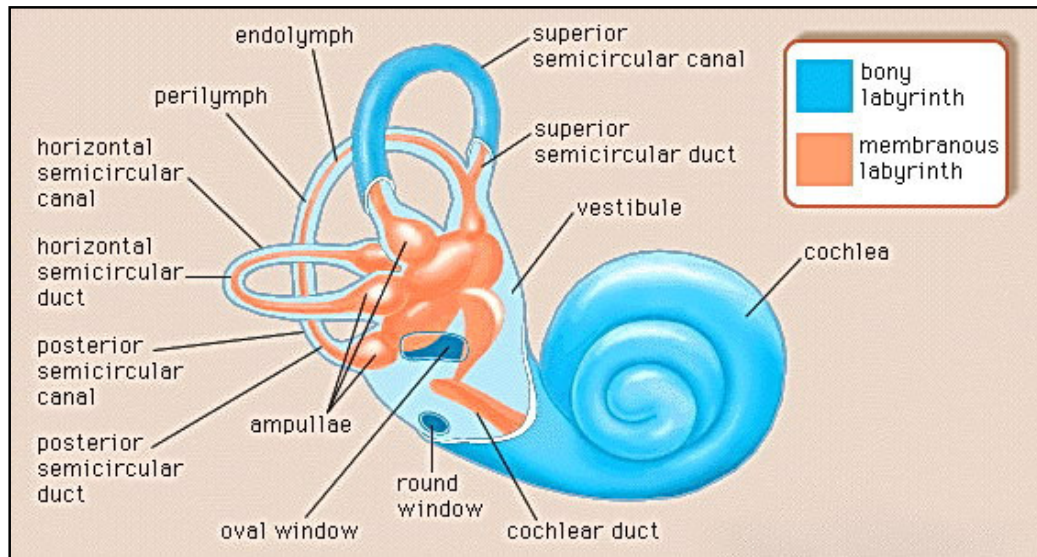
Orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlayan huni şeklinde bir yapıdır. Erişkinlerde boyu yaklaşık 31-38 mm arasındadır (1). Orta kulaktan nazofarenkse doğru anteroinferolateral doğrultuda seyreder. Çocuklarda daha kısa ve düzdür. Orta kulak tarafındaki 1/3'lük kısım kemikten, nazofarenks tarafındaki 2/3'lük kısım kıkırdaktan oluşur. Östaki tüpünün açılıp kapanmasından tensor veli palatini, levator veli palatini ve salpingofarengus kasları sorumludur.

C. İÇ KULAK

İç kulak, kemik ve membranöz labirent olarak incelenir.

a. Kemik Labirent

Vestibül: Orta kulağın medial duvarı ile internal akustik kanalın fundusu arasında yerleşir. Boyu yaklaşık 6 mm, çapı yaklaşık 3 mm ölçülerindedir. Vestibülün medial duvarının posterior kısmında küçük bir delik vardır. Burası vestibüler akuaduktusun başlangıcıdır. Bu kanal petröz kemiğin posterior yüzüne doğru seyrederek dura altında sonlanır. Vestibül lateral duvarında fenestra ovale (fenestra vestibüli, oval pencere) denilen açıklık ile orta kulakla ilişkidir. Bu açıklığın üzeri stapes tabanı ve anüler ligaman ile örtülmüştür.



Şekil 2. Kemik ve membranöz labirent

Kemik semisirküler kanallar: Üç tanedir ve klasik olarak aralarında 90° açılma olduğu söylenir. Ancak yapılan çalışmalarda bu açılmanın 100° olduğu bulunmuştur (20).

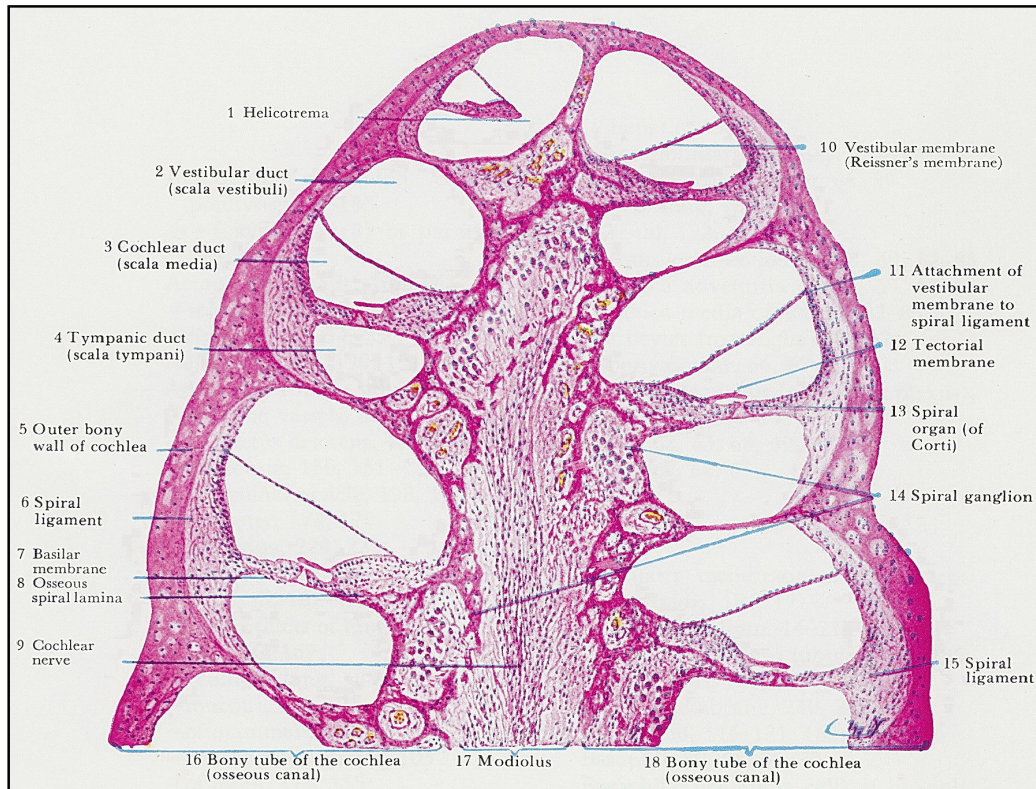
Superior (anterior) semisirküler kanal: Petröz kemiğin uzun aksına transvers olarak bulunur. İnternal akustik kanal ile 60°lik bir açı yapar.

Posterior semisirküler kanal: Petröz kemiğin posterior yüzüne paralel bir planda yerleşir.

Lateral (horizontal) semisirküler kanal: Superior ve posterior kanalların arasında yerleşir. Attik bölgenin medial duvarında, aditus ad antrumda bir çıkıntı şeklinde kendini belli eder. Her iki taraftaki horizontal kanallar yaklaşık olarak aynı planda yerleşim gösterirler.

Semisirküler kanalların şişkin olan uçlarına ampulla, düz olan uçlarına ise krus simpleks denir. Superior ve posterior kanalların düz uçları birleşir ve krus kommunis adını alır.

Kemik koklea: Vestibülün anteriorunda yerleşir. Erişkin bir insanda 2,5 dönüşlük bir sarmal yapar. Modiolus denilen, spongiöz kemikten oluşan bir eksen etrafında yerleşmiştir. Tabanına basis koklea, tepesine kupula koklea adı verilir.



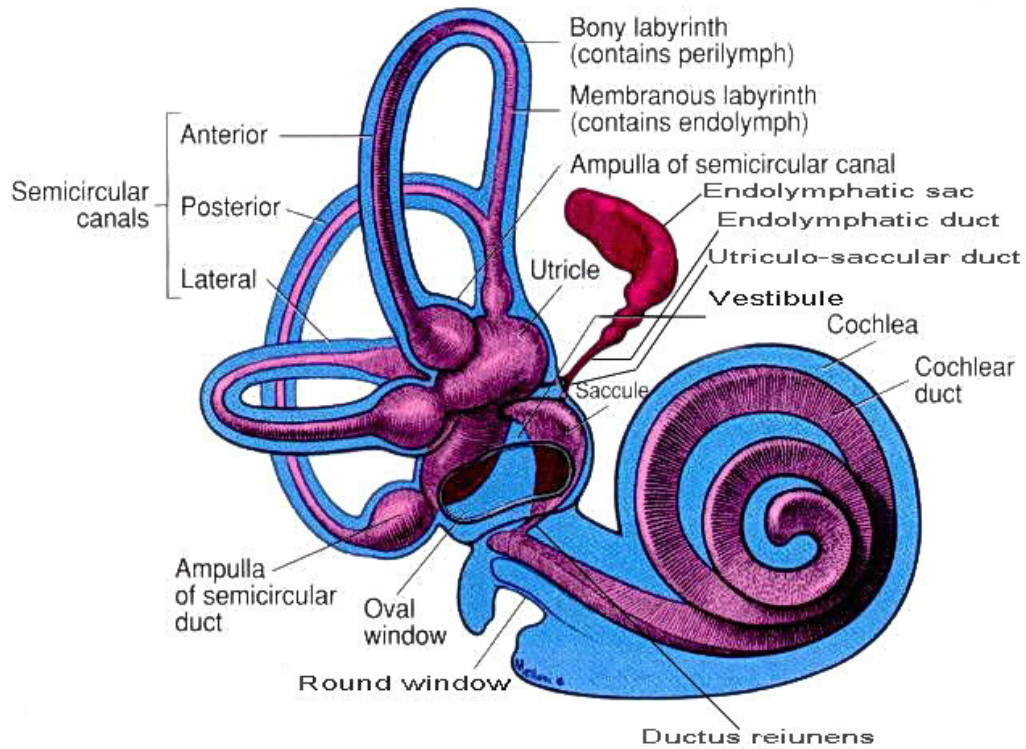
Şekil 3. Modiolusun ortasından vertikal kesit alınmış koklea görüntüsü

Koklea içindeki spiral kanal içerisinde lamina spiralis ossea denen yarım bir kemik bölme vardır. Koklear siniri içeren kemik koklear sinir kanalı, basis koklea ile internal akustik kanalın fundusu arasında seyrederek ve yaklaşık 1.2 mm uzunluğunda ve 2,6 mm çapındadır (21).

Kemik labirent içerisinde perilyen denilen sıvı vardır.

b. Membranöz Labirent

Endolenfatik sıvı içerir. Bu sıvı, intrasellüler sıvı içeriğine benzer özelliktedir, yani potasyum (K^+) iyon konsantrasyonu yüksek, sodyum (Na^+) iyon konsantrasyonu düşüktür.



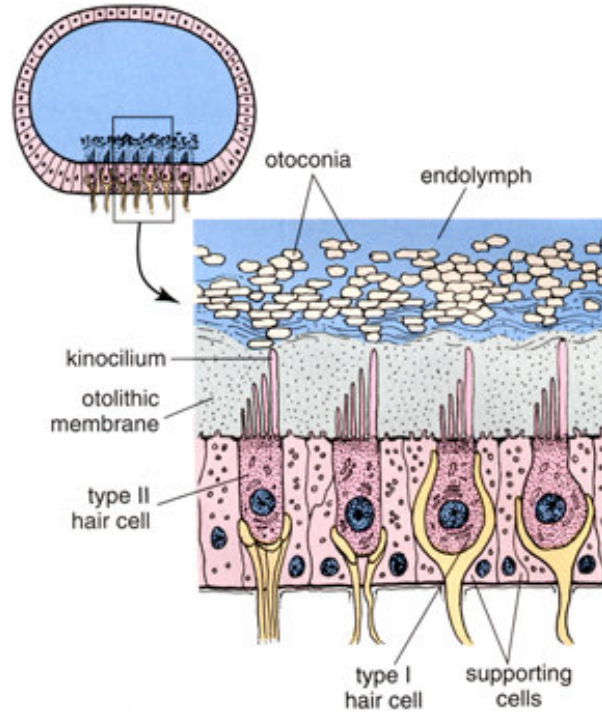
Şekil 4. Membranöz labirent

Vestibül iç duvarında önde resessus sferikus içinde sakkulus, üstte resessus eliptikus içinde utrikulus yerleşmiştir.

Utrikulus üzerinde semisirküler kanallara açılan delikler ve utrikulus-sakkulus bağlantısını sağlayan duktus utrikulosakkularisin deliği bulunur. Utrikulusun bir duvarında makula utrikuli denilen horizontal planda denge duyusunu alan spesifik hücreler bulunur.

Sakkulus üzerinde duktus utrikulosakkularis ve duktus koklearis ile bağlantısını sağlayan duktus reuniense ait delikler bulunur. Utrikulusa benzer şekilde makula sakkuli denilen, ancak vertikal planda denge duyusunu alan spesifik hücreler bulunur.

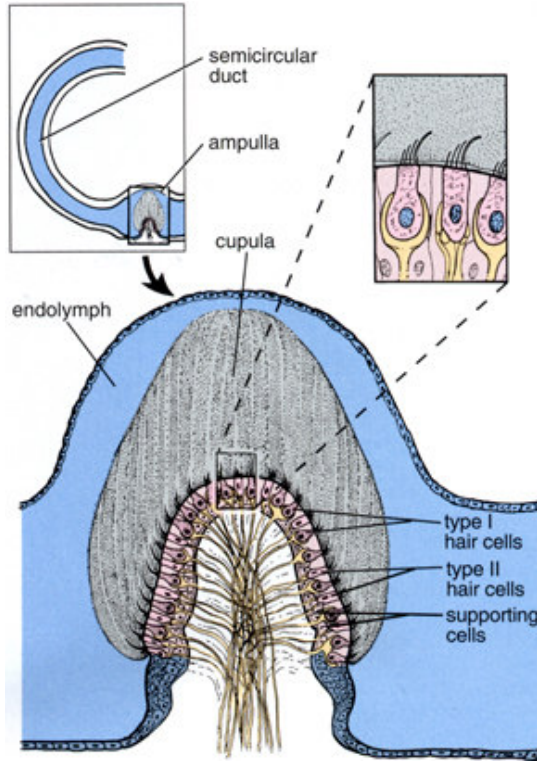
Makulalar, yerçekimine duyarlı nöroepitel hücreleri, destek hücreleri, kan damarları, sinir lifleri ve otolitik membrandan oluşur. Nöroepitel titrektüylü hücreler içerir. Bu hücreler üzerlerindeki otolitik membran içine gömülüdür. Otokoniler içeren otolitik membranın dansitesi çevredeki endolenften fazladır.



Şekil 5. Otolitik organlardaki makulanın morfolojisi

Membranöz semisirküler duktuslar: Superior (anterior), posterior ve lateral (horizontal) olmak üzere 3 tanedir. Aralarında dik açı yaptıkları kabul edilmektedir. Membranöz semisirküler duktuslar utrikulusa açılırlar. Şişkin

kısımları ampulla adını alır. Ampullada; krista, kupula, destek hücreleri, bağ dokusu, kan damarları ve sinir lifleri bulunur.



Şekil 6. Semisirküler kanallardaki ampullanın morfolojisi

Krista ampullaris, ampullanın uzun eksenine paraleldir ve mekanik hareketlere duyarlı titreşimli tüylü hücreler içerir. Hücrelerin titreşimli tüyleri kupulanın içine uzanır. Kupula, keratin bir ağ içinde yerleşmiş mukopolisakkarit bir kitledir. Kristadan başlayarak ampullanın tavanına kadar devam eder ve utrikulus ile semisirküler kanallar arasında sıvı geçişine izin vermez. Kupula ve çevresindeki endolenfin dansitesi aynıdır.

Endolenfatik duktus: Vestibüler akuaduktusun içinde bulunur. Duktus utrikulosakkularisten başlayarak vestibüler akuaduktus içinde ilerler ve serebellumun üzerini örten dura içerisinde bir kese şeklinde genişleyerek sonlanır (endolenfatik kese).

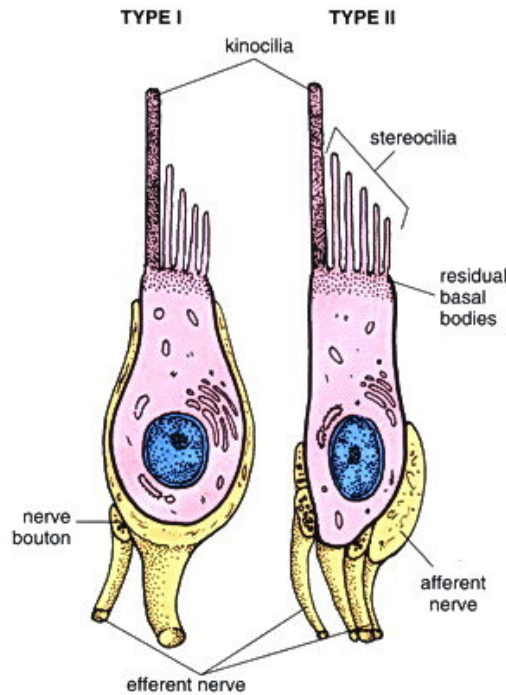
Membranöz labirentin içini dolduran endolenf, esas olarak stria vaskularisten, daha az oranda da vestibüler dark hücrelerden salgılanır.

Emilimi ve metabolizmasına dair 3 farklı teori ileri sürülmüştür: longitudinal, radyal ve kombine dolaşım teorileri (bakınız II.5.C. Patoloji ve Patofizyoloji).

Perilenfatik duktus: Koklear akuaduktusun içinde yer alır ve subaraknoid mesafe ile skala timpaniyi birleştirir. Perilenf sıvısı, büyük oranda kandan ve az miktarda beyin omurilik sıvısından süzülerek kemik labirentin içini doldurur. Membranöz labirent, perilenf sıvısı içinde yerleşir. Bu sıvının içeriği, ekstrasellüler sıvı içeriğine benzer, yani sodyum (Na^+) iyon konsantrasyonu yüksek, potasyum (K^+) iyon konsantrasyonu düşüktür.

Vestibüler Reseptör Organların Moleküler Anatomisi

Vestibüler sistemin duyuşal reseptörleri semisirküler kanalların kristalarında, utrikulus ve sakkulusun makulalarında yerleşmiştir. Başlıca 2 tip hücre vardır. Tip I hücreler yuvarlak, dar boyunlu kadeh şeklinde ve sinir kılıfı içeren hücrelerdir. Tip II hücreler silindirik yapıda olup sinir kılıfı içermez.

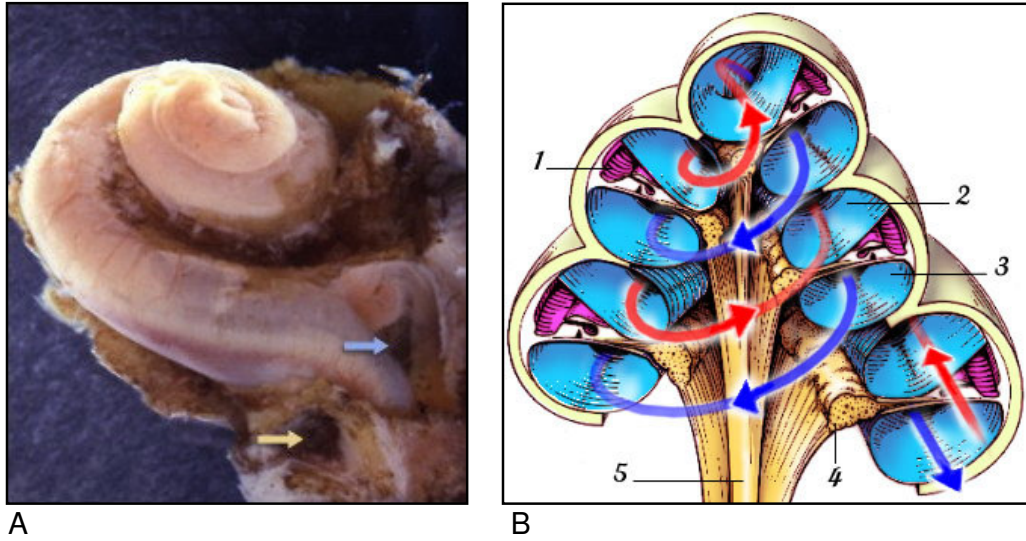


Şekil 7. Vestibüler reseptör hücreler

Morfolojik olarak Tip I hücreler kokleadaki iç tüylü hücrelere, Tip II hücreler ise dış tüylü hücrelere benzer. Hücrelerin tüyleri, ampullada bulunan mukus benzeri bir madde içinde (kupula) bulunur.

Hücrelerin üst kısmında bir kinosilium ve 50-110 arasında stereosilia bulunur. Kinosilium en uzun duyusal tüycüktür. Kinosiliumdan uzaklaştıkça stereosilioların boyu kısalır. Vestibüler duyusal hücrelerin sürekli bir polarizasyonu belli bir deşarj hızı vardır. Stereosilioların kinosiliuma doğru hareketleri hücrenin depolarizasyonuna ve afferent sinirdeki deşarj hızının artmasına neden olur.

Osseöz spiral laminadan koklear kanalın dış yüzüne diagonal olarak tek katlı hücrelerden oluşan bir membran uzanır. Buna vestibüler membran veya Reissner membranı denir.



Resim 2. 5 aylık insan fetüsüne ait koklea görüntüsü (kemik kapsül disseke edilmiştir; mavi ok oval pencereyi, sarı ok yuvarlak pencereyi işaret etmektedir) (A), mid-modiolar kesit alınmış koklea şeması (B). B: 1.duktus koklearis 2.skala vestibüli 3.skala timpani 4.modiolus içerisindeki spiral ganglion 5.koklear sinir lifleri

Yine spiral laminadan koklear kanalın dış yüzüne direkt olarak baziler membran denen bir yapı uzanır. Bu yapının üzerinde destek hücreleri ve

işitmenin duyuşal hücreleri yerleşmiştir. Bu iki membran arasında kalan yapı skala media (duktus koklearis) adını alır ve helikotremada kör olarak sonlanır. İçinde endolenf bulunur.

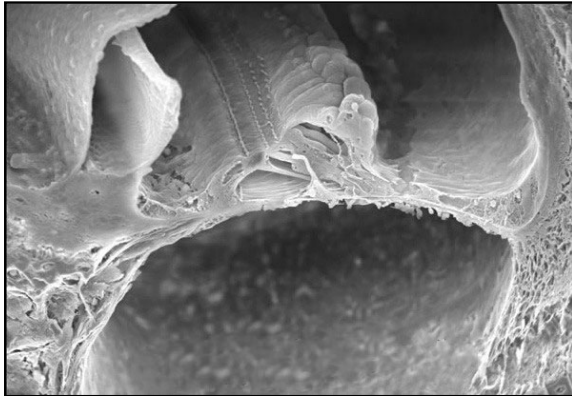
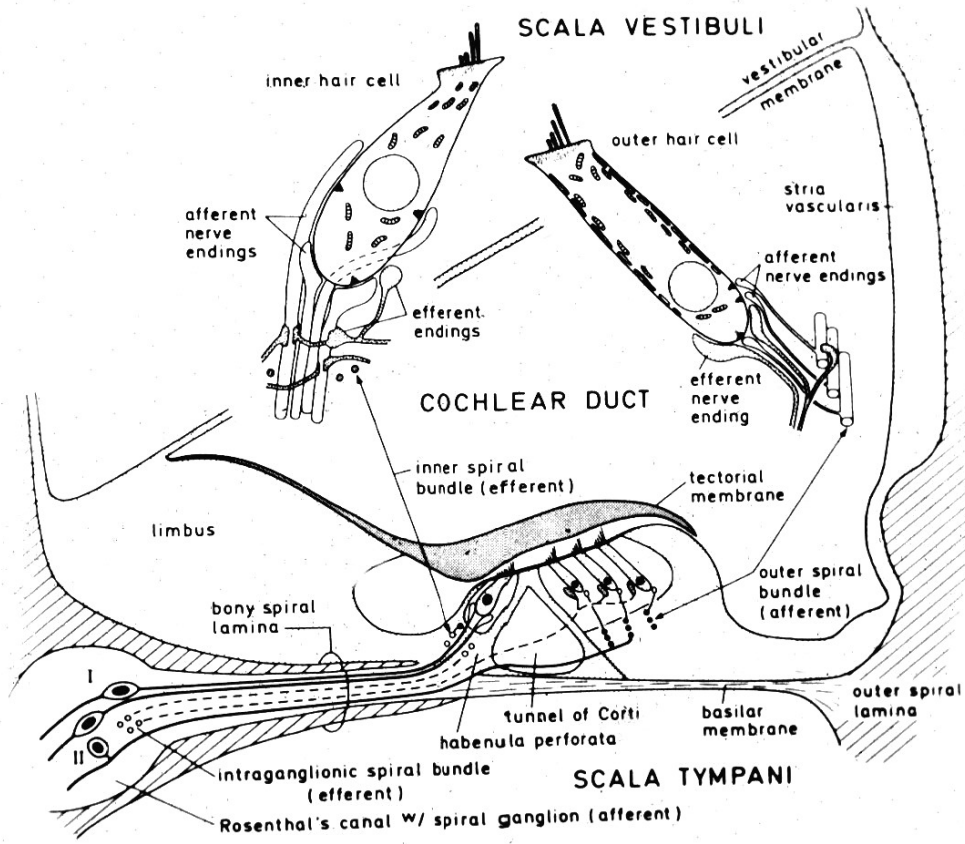
Reissner membranının üzerinde kalan kısım skala vestibüli olarak adlandırılır. Baziler membranın altında kalan kısım ise skala timpani adını alır. Her ikisi de perilenf içerir. Skala vestibüli ve skala timpani kokleanın apeksinde, helikotremada birleşir. Skala vestibüli fonksiyonel olarak orta kulak ile oval pencerede, skala timpani ise yuvarlak pencerede iletişim halindedir. Skala timpani, koklear akuaduktus ile subaraknoid mesafeye bağlanır. Skala timpaninin genişliğı yüksekliğinden fazladır. Yuvarlak pencereden uzaklaştıkça çapı giderek daralır.

Duktus koklearis dış duvarında birkaç sıra bağ dokusu bulunur. Bu bölgenin vaskülarizasyonu çok zengindir. Buraya stria vaskülaris denir. Endolenf üretiminde ve içeriğinin kontrolünde rol oynar. Bu bölgenin skala media lateral duvarında oluşturduğı kabarıklığa prominensia spiralis denir.

İç kulağın arteriyel kanlanması baziler arterin labirentin arter dalı ve posterior auriküler arterin stilomastoid arter dalı ile sağlanır. Venöz drenaj aynı isimli venler ile superior petröz sinüse ve internal juguler vene olur.

İşitsel Reseptör Organların Moleküler Anatomisi

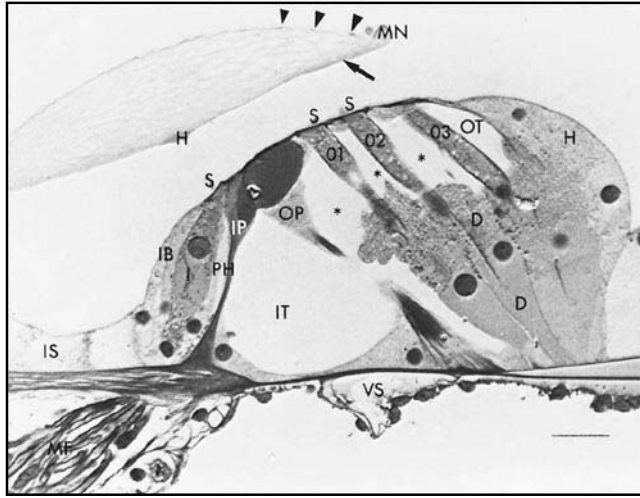
Korti organı, baziler membranın iç kenarında dizilmiş nöroepitelial yapıları içerir. İnsanda koklea içerisindeki toplam uzunluğı yaklaşık 35 mm civarındadır. Genişliğı bazalden apekse giderek artar. 2 tip tüylü hücre görülür; iç ve dış tüylü hücreler. Dış tüylü hücrelerin etrafını saran geniş bir ekstrasellüler boşluk (Nuel boşluğu) ve dış tüylü hücreler ile iç tüylü hücreler arasında tünel biçiminde bir boşluk (Korti tüneli) bulunur. Bu boşluklar destek hücrelerinin özelleşmesi ile meydana gelir. Boşlukların içerisinde perilenf bulunur.



Resim 3. Korti organı şematik (üstte) ve taramalı elektron mikroskopik görüntüsü (yanda; tectorial membran kaldırılmış durumda).

İç tüylü hücreler basık ve bülböz yapıdadır. Genelde tek sıra halinde yerleşirler. Bu hücrelerin tüycükleri yaklaşık olarak düz bir hat veya geniş bir "U" şeklinde dizilirler. Tüycükler tectorial membran ile temas etmez. Her hücrenin tüyleri, apeksleri modiolustan uzakta yerleşmiş, 2 sıralı ve çift "V" şeklinde düzenlenmiş 120 stereosilia içerir.

Dış tüylü hücreler silindirik yapıda olup, nükleusları bazal yerleşim gösterir. 3-4 sıra halinde bulunurlar. Tüycükleri karakteristik olarak “W” şeklinde izlenir ve tektorial membran ile temas halindedir. Tüycükleri 3 sıralı 46-148 adet stereosiliadan oluşur. Dış tüylü hücrelerin uzunlukları koklea bazalinden apekse doğru giderek artar. Stereosilialarında da benzer bir artış olur.



Resim 4. Korti organı

IS.iç sulkus hücreleri IB.iç sınır hücresi I.iç tüylü hücre PH.parmaksı hücre IP.iç pillar hücre S.stereosilialar IT.iç tünel (Korti tüneli) OP.dış pillar hücre O1,O2,O3.dış tüylü hücreler D.Deiters hücreleri OT.dış tünel H.Hensen hücresi Nuel boşlukları (*), tektorial membran (ok)

Tüylü hücreler farklı inervasyon paternleri gösterir. İç tüylü hücreler hemen tamamen afferent sinirler ile inerve olurlar ve kokleadan beyine giden toplam yaklaşık 30.000 afferent sinir lifinin %90-95'i iç tüylü hücrelerden kaynaklanır. Bunlar Tip I nöron olarak adlandırılır. Her bir iç tüylü hücre ile sinaps yapan 15-20 adet Tip I nöron vardır. İç tüylü hücre bölgesine gelen efferent sinir lifleri ipsilateral orta beyindeki superior olivary kompleksin lateralinden kaynaklanır ve tüylü hücrenin kendisi ile değil, hücrenin alt seviyesindeki afferent lifler ile temas eder. Bu efferent lifler Korti organına gelen efferent inervasyonun sadece %20'sini oluşturur.

Buna karşılık dış tüylü hücreler direkt olarak, birkaç tane geniş sonlanma gösteren efferent lifler ile inerve edilir. Kokleanın efferent inervasyonunun %80'i dış tüylü hücrelerde sonlanır. Bu efferent lifler esas olarak kontrlatel superior olivary kompleksin medial kısmından kaynaklanır.

Dış tüylü hücelere gelen afferent lifler total koklear afferent inervasyonun %5-10'unu yapar ve Korti organı içinde belirgin şekilde dallara ayrılırlar. Bunlara Tip II nöron adı verilir. Böylece tek bir nöron birden fazla dış tüylü hücre ile sinaps yapar.

Tüylü hücreler birbirinden destek hücreleri ile ayrılır. Morfolojik olarak farklı birkaç destek hücresi bulunur. Dış tüylü hücreler arasındaki Deiters hücreleri birbirileri ile temas eden hücre gövdelerine sahiptir ve baziler membran üzerinde yerleşir. Her biri, bir dış tüylü hücreyi ve buna bağlı sinir ucunun tabanını fincan şeklinde sarar. İnce parmaklı çıkıntılar Nuel boşluğuna doğru uzanır.

Dış ve iç tüylü hücreler, dış ve iç pillar hücreleri ile ayrılır. Bu hücrelerin parmaklı çıkıntıları Korti tüneline oluşturur. İç tüylü hücrenin kendisi destek hücreleri tarafından yakın bir şekilde çevrelenir.

Dış tüylü hücrelerin daha dışında yer alan hücelere Hensen hücreleri denir. Bunlar özellikle Korti organının daha apikal kısımlarında izlenir.

Baziler membran, Korti organının üzerinde bulunduğu yapıdır. Bir ara madde içinde flamanlardan oluşmuş, ağırlıklı olarak ekstrasellüler matriks yapısında bir tabakadan meydana gelir. Ayrıca skala timpaninin perilenfine bakan alt tarafında, devamlılık göstermeyen, ince, uzamış timpanik sinir hücreleri tabakası içerir.

Tektorial membran, Korti organının üzerine uzanan ekstrasellüler matriks yapısında bir yapıdır. Koklear sarmalın iç kenarında spiral limbusun interdental hücrelerine yapışıktır.

Stria vaskülaris, skala medianın lateral duvarını döşer. Kompleks bir kapiller ağ ve 3 tip hücre içerir.

Endolenfatik kompartımanı döşeyen marjinal hücreler, K^+ transportuna katılırlar. Çok sayıda Na^+/K^+ ATPaz içeren büyük mitokondrileri vardır.

Epitel içinde kapalı kalmış aralıklı dizilim gösteren intermediate hücreler, aslında melanosittir. Strianın gövdesi içinde yer alırlar ve diğer 2 hücre tipi ile temastadırlar. Lipid gibi alternatif substratlardan enerji yapımında rol oynayarak stres altında stria vaskülarisin korunmasını sağlarlar.

Stria vaskularisi alttaki spiral ligamandan ayıran bazal hücreler, strianın bazal kısmını sınırlayan, 1-3 tabaka halinde dizilen hücrelerdir. Bazal hücreler birbirilerine sıkıca bağlıdır ve aralarında çok sayıda gap bağlantıları vardır. Bu bağlantılar hücreden hücreye iletişimi sağlar.

2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Atmosferdeki ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanmasından beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar olan süreç işitme olarak adlandırılır ve işitme sistemi tarafından gerçekleştirilir. İşitme ardışık birkaç fazda meydana gelir.

İletim (kondüksiyon) fazı; atmosferdeki ses dalgalarının Korti organına iletiildiği fazdır. Mekanik bir olaydır ve sesin kendi enerjisi ile sağlanır.

Dönüşüm (transdüksiyon) fazı; Korti organında ses dalgasının mekanik enerjisinin, biyokimyasal olarak elektriksel potansiyellere dönüştürülmesidir.

Nöral kodlama; iç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriksel potansiyellerin, kendi şiddet ve frekansına spesifik sinir liflerine aktarılmasıdır. Böylece ses, şiddet ve frekansına göre Korti organında kodlanmış olur.

Analiz ve algılama fazı; tek tek gelen sinir impulslarının işitme merkezinde birleştirilmesi, analiz edilmesi ve sonuçta sesin karakterinin ve anlamının algılanmasıdır.

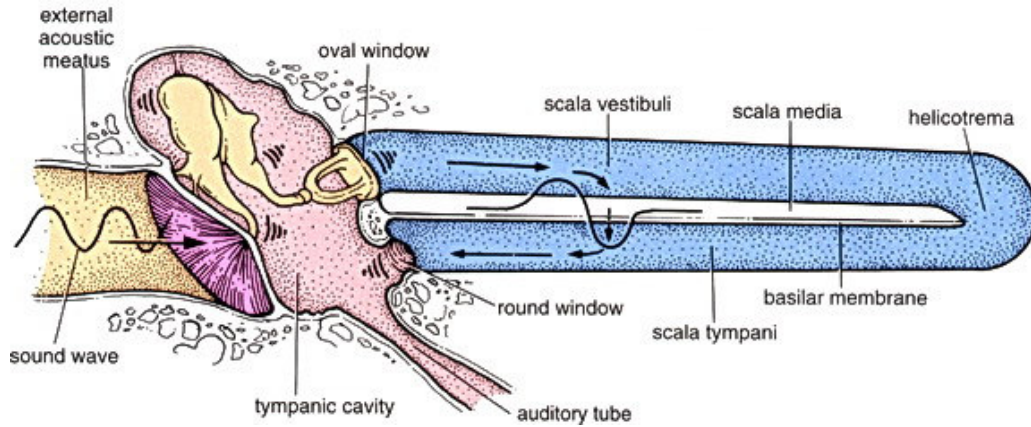
A. İLETİM (KONDÜKSİYON) FAZI

Dış ortamdan gelen ses dalgalarının karşılaştığı ilk organ kulak aurikuladır. Aurikula, yaklaşık 135°'lik bir yay içindeki sesleri toplar ve dış kulak yoluna yönlendirir. Bu şekilde ses dalgalarının şiddetinde yaklaşık 6 dB'lik bir artış olduğu hesaplanmıştır.

Dış kulak yolunun görevi sadece ses dalgalarını timpanik membrana iletmek değildir. Bir ucu kapalı silindirik yapısı sayesinde dış kulak yolu bir rezonatör olarak fonksiyon görür ve ses dalgalarını amplifiye ederek timpanik membrana iletir. 1000-8000 Hz frekans aralığında olan bu amplifikasyon, dış

kulak yolunun rezonans aralığı olan 3500-4000 Hz aralığında en fazladır ve 15-20 dB'e ulaşır.

Orta kulağa gelen ses titreşimleri 2 yolla iç kulağa geçer. Timpanik membran ve kemikçik sisteminin titreşimleri oval pencereden skala vestibülideki perilenfe iletilir. Diğer yandan orta kulaktaki hava moleküllerinde meydana gelen titreşimler yuvarlak pencere ile skala timpanideki perilenfe aktarılır. Titreşimlerin baziler membrana geçebilmesi için bu membranın her iki tarafında birer pencere bulunmalıdır. Örneğin, stapes tabanı skala vestibülideki perilenfe doğru hareket ettiği zaman, perilenfe hareket olanağı sağlayan ikinci bir pencere gereklidir. Böylece yuvarlak pencere membranı orta kulağa doğru kabarıp. Bu olayın gerçekleşebilmesi için yuvarlak ve oval pencereye gelen ses dalgaları arasında faz farkı meydana gelmelidir (dezafaj). Bunu sağlayan birkaç faktör vardır. Yuvarlak pencere düzleminin oval pencere düzlemine dik olması, oval pencereye gelen titreşimlerin güçlendirilerek ve daha hızlı ulaşması sayesinde gerekli dezafaj sağlanır.



Şekil 8. Dış kulak kanalına gelen ses dalgalarının iç kulağa ve baziler membrana iletilmesi

Kemikçik zincirin görevi

Atmosferde, yani gaz ortamda yayılarak timpanik membrana ulaşan ses dalgaları iç kulaktaki sıvı ortama (perilenf) geçerken belli oranda enerji

kaybına uğramaktadır. Ses dalgalarının enerjisinin ne kadarının perilenfe geçeceği formülle hesaplanabilir:

$$T = 4 r / (r - 1)^2$$

T: geçen enerji miktarı

r: iki ortamın akustik rezistansları arasındaki oran

Perilenfin akustik rezistansı su ile aynıdır = 160000

Havanın akustik rezistansı = 42

$$r = 160000 / 42 = 3800$$

$$T = 4 \times 3800 / (3800 - 1)^2$$

$$T = 0.001$$

Yani havadan gelen ses dalgaları ancak 1/1000 oranında perilenfe geçebilir. Logaritmik hesaba göre bu kaybın desibel cinsinden değeri 30 dB'dir. Böylece ses dalgaları ortam değiştirirken, hava ve perilenf arasındaki akustik rezistans farkından dolayı 30 dB'lik enerji kaybına uğrar. Timpanik membran ve kemikçiklerin en önemli görevi meydana gelen bu enerji kaybını telafi etmektir. Bunun gerçekleşmesini sağlayan 3 mekanizma ortaya atılmıştır:

Catenary lever; timpanik membranın tahterevalli benzeri yükseltici etkisini ifade eder. Timpanik membranın titreşim bakımından sabit iki bölgesi vardır: kemik anulus ve manubrium mallei. Bu bölgelerin arasında kalan kısım titreşir ve ses enerjisi, fibröz tabakadaki elastik lifler yardımı ile kısmen hareketli manubriuma büyüterek geçerken enerji 2 misline çıkar.

Ossiküler lever; kemikçik sistemin manivela benzeri yükseltici etkisini ifade eder. Son yıllarda kabul edilen görüşe göre inkudomallear eklem bir diartrozdur, yani iki kemikçik tek ünite halinde hareket eder. Bu kemik bloğun rotasyon aksı anterior malleolar ligaman ile posterior inkudal ligamanı birleştiren doğrudur. Sistemin yükseltici etkisi, umbonun rotasyon aksına olan uzaklığının ile inkusun uzun koluna olan oranından kaynaklanır ve 1.3/1 olarak hesaplanır.

Hidrolik lever; ses enerjisinin amplifikasyon mekanizmalarının en önemlisidir ve timpanik membran ile stapes tabanı arasındaki yüzey farkından kaynaklanır. Ses enerjisi timpanik membrandan, kendisine göre çok daha küçük bir yüzeye sahip stapes tabanına geçer 2 yüzeyin oranı ölçüsünde şiddetlenir. Oran farklı araştırmacılar tarafından 17-21 arasında hesaplanmıştır.

Sonuçta, timpanik membran ve kemikçik sistemin total yükseltici etkisi değişik araştırmacılar tarafından 22-52 kat arasında kabul edilmiştir. Bu da logaritmik olarak 26-34 dB değerlerini ifade etmektedir. Böylece ses dalgalarının havadan perilenfe geçişi sırasında meydana gelen 30 dB'lik enerji kaybı telafi edilmiş olur.

B. DÖNÜŞÜM (TRANSDÜKSİYON) FAZI

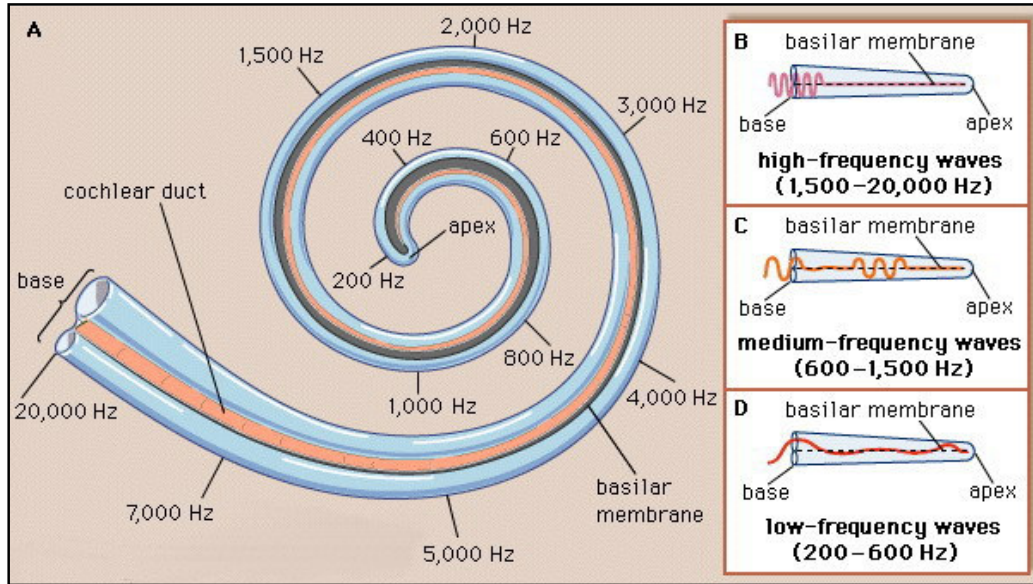
Ses dalgalarının perilenfe iletilmesi ile baziler membranda titreşimler meydana gelir. Titreşimler bazalden başlayarak apekse doğru ilerler. Bekesy bu harekete ilerleyen dalga ("travelling wave") adını vermiştir.

Baziler membranın genişliği apekse yaklaştıkça artar, gerginliği ise azalır. Bu farklılık nedeni ile ses dalgası, bazal turdan apikal tura kadar ilerleyen dalga ile iletilir. Yine bu farklılık sayesinde baziler membran her frekans için ayrı bir maksimum titreşim bölgesine sahiptir. En çok titreşen bölgedeki amplitüd ses şiddeti ile orantılıdır.

Baziler membranın hareketi ile Korti organında ses dalgasının mekanik enerjisi, biyokimyasal olarak elektriksel potansiyellere dönüştürülür (transdüksiyon). Bu dönüşümde dış ve iç tüylü hücreler rol alır. Bu hücreler önemli farklılıklar gösterir (bakınız II.1.C.c. İşitsel Reseptör Organların Moleküler Anatomisi).

Orta kulaktaki lineer özelliklerin aksine baziler membrandaki titreşim paterni nonlineerdir ve titreşim tüylerinin hareketleri ile ilişkilidir. Titreşim amplitüdü özellikle dış tüylü hücrelerin hareket amplitüdü ile doğru orantılıdır.

Her titreşim tütün titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır. Buna o titreşim tütün karakteristik frekansı denir.



Şekil 9. Baziler membranın frekansa spesifik titreşim paterni

Transdüksiyonda titreşim tütün-stereosilia kompleksinin rolü vardır. Stereosilioların tepelerinde, stereosilianın hareket yönüne göre açılan veya kapanan iyon kanalları bulunur. Kanalların açılması ile hücre içerisine K^+ akımı meydana gelir ve depolarizasyona neden olur. Böylece baziler membran hareketleri elektriksel potansiyellere dönüşmüş olur.

C. NÖRAL KODLAMA (İŞİTME SINIRININ FİZYOLOJİSİ)

Titreşim tüylü hücrelerde meydana gelen elektriksel potansiyellerin, kendi şiddet ve frekansına spesifik sinir liflerine aktarılmasıdır.

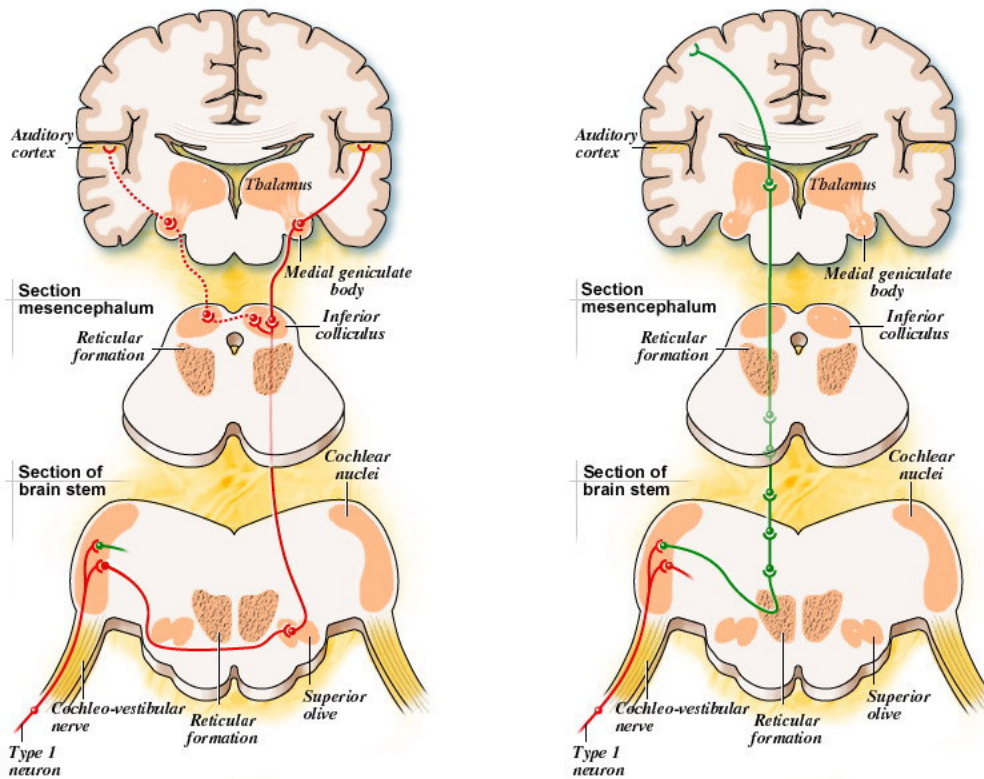
İşitme siniri yaklaşık 30.000 liften oluşur. Nöronlar spiral ganglionda bulunur. Dentritleri titreşim tüylü hücrelere, aksonları ise koklear nukleuslara uzanır. Titreşim tüylü hücrelerde olduğu gibi her bir sinir lifinin duyarlı olduğu bir

frekans vardır. Buna o sinir lifinin karakteristik frekansı denir. Sinir lifinin en düşük ses şiddeti ile uyarılabildiği frekanstır.

Böylece Korti organında ses, şiddet ve frekansına göre spesifik sinir liflerine aktararak kodlanmış olur.

D. ANALİZ VE ALGILAMA FAZI (SANTRAL İŞİTME SİSTEMİNİN FİZYOLOJİSİ)

Spiral gangliondaki nöronların aksonları koklear nukleuslarda sonlanır. Koklear nukleustan çıkan liflerin çoğu beyin sapında çaprazlaşarak kontrlatéral superior olivary komplekse, az miktarda lif ise ipsilateral superior olivary komplekse ulaşır. Superior olivary kompleks, yükselen işitme sisteminin ilk merkezi olarak kabul edilir ve ponsta yer alır.



Şekil 10. Santral işitme yolları

Superior olivary kompleks üstündeki işitsel nukleuslar her iki kulaktan eksitasyon ve inhibisyon yapan lifler alır. Superior olivary kompleks, lateral lemniskus ve inferior kollikulusa asendan lifler gönderir.

Lateral lemniskus en önemli asendan yoldur. Beyin sapının yanlarında bulunur. Koklear nukleusları ve superior olivary kompleksi inferior kollikulusa bağlar.

İnferior kollikulus iki taraflıdır ve mezensefalonda bulunur. Alt beyin sapından gelenleri üst kısımdaki medial genikulat cisme ve işitme korteksine gönderir.

Medial genikulat cisim talamusta bulunur. İnferior kollikulus ile işitme korteksi arasında ara istasyondur.

İşitme korteksi temporal lobun üst kısmında yerleşmiştir. Bu bölge "Brodmann sahası" adını alır ve 41. ve 42. alanlar olarak numaralandırılır.

3. VESTİBÜLER FİZYOLOJİ

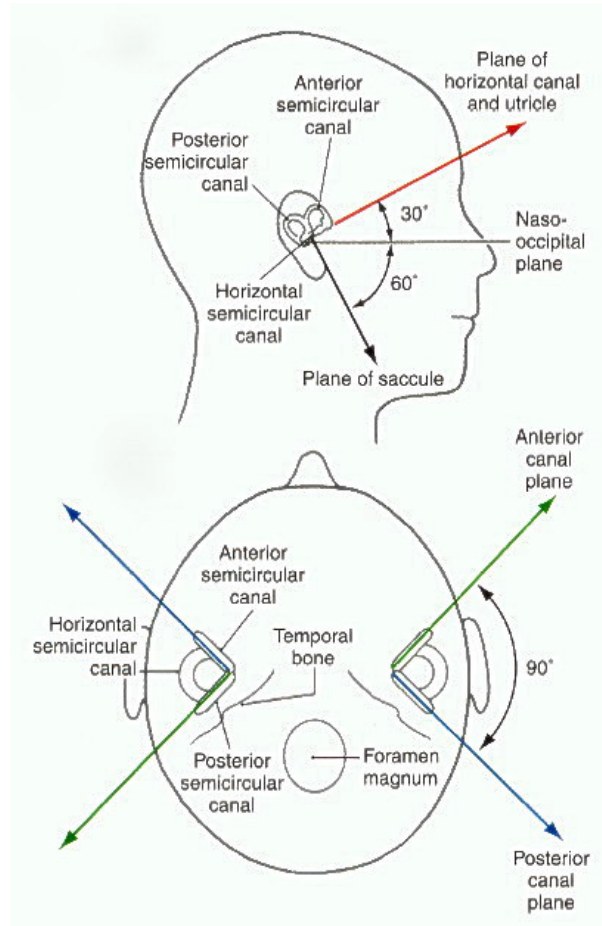
Vestibüler sistem, vücudun dengesinin sağlanmasında önemli rol alır. Vizüel, proprioseptif ve vestibüler duyular, kişinin dengesinin sağlanmasında birlikte fonksiyon görür. Bu duyuların doğru çalışmasının yanı sıra bunların santral sinir sisteminde doğru olarak işlenmesi gerekir.

Dengeyi sağlayan vestibüler sistemin iki ana görevi vardır:

1. Vücudun dik durmasını sağlamak
2. Devamlı ve net bir görüş sağlayarak kafanın, vücudun veya çevrenin hareketine rağmen görsel fiksasyonu sağlamak

Vestibüler sistem, periferik vestibüler organlar, vestibüler sinir ve vestibüler çekirdeklerden oluşur.

Semisirküler kanallar ve otolitik organlar (utrikulus ve sakkulus)

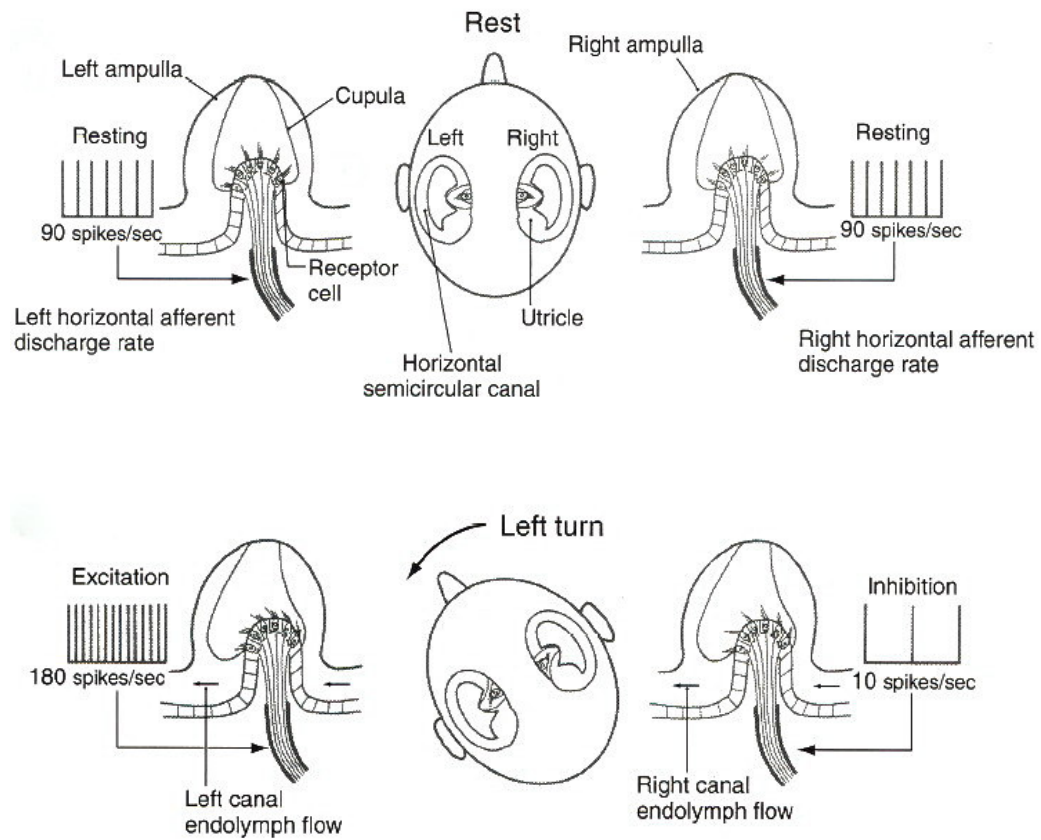


periferik vestibüler organlardır.

Semisirküler kanallar açılmalı ivmelenmeleri algılamaktadır ve üç tanedir. Her biri farklı ekseninde yerleşen kanalların aralarında dik açı yaptıkları kabul edilir. Her iki kulaktaki semisirküler kanallar, fonksiyonel açıdan çift oluşturur. Horizontal kanallar aralarında eşleşirken, bir taraftaki anterior kanal diğer taraftaki posterior kanal ile eşleşir.

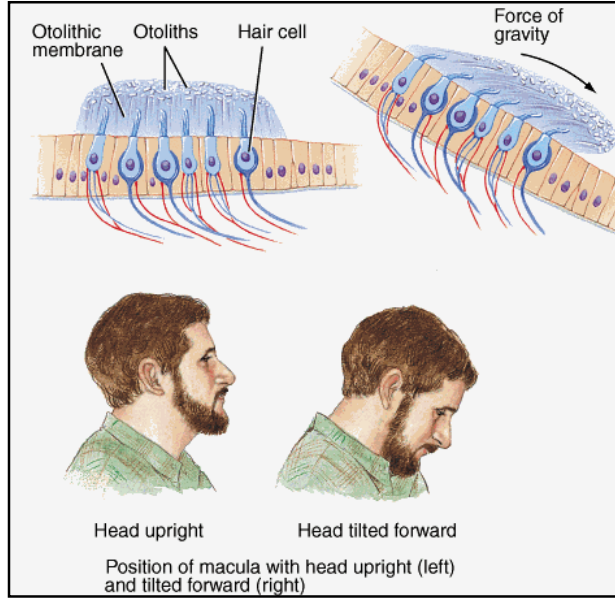
Şekil 11. Semisirküler kanalların ve otolitik organların pozisyonları

Kupulada bulunan titretilmiş hücreler istirahat halinde belli bir potansiyele sahiptir. Bu hücrelerde vestibüler sinire iletilen spontan deşarjlar meydana gelir. İstirahat halinde fonksiyonel çift oluşturan kanallardan gelen deşarjların frekansı eşittir. Başın bir tarafa çevrilmesi, endolenfin ters yönde hareketine ve içerisinde bulunan aynı dansitedeki kupulanın hareket yönünün tersine eğilmesine neden olur. Horizontal kanallarda kupulanın utrikulusa doğru (utrikulopedal) hareketi reseptör hücrelerin deşarj frekansının artmasına, anterior ve posterior kanallarda ise azalmasına neden olur. Kupulanın utrikulustan uzaklaşma (utrikulofugal) hareketi ters etki oluşturur. Böylece fonksiyonel çift oluşturan kanallardan gelen impulslar arasında fark meydana gelir.



Şekil 12. Horizontal semisirküler kanallardan kaynaklanan impulsların başın sola hareketi ile değişmesi.

Otolitik organların makulasında bulunan otolitik membranın dansitesi çevresindeki endolenften fazladır. Bu nedenle yer çekimine karşı yapılan baş hareketlerinin başlangıcındaki lineer ivmelenmeden etkilenmektedir. Utrikulusun makulası horizontal planda, sakkulusun makulası vertikal planda bulunur. Bu nedenle utrikulus horizontal düzlemdeki hareketleri algılamakta, sakkulus vertikal düzlemdeki hareketleri algılar. Baş hareketi sabit bir hıza ulaştıktan sonra otolitik membran istirahat pozisyonuna döner.



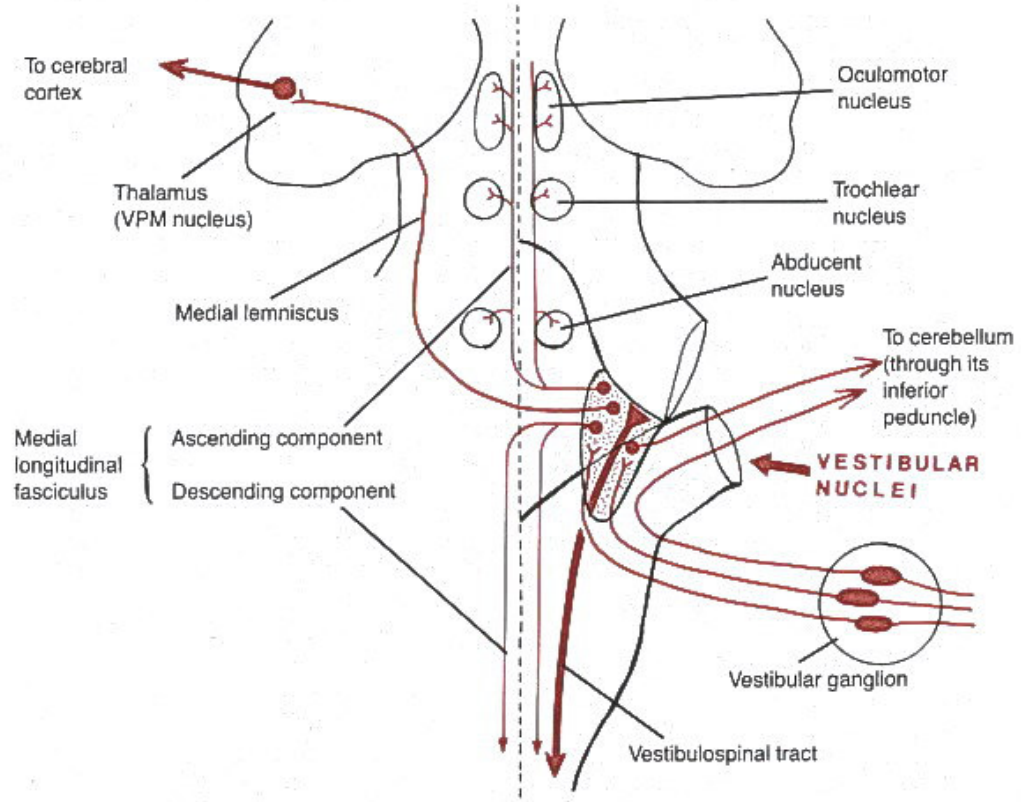
sakkulus vertikal düzlemdeki hareketleri algılar. Baş hareketi sabit bir hıza ulaştıktan sonra otolitik membran istirahat pozisyonuna döner.

Şekil 13. Baş hareketlerinin otolitik organ makulasına etkisi

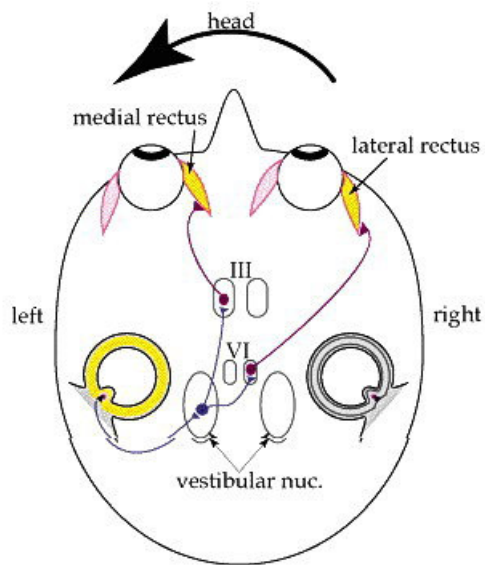
Semisirküler kanallardan ve otolitik organlardan kaynaklanan impulslar vestibüler sinirler ile vestibüler çekirdeklere iletilir. Vestibüler sinirin ganglionu iç kulak kanalının dibinde yerleşir. Vestibüler çekirdeklere gelen impulslar diğer sistemlerden gelen impulslarla birleşir. Santral sinir sisteminde tüm impulsların işlenmesi sonrasında meydana gelen vestibülo-oküler ve vestibülo-spinal refleksler ile görsel fiksasyon ve postür kontrolü sağlanmış olur.

Vestibülo-oküler refleks, baş hareketleri sırasında görsel fiksasyonu sağlar. Bu amaçla gözler, retinadaki imajı sabitleyebilmek için, başın aksi yönünde ve aynı hızla hareket eder. Örneğin baş sola döndüğünde sol horizontal semisirküler kanaldan kaynaklanan impulsların sıklığı artarken, sağ horizontal semisirküler kanaldan kaynaklanan impulslar azalır. Bunun sonucunda sağ lateral rektus kasını inerve eden sağ abduzens siniri ve sol

medial rektus kasını inerve eden sol okülomotor sinir uyarılır ve gözler sağa döner. Böylece görüntünün devamlılığı sağlanır.



Şekil 14. Santral vestibüler bağlantılar



Şekil 15. Vestibülo-oküler refleksi arka

4. GUİNEA PİG



Alem: *Animalia*
Şube: *Kordata*
Sınıf: *Mammalia*
Takım: *Rodentia*
Familya: *Caviidae*
Cins: *Cavia*
Tür: *Cavia porcellus*

Resim 5. Guinea pig

A. GENEL BİLGİLER

Guinea pig veya bilinen adıyla kobayların anavatanı Güney Amerika kıtasıdır. Dağlık arazilerden çimenlik alanlara kadar farklı bölgelerde, toplu olarak, yuvalarda yaşayan hayvanlardır. Farklı soyların renk kombinasyonu ve tüylerinin uzunluğu farklıdır. Otçul olan kobaylar değişik bitki türleri ile beslenir.

Güney Amerika ülkelerinde gıda maddesi olarak tüketilen ve geçmişte İnka'lar tarafından bazı dinsel törenlerde kullanılan kobaylar, 1500'lü yıllarda İspanyol ve Portekiz'li denizciler tarafından Avrupa'ya getirilmiştir. Önceleri sadece evcil hayvan olarak beslenen kobaylar, 1780'li yıllardan beri laboratuar araştırmalarında kullanılmaktadır.

Doğduğunda 60-100 gr olan kobayların vücut ağırlığı yetişkin dişilerde 700-900, yetişkin erkeklerde 900-1200 grama ulaşmaktadır. Ortalama ömürleri 4-8 yıldır.

Kobayların günlük gıda alımı yaklaşık 6 gr/100 gr, günlük su alımı yaklaşık 10 ml/100 gramdır. Glukozdan askorbik asit (C vitamini) sentezi için gerekli mikrozomal enzimleri olmayan kobayların günlük diyetinde C vitamini mutlaka bulunmalıdır. Günlük ortalama ihtiyaç 15 mg'dır. Özel olarak üretilen ticari yemlerde gerekli oranda C vitamini mevcuttur ve ek gıdaya gerek yoktur. Vitamin takviyesi amacıyla yeşil sebzeler, taze ot, havuç, elma, karpuz kabuğu gibi besinler verilebilir veya içme suyuna günlük olarak C vitamini tabletleri karıştırılabilir. Su bol miktarda verilmelidir ve günde 2-3 kez değiştirilmelidir.

B. GUİNEA PİG'LERİN TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ

Guinea pig'lerin temporal kemiği kafatasının posteroinferiorunda bulunur. 4 bölümden oluşur; skuamöz, petröz, timpanik ve mastoid parçalar. Bu parçalar arasındaki sınırlar belirgin değildir.

Timpanik parça, oksipital ve sfenoid kemikler ile eklem yaparken petröz parça da sfenoid kemiğin bazal parçası ile eklem yapar. Mastoid parça, mastoid proses aracılığı ile oksipital kemiğe bağlanır. Skuamöz parça, timpanik ve mastoid parçaların dorsalinde ve posteriorunda yer alır; parietal, frontal, palatin ve etmoid kemiklerle eklem yapar.

Timpanik parça 3 farklı kısımdan oluşur; timpanik halka, timpanik (ventral) bulla ve dorsal bulla (22). Timpanik halka, dış kulak yolunun duvarlarını oluşturur. Ventral timpanik bulla, kobay temporal kemiğinin hava

boşluğunu sınırlar; yarımküre biçimindedir ve medial duvarı hariç duvarları ince, düzgün kemikten oluşur. Timpanik halkanın üzerinde, skuamöz ve mastoid parçaların sınırında, dorsal timpanik bulla adını alan ikinci bir havalı boşluk vardır. Ventral – dorsal bullalar arasındaki oran 5:1'dir.

Timpanik membran çok incedir, fibröz tabaka içermez ve bullanın lateral duvarının oluşturduğu bir oluk içerisinde yerleşir. Timpanik sulkus ve membranın çapı, timpanik halkanın çapından geniştir (22-24).

Timpanik bullanın (ventral) içerisindeki en göze çarpan yapı koklea'dır. Koklea, timpanik kavitenin medial duvarından yükselir ve kavitenin içerisine uzanır. Uzun ekseni posterior, medial ve inferiordan anteriora, laterale ve superiora doğrudur (22). Bullanın inferomedial duvarından kokleanın orta kıvrımına uzanan ince kemik bir lamina kokleanın fiksasyonuna katkı sağlar (22).

İç kulak; koklea, vestibül ve semisirküler kanallardan oluşur. Koklea, ince kemik bir lamina tarafından çevrelenir ve timpanik kavite içerisine doğru uzanır (22,23). Kokleanın iç iskeleti spiral lamina ve modiolustan oluşur. Kokleanın kıvrım sayısı farklı araştırmacılar tarafından farklı olarak hesaplanmıştır: 3.25 (Göksu ve ark), 3.5 (Kayhan ve Algun), 3.5-3.75 (Wysocki), 4.25 (Şehitoğlu ve ark), 4 veya daha fazla (Counter ve ark) (22-26). Kokleanın iç yapısı insaninkine benzerdir. Yuvarlak pencere horizontal planda uzanır ve oval pencere planına diktir. Semisirküler kanallar timpanik kaviteye doğru kabarıklık oluşturur ve bu sayede tanınabilir.

Sonuç olarak, timpanik kaviteye veya iç kulak yapılarına hızlı bir şekilde ulaşılmasını sağlayan guinea pig temporal kemiği deneysel araştırmalar için uygundur. Birçok yönden insan temporal kemiğine benzemekle birlikte, bazı önemli farklılıklar mevcuttur:

- ✓ Timpanik membranın ve halkanın boyutları, temporal kemiğin boyutlarına oranlandığında, insandakilerden daha büyüktür. Timpanik membranda pars flaksida yoktur (22-24).
- ✓ Guinea piglerde, insanlarda hayatın ilk 2 yılında bulunan foramen Huschke'nin benzeri bir delik mevcuttur (22,23).

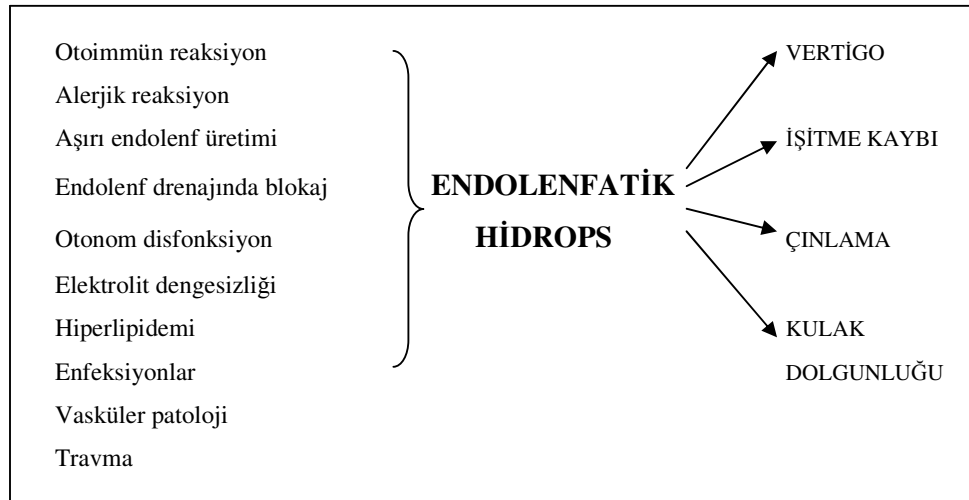
- ✓ Havalı hücre sistemi daha basittir ve kabaca 4 ana hücreye bölünür (23).
- ✓ Bulla olarak adlandırılan çok büyük bir hipotimpanum vardır (22,23,25,27).
- ✓ Orta kulak kemikçikleri 2 tanedir: malleoinkudal kompleks ve stapes (22,23,25,27).
- ✓ İnsan embriyosundakine benzer şekilde stapes tabanında krista stapedis mevcuttur (22,23).
- ✓ Koklea bulla içerisine projekte olur.
- ✓ Östaki tüpünün tamamı kıkırdaktan oluşur.
- ✓ Fasial sinirin temporal kemikten çıkış deliği, timpanik halka ve mastoid prosesin arasında ve posterosuperiorda yer alır.
- ✓ İnsan kokleası 2.5 kıvrımdan oluşurken, guinea pig kokleası farklı otörlere göre 3.25-4.25 kıvrımdan meydana gelir (22-25).
- ✓ Guinea piglerde internal akustik meatus bulunmamaktadır (22,23).

4. MENİERE HASTALIĞI

A. TANIM VE TARİHÇE

Meniere hastalığı, semptomatik idiyopatik endolenfatik hidrops olarak isimlendirilebilir. Altta yatan patofizyoloji endolenfatik hidropstur ve kesin olarak ancak temporal kemiğin postmortem histopatolojik incelenmesi ile ortaya konabilir (28).

Endolenfatik hidrops, membranöz labirentin patolojik bir durumudur ve çok sayıda nedene bağlı olarak ortaya çıkabilir (Şekil 1) (29). Olguların yaklaşık %50-70'inde neden saptanamaz ve bu olgular idiyopatik endolenfatik hidrops, diğer adıyla Meniere hastalığı adını alır (30). Hidrops nedeninin belli olduğu olgular ise sekonder endolenfatik hidrops veya Meniere sendromu olarak isimlendirilir.



Şekil 16. Endolenfatik hidropsun nedenleri ve semptomları (29).

Endolenfatik hidropsun başlıca semptomları rekürren, spontan, epizodik vertigo atakları, fluktuan işitme kaybı, kulakta dolgunluk veya basınç hissi ve çınlamadır (31).

O zamana kadar bir santral sinir sistemi hastalığı olarak kabul edilen ve “apoplektik serebral konjesyon” olarak adlandırılan bu tablo, 1861 yılında

Prosperre Meniere tarafından tanımlanmıştır (32-34). Meniere'in, patolojinin periferik end organlarda olduğu ifade etmesinden sonra, çeşitli araştırmacılar bu görüşü destekleyen bulgular elde etmişlerdir (35-39).

B. EPİDEMİYOLOJİ

Meniere hastalığı'nın insidansına ve prevalansına ilişkin rakamlar, birçok nedenden dolayı büyük farklılıklar gösterir: birinci basamak hekimlerin tanı koymada tutarsızlığı, hastalığın özel seyri ve atipik formları, verilerin toplanmasında ve analizindeki güçlükler, tanı kriterlerinin çeşitliliği (28). Amerikan Otolarengoloji ve Baş-Boyun Cerrahisi Akademisi (AAO-HNS)'nin İşitme ve Denge Komitesi, 1972'de Meniere hastalığını tanımlamış ve tedavi sonuçlarını değerlendirmek için bir kılavuz önermiştir (40). Ardından 1985'te ve en son 1995'te, tanı koymayı basitleştirmek ve uygulanabildiği durumların spektrumunu genişletmek için tanı kriterleri düzenlenmiştir (Tablo 1) (31,41,42).

Değişik ülkelerde yapılan farklı çalışmaların sonucunda çok farklı prevalans ve insidans rakamları bildirilmiştir. Kotimäki ve ark tarafından AAO-HNS 1995 kılavuzu kriterlerine uygun olarak yapılan en geniş çaplı araştırmada prevalans 100.000'de 43, ortalama yıllık insidans 100.000'de 4.3 bulunmuştur (43).

Meniere hastalığı erişkinlerde daha sık görülür. Semptomların ortaya çıkış zamanı, ortalama dördüncü dekad olmakla beraber, 20-60 yaş arasındadır (28,44). Türkiye'de ortalama yaş 48 olarak bildirilmiştir (45). Erişkin hastalar olguların büyük çoğunluğu oluşturmakla beraber, Meniere hastalığı çocuklarda da görülür. Meyerhoff ve ark, hastalarının %3'ünün pediatrik yaş grubunda olduğunu bildirmişlerdir (46).

Kadın/erkek hasta oranı hakkındaki veriler çelişkilidir. Bazı raporlarda iki cinsin eşit tutulduğu bildirilirken, bazılarında kadınlarda biraz daha fazla rastlandığı (K/E = 1.3/1) söylenir (44,47).

1- **Rekürren, spontan, epizodik vertigo**

Kesin (tam) nöbet; en az 20 dakika süren (genelde birkaç saat) spontan rotasyonel vertigo, sıklıkla yatmaya/uzanma hali, eşlik eden dengesizlik (birkaç gün sürebilir), bulantı (sıklıkla kusma veya öğürme), bilinç yerinde Horizontal/horizonto-rotatuar nistagmus daima mevcut

2- **İşitme kaybı** (fluktuan veya değil)

3- **Kulak dolgunluğu veya çınlama** (veya her ikisi)

Kesin (mutlak) Meniere Hastalığı (Certain MH)

“Kesin Meniere Hastalığı” bulguları

Histopatolojik doğrulama

Kesin Meniere Hastalığı (Definite MH)

2 veya daha fazla “kesin nöbet” öyküsü

Odyometrik olarak ortaya konmuş işitme kaybı

Çınlama ve/veya kulak dolgunluğu

Olası Meniere Hastalığı (Probable MH)

Tek “kesin nöbet” öyküsü

Odyometrik olarak ortaya konmuş işitme kaybı

Çınlama ve/veya kulak dolgunluğu

Olabilir Meniere Hastalığı (Possible MH)

Epizodik vertigo atakları (“kesin nöbet” geçirmek) → İşitme kaybı yok

İşitme kaybı (fluktuan veya sabit) ve dengesizlik → Epizodik vertigo

nöbeti yok

Tablo 1. Meniere Hastalığı Tanı Kriterleri (1995) (31).

İki kulak tutulumu arasında belirgin fark bulunmamıştır (47). Hastalığın ortaya çıkmasında genetik, etnik, mesleki, mevsimsel ve stres faktörlerinin etkili olduğu vurgulanmıştır (44,47-54).

C. PATOLOJİ VE PATOFİZYOLOJİ

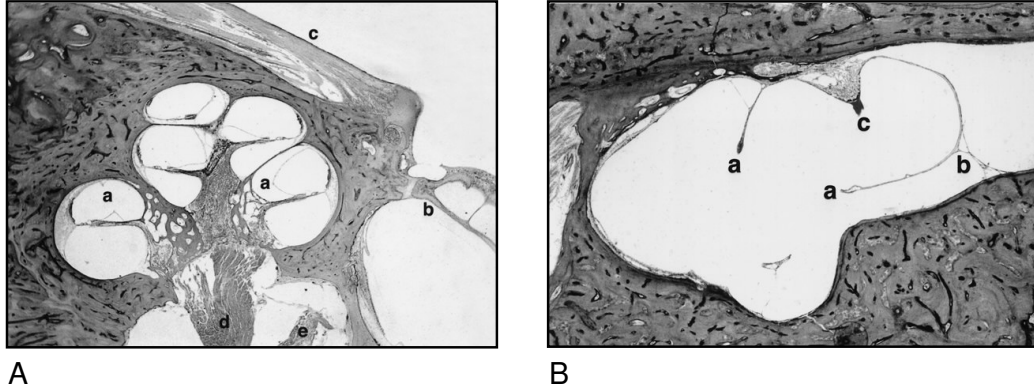
Meniere hastalığında en önemli bulgu endolenfin membranöz labirent içinde birikmesi, membranöz labirent yapılarını germesi ve basınca dayanıksız bölgelerde (özellikle Reissner membranı ve sakkulus) membranöz labirentin perilenfatik aralık aleyhine genişlemesidir (47,55,56). Endolenfin membranöz labirent içinde birikmesinin nedeni, endolenf salgılanmasının artması veya endolenfin malabsorpsiyonu olabilir.

Endolenf, esas olarak stria vaskülaristen, daha az oranda da vestibüler dark hücrelerden salgılanır (28,30). Endolenfin metabolizmasına dair 3 farklı teori ileri sürülmüştür: longitudinal, radyal ve kombine dolaşım teorileri. Özetle, stria vaskülaristen skala media'ya salgılanan endolenf, duktus reunens ile sakkulusa geçer ve endolenfatik duktus ile endolenfatik keseye ulaşarak burada emilir (longitudinal dolaşım) (35,36). Nispeten yavaş olan bu dolaşım sırasında, endolenf içerisindeki elektrolitler ve metabolitler skala media boyunca devamlı bir şekilde emilir (radyal dolaşım) (57). Lawrence, bu 2 dolaşımın eşzamanlı meydana geldiğini ortaya koymuştur (58,59).

Endolenf dolaşımının fiziksel veya kimyasal obstrüksiyona bağlı engellenmesi hidropsa yol açar (60). Yapılan çalışmalarda perisakküler fibrozis, epitel bütünlüğünde bozulma, endolenfatik kese atrofisi, vestibüler akuaduktus hipoplazisi ve kısalığı, endolenfatik duktus lümeninde daralma, subepiteliyal bağ dokusunda artış, endolenfatik kese glikoprotein metabolizma bozukluğu gibi bulgular saptanmıştır (61-66). Her ne kadar Meniere hastalığında neden ortaya konamasa da olası etiyolojide otoimmünite ve alerji üzerinde durulmuştur (67-71). Tüm ekstrensek faktörlere ek olarak, Meniere hastaları için multifaktöriyel genetik predispozisyondan bahsedilmiştir (44).

Meniere hastalığında rastlanan histopatolojik bulgular Schuknecht tarafından 8 alt gruba bölünmüştür (55): endolenfatik hidrops, membranöz labirent rüptürü, membranöz labirent fistülü, membranöz labirent kollapsı, longitudinal dolaşım obstrüksiyonu, vestibüler fibrozis, Korti organında ve

vestibüler duyuşal organlarda hasar, koklear ve vestibüler nöron hasarı (55,56,72-76).



Resim 6. Meniere hastalığı olan bir kişinin kokleasından (A) ve horizontal semisirküler kanal ampullasından (B) alınan histolojik kesitler (76). A: Reissner membranının skala vestibüli içerisine yer değiştirdiği, önceki rüptürlere ve sekonder membran oluşumlarına bağlı düzensizliklerin varlığı görölmektedir (a). Vestibül duvarına ve stapes tabanına kadar genişleyen sakküler membran izlenmektedir (b). c, tensor timpani kası; d, internal akustik kanal içindeki koklear sinir; e, superior vestibüler sinir. B: Horizontal semisirküler kanal ampullasının rüptürü (a) ve sekonder membran oluşumu (b) görölmektedir. c, preparatın dehidratasyonuna bağlı kontrakte olmuş jelatinöz kupula

Patofizyolojide 3 farklı teori ortaya atılmıştır: membranöz labirent rüptürüne bağlı nöroepitelin yüksek potasyum konsantrasyonu ile perfüzyonu/entoksikasyonu (55), basınç artışına bağlı end organların yer değiştirmesi (47), endolenfatik duktus obstrüksiyonuna bağlı keseden sakkin salgılanması ve endolenfin ani klirensi (65).

D. KLİNİK

Meniere hastalığındaki majör semptomlar epizodik paroksizmal vertigo atakları, nörosensoriyal işitme kaybı, çınlama ve kulakta dolgunluk veya basınç hissidir. Amerikan Otolarengoloji ve Baş–Boyun Cerrahisi Akademisi (AAO-HNS)'nin İşitme ve Denge Komitesi, 1972'deki kılavuzda bu semptomların bulunma durumuna göre Meniere hastalığını 3 alt gruba

(klasik, koklear ve vestibüler) ayırma da, 1995'teki kılavuzda alt grupların kullanılmasını yasaklamıştır ve yeni bir değerlendirme sistemi önermiştir (bakınız II.4.B. Epidemiyoloji) (31,40).

Vertigo atakları ani başlar, kısa sürede doruğa çıkar ve birkaç dakika ile 24 saat arasında geçer. Vertigo, hastayı en çok etkileyen semptomdur (47,77). Vertigonun en önemli özelliği rotasyonel olmasıdır. Hasta ayakta duramaz, genelde yatar. Baş hareketleri ile şikâyetler artar. Horizontal nistagmus, atak boyunca kardinal bulgudur. Erken evrede, nistagmus genelde etkilenen kulağa doğrudur (irritatif nistagmus). İleri evrede ise sağlam kulağa doğru horizontal nistagmus izlenir (paralitik nistagmus). Atak sona erdikten sonra nistagmus tekrar hasta kulağa doğru yönelir (recovery nistagmus) (78). Nörovejetatif belirtiler tabloya eşlik eder: bulantı, kusma, taşikardi, solukluk, ishal, terleme, ölüm korkusu gibi. Dengesizlik hissi eşlik eder ve nadiren çok şiddetli başlayan nöbetlerde düşme meydana gelebilir (Tumarkin krizi) (47,79).

Yıllık vertigo atağı sayısı, Haye ve ark tarafından takip ettikleri hastaların 1/3'ünde 30'dan fazla olarak bildirilirken, Friberg ve ark tarafından ortalama 3-4 olarak raporlanmıştır (80,81).

İşitme kaybı ve çınlama, ilk vertigo atağından yıllar öncesinde bulunabilir. Beraberinde sestten rahatsız olma ve diplakuzi görülebilir. Önemli bir bulgu rekrutman'dır ve endolenfatik hidropsta %100 oranında mevcuttur. Nedeni, bazal membranın gerilmesidir (30). Diğer koklear hastalıklarda da saptandığından, hidropsa spesifik değildir.

Hastalığın erken evrelerinde, işitme kaybı düşük frekansları etkilerken, odyogramda "yükselen eğri" izlenir ("rising audiogram"). Hastalık ilerledikçe yüksek frekanslar da etkilenir ve odyogramda "düz eğri" saptanır ("flat audiogram") (28,30,82). Başlangıçta işitme kaybı hidrops derecesi ile doğru orantılıdır, ancak zamanla sabitlenir ve fluktuasyonlar kaybolur.

Çınlama, başlangıçta düşük frekanslarda ve uğultu şeklindedir, hastalık ilerledikçe karakteri değişebilir.

Kulak dolgunluğu veya basınç hissi, her hastada görülmez. Görüldüğünde bir çeşit aura olarak kabul edilebilir ve genelde nöbetlerin habercisidir.

Meniere hastalığı genelde unilateral olarak başlar. Zamanla, başlangıçta unilateral olarak düşünülen bazı hastaların, diğer kulaklarında da şikâyetler başlamaktadır. Bilateralite, %2 ile %78 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (83,84). Unilateral olduğu düşünülen hastaların takip süresi uzadıkça, hastalığın diğer kulakta da ortaya çıkma oranı yükselir (81). Tedavi planlanmasında bu durum mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır (47,85).

E. TANI

Meniere hastalığı tanı kriterleri, Amerikan Otolarengoloji ve Baş-Boyun Cerrahisi Akademisi (AAO-HNS)'nin İşitme ve Denge Komitesi tarafından belirlenmiştir (31).

Vertigo ile başvuran hastalarda, öncelikle santral sinir sistemi patolojileri ekarte edilir. Beyin sapından kaynaklanan işitsel ve vestibüler yolları, vestibüler çekirdekleri ve bunların bağlantılarını sağlayan santral sinir sistemi yapılarını ilgilendiren patolojiler vertigoya neden olabilir (28).

Meniere hastalığının tanısı esas olarak dışlama yolu ile olmaktadır. Vertigo nedeni olabilecek tüm patolojiler dışlanır (Tablo 2) (28).

Tanı koymada, detaylı ve doğru bir anamnez en önemli araçtır. Ardından otolojik ve mümkünse nörolojik muayene yapılır. Rutin laboratuvar tetkikleri yapılır: hemogram, biyokimya, sedimentasyon, idrar analizi, tiroid fonksiyon testleri vs.

Odyometrik tetkikler yapılır ve hastalığın başlangıç evresindeki fluktuasyonlar nedeniyle belli aralıklarla tekrarlanır. Hastalığın erken evrelerinde, işitme kaybı düşük frekansları etkilerken, odyogramda “yükselen eğri” izlenir (“rising audiogram”). Hastalık ilerledikçe yüksek frekanslar da etkilenir ve odyogramda “düz eğri” saptanır (“flat audiogram”). Rekrutman saptanması tanıya yardımcıdır (bakınız II.4.D. Klinik).

Santral patolojiler	Periferik patolojiler
Enflamatuar hastalıklar	Orta kulak
<i>Menenjit</i>	<i>Otitis media</i>
<i>Beyin absesi</i>	<i>Östaki tüpü obstrüksiyonu</i>
<i>Ensefalit</i>	<i>Aerotit</i>
Yer kaplayan oluşumlar	Labirent
<i>Neoplazi</i>	<i>Benign pozisyonel vertigo</i>
<i>Araknoid kist</i>	<i>Labirentit</i>
Vasküler patolojiler	<i>Vestibüler nörit</i>
<i>İnternal auditor arter</i>	<i>Vasküler hemoraji</i>
<i>lezyonu</i>	<i>İskemi</i>
<i>İnferior posterior serebellar</i>	<i>Alerji</i>
<i>arter lezyonu</i>	<i>Hidrops</i>
<i>Vertebro–baziler yetmezlik</i>	<i>Otoskleroz</i>
Sistemik	Sistemik
<i>Toksinler</i>	<i>Enfeksiyonlar</i>
<i>Genetik</i>	<i>Metabolik bozukluklar</i>
<i>Multipl skleroz</i>	<i>İlaçlar</i>
Travmatik	Neoplaziler
<i>Beyin konküzyonu</i>	<i>Malign tümörler</i>
Otonom disfonksiyon	<i>Benign tümörler</i>
Neonatal	Travma
<i>Gelişim anomalileri</i>	<i>Temporal kemik fraktürleri</i>
<i>Anoksi, neonatal sarılık,</i>	<i>Labirent konküzyonu</i>
<i>prematürite</i>	<i>Akustik travma</i>

Tablo 2. Vertigo nedeni santral ve periferik patolojiler (28).

Vestibüler testler rutin olarak yapılır. Tüm vestibüler testler içerisinde en güvenilir bulgu, elektronistagmografide (ENG) tutulan labirentin

hipoaktivitesidir (78). Meniere hastalarında kalorik yanıtta azalma %30-50 ve %48-74 gibi farklı oranlarda bildirilmiştir (30,78).

Uyarılmış beyin sapı potansiyelleri (ABR), santral-periferik lezyonların ayırımında yardımcıdır. Bilgisayarlı tomografik ve manyetik rezonans görüntülemeler, intrakranial patolojiler ekarte edilemediğinde yapılır.

Bahsettiğimiz nonspesifik testlerin dışında, hidropsa spesifik testler de vardır: dehidratasyon testi ve elektrokokleografi (ECoG). Dehidratasyon testinde, osmotik diürez ve endolenf basıncında azalma amaçlanır. Furosemid, mannitol, üre, etanol, izosorbit gibi osmotik ajanlar denenmiş olsa da en sık kullanılan gliserol'dür. 1.5 gr/kg gliserol, aynı miktarda meyve suyu ile karıştırılarak hastaya verilir ve birer saat ara ile 3 kez odyometri yapılır. Diskriminasyon skorunda %16 ve üzerinde düzelleme, saf ses ortalamalarında ardışık 3 frekansta 25 dB ve üzerinde iyileşme pozitif sonuç olarak kabul edilir (78).

ECoG ile iç kulağın 3 elektriksel potansiyeli kaydedilir: koklear mikrofonik (CM), sumasyon potansiyeli (SP) ve aksiyon potansiyeli (AP). CM güvenilir değildir, SP ve AP'nin de amplitüd ve genişliğinin değişken olduğu saptanmıştır. SP/AP oranı daha az değişkendir. Endolenfatik hidropsta SP artar. AP'de ise, Meniere hastalığında ve diğer işitme problemlerinde, azalma izlenebilir. Böylece SP/AP oranı artar. Oranın normal değeri hakkında farklı veriler mevcuttur. 0.30'un altındaki değerler normal olarak kabul edilirken, 0.50'nin üstündeki değerler Meniere hastalığı için pozitif kabul edilir (86). Meniere hastalarının %58-62'sinde oran yüksek bulunur (78,86).

F. TEDAVİ

Meniere hastalığındaki mevcut tedavi seçenekleri, uzun vadede işitme kaybını önlemede etkisizdir. Uygulanmakta olan tedaviler vertigoya yöneliktir (78).

Mevcut tedavi yöntemlerinin, medikal ve cerrahi, hastaların kliniğinde %60-80 oranında iyileşme sağladığı raporlanmıştır (87,88). Bu oranlar başka araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (89).

Meniere hastalığında tedavinin 4 amacı vardır (28):

- » Akut atakların tedavisi
- » Yeni atakları önlenmesi
- » İşitsel ve vestibüler fonksiyonların korunması ve iyileştirilmesi
- » Bilateral Meniere hastalığı gelişiminin önlenmesi

a. Atakların Tedavisi

Hasta oturtulur veya tercihen yatırılır. Baş hareketleri mümkün olduğunca kısıtlanır. Hastalığın doğal seyri, benign natürü, birkaç yıl içerisinde spontal remisyon veya regresyon ihtimali, atakların genelde birkaç saatte geçtiği hastaya anlatılır. Kullanılan medikal ajanlar semptomatiktir ve amaç en rahatsız edici semptomları (vertigo, bulantı ve kusma) kontrol altına almaktır (28,78). En sık kullanılan 2 ilaç grubu vestibülosüpresanlar ve antiemetiklerdir (30).

Vestibülosüpresan etkili olan diazepam, bir benzodiazepindir. Spesifik reseptörlere (GABA A agonist) bağlanarak inhibitör GABA-erjik sistemin etkisini artırır, böylece beyin sapındaki vestibüler çekirdeklerin, sağlam labirentten gelen uyarılara, duyarlılığını azaltır. Atak sırasında oral, intramusküler veya intravenöz yolla verilebilir (28,30). Santral sinir sistemini suprese eder, hipoksiye eğilimli hastalarda dikkat edilmelidir. Vestibülosüpresan etkisi nedeniyle santral vestibüler kompanzasyonu engelleme eğilimindedir, bu nedenle 3-4 günden uzun kullanılması önerilmez (90).

Dimenhidrinat, antiemetik etkili bir antihistaminiktir (histamin H1 antagonist). Hem akut atak sırasında, hem profilakside kullanılır. Oral veya intravenöz yolla verilebilir (28,30).

Kortikosteroidler ataklar sırasında yararlı olabilir. Oral veya parenteral yolla uygulanabilir. İç kulak üzerindeki antienflamatuvar etkilerinden yararlanılır (30,91).

Hastanın kusması çok şiddetli ise sıvı ve elektrolit replasmanı yapılır.

b. Profilaksi

İyi bir hasta-hekim ilişkisi çok önemlidir. Hastalığın hayati risk oluşturmadığı vurgulanır, seyri ve tedavisi hakkında bilgi verilir. Hastalığın kesin tedavisinin olmadığı belirtilmelidir (28).

Tedavide endolenf basıncının azaltılması amaçlanır. Endolenf sıvısını tahliye etmek veya üretimini azaltmak gerekir. Bu nedenle diyet önemlidir. Endolenf basıncını arttıran maddeler kısıtlanır (tuz, kafein, teofilin, nikotin, çikolata, alkol, kolesterol, trigliserid, karbonhidrat vs.). Düzenli egzersiz önerilir (30,78,91).

Vücut sıvısı, dolayısı ile endolenf sıvısı miktarını azaltmak amacıyla diüretikler (en sık tiazid grubu) kullanılır (28,78,91). Vertigo kontrolünde %58, işitmenin korunmasında %69 etkili oldukları bildirilmiştir. Tersine, bazı çalışmalarda ise etkisiz oldukları raporlanmıştır. Diüretikler, hastalığın progresyonuna (özellikle işitme kaybına) etkisizdir (28,78).

Profilaksiste kullanılan diğer bir ilaç grubu vazodilatörlerdir. Bunlar içerisinde en sık kullanılan betahistin'dir (histaminin oral formu). Prekapiller sfinkteri gevşeterek, koklear kan akımını artırır. Etkinliğini ispatlayan objektif bulgular yoktur (30,78).

Kortikosteroidler hem atak sırasında, hem profilaksiste kullanılabilir. Antienflamatuar etkilerinden yararlanır. Endolenfatik duktustaki ödem ve enflamasyonun azaltılması amaçlanır (30,91). Oral, parenteral ve intratimpanik olarak uygulanabilirler. Etkinliği konusundaki yayınlar çelişkilidir.

c. Bilateral Meniere Hastalığında Medikal Tedavi

Intractable bilateral Meniere hastalığında intramusküler streptomisin sülfat (İSS) uygulaması efektif bir tedavidir. Graham ve ark, titrasyon tedavisi ile bilateral Meniere hastalarında başarılı sonuçlar bildirmişlerdir (92). Onların tedavi protokolünde odyometri ve ENG yapıldıktan sonra hastalara 5 gün boyunca 2x1 gr İSS uygulanmakta ve ardından tetkikler tekrarlanmaktadır. Halen semptomatik ve tetkik sonuçları öncekilere yakın olan hastalara 3 gün

daha 2x1 gr İSS uygulanmaktadır. Böylece 2 hafta ara ile tetkikler tekrarlanarak semptomatik hastalara ikişer gün daha 2x1 gr İSS verilmektedir. Total doz 15-30 gr arasında değişirken, vestibüler ablasyon, işitme eşiğinde düşme veya osilopsi meydana geldiğinde tedavi sonlandırılmaktadır. Graham ve ark, bu protokol ile hastaların 2/3'ünde işitmenin stabilizelediğini, 1/3'ünde düzelmeye gösterdiğini ve hiçbir hastada işitme kaybı ortaya çıkmadığını raporlamışlardır (92).

d. Cerrahi Tedavi

Medikal tedaviden yarar görmeyen ve santral kompenzasyonun meydana gelmediği hastalarda cerrahi tedavi gündeme gelir (yaklaşık olarak tüm hastaların %10'u) (78,92). Öncesinde mutlaka 3-6 aylık diyet ile birlikte medikal tedavi uygulanmalıdır. Uygulanan cerrahi yöntemler Tablo 3'te görülmektedir (28).

Cerrahi tedavi yöntemi seçilirken bazı kriterler göz önüne alınır (28,30):

- Δ Yaş
- Δ İşitme seviyesi
- Δ Hastalığın tek veya çift taraflı olması
- Δ Vertigo ataklarının sayısı ve şiddeti
- Δ Meslek
- Δ Hastanın psikişik ve genel durumu

Unilateral olduğu düşünülen hastalarda zamanla diğer kulakta da semptomların ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle konservasyon için tüm olanaklar değerlendirilmelidir ve destrüktif tedaviler sadece çok özel durumlarda uygulanmalıdır (28).

e. Vestibüler Rehabilitasyon

Vestibüler rehabilitasyon, tek veya çift taraflı vestibüler kaybı olanlarda, vertigo ve dengesizliğe neden olan hareketlerin özel egzersizler şeklinde tekrarlanması ile vestibüler adaptasyonun sağlanmasıdır (93).

I. Konservatif Yöntemler (işitmeyi koruyucu)

A. Ekstralabirentin

1. Endolenfatik kese cerrahisi
2. Endolenfatik kese revizyonu
3. Sempatektomi

B. Labirente invaziv

1. Sakkülotomi
2. Kokleosakkülotomi
3. Stapedektomi-sakkülotomi

II. Parsiyel Destruktif Yöntemler (işitmeyi koruyucu)

A. Vestibüler nörektomi

1. Orta fossa yaklaşımı
2. Retrolabirentin yaklaşım
3. Retrosigmoid yaklaşım
4. Kombine retrolabirentin-retrosigmoid yaklaşım

B. Singüler Nörektomi

C. Labirentin ultrasonik irradiasyonu

D. Kriyocerrahi

E. Medikal ablasyon

III. Destruktif Yöntemler (işitmeyi tahrip edici)

A. Transtimpanik

1. Yuvarlak pencereye ulaşan labirentektomi
2. Transkanal labirentektomi
3. Transmeatal labirentektomi

B. Transmastoid

1. Transmastoid labirentektomi
2. Translabirentin vestibüler nörektomi
3. Horizontal kanal yolu ile labirentotomi
4. Orta fossa yolu ile labirentektomi

Tablo 3. Meniere hastalığında uygulanan cerrahi tedaviler (28).

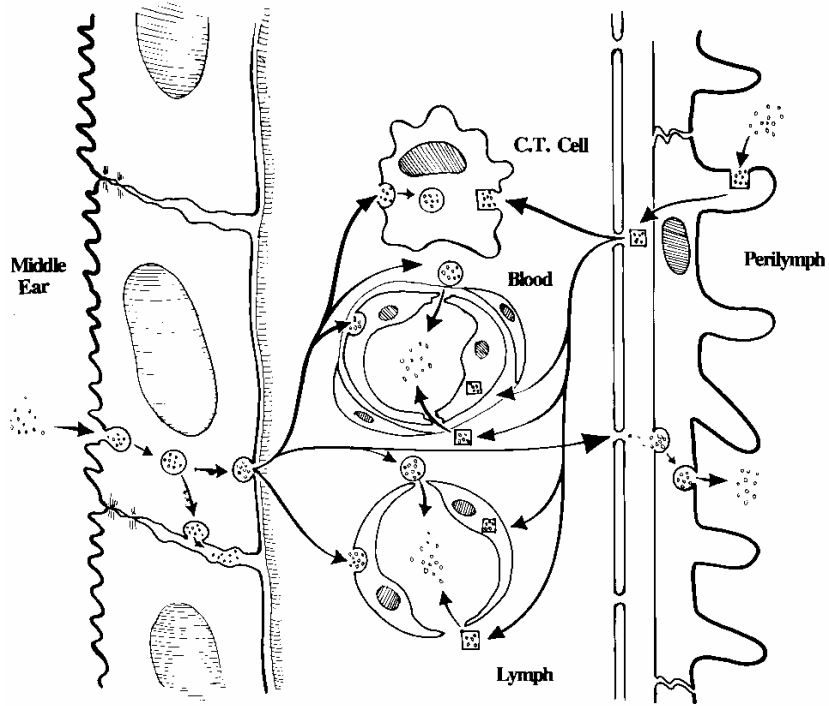
Tedavinin 3 temel amacı vardır: vestibülo-oküler refleksin geliştirilmesi, baş hareketleri ile ortaya çıkan vertigo ve dengesizliğin düzeltilmesi, değişik vücut hareketleri sırasında meydana gelen dengesizliğin giderilmesi (30,94).

Genel olarak stabil, nonfluktuan vestibüler kaybı olan hastaların rehabilitasyon için uygun oldukları kabul edilir (30,95). Ancak yeni yaklaşımda, tüm Meniere hastalarının (yeni tanı konmuş, aktif veya stabil hastalığı olan) vestibüler rehabilitasyon programına dahil edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (91,93).

f. Meniere Hastalığında İntratimpanik İlaç Uygulamaları

Son yıllarda, iç kulak hastalıklarının intratimpanik ilaç uygulamaları ile tedavisi hızlı bir artış göstermiş ve Meniere hastalığındaki vertigonun tedavisinde en sık kullanılan ilk basamak tedavi halini almıştır. Bu popüleritenin bazı nedenleri vardır: tüm vücut etkilenmeden, doğrudan hasta kulağın tedavi edilmesi, daha yüksek dozda ilaç uygulanabilmesi ve ilaçların sistemik yan etkilerinin önlenmesi. Uygulama tekniklerinin minimal invaziv olması, ofis ortamında uygulanabilmesi, iyi tolere edilmesi ve çoğu otolarenjolog tarafından gerçekleştirilebilmesi gibi faktörler de bu durumda etkilidir (96).

Timpanik kaviteye uygulanan ilaçların iç kulağa geçişinde (ve tersi) yuvarlak pencere membranı rol alır (10). Membran, 3 tabakalı yapısına rağmen yarı-geçirgen bir zar gibi davranır. Antibiyotikler, antiseptikler, araşidonik asit metabolitleri, lokal anestezipler, toksinler, proteinler, serbest radikaller, antioksidanlar gibi birçok maddenin yuvarlak pencere membranından geçtiği veya orta kulağa uygulandıktan sonra perilemfe ulaştığı gösterilmiştir (9,10). Maddelerin membrandan geçişi ebat, yapısal özellik ve elektrik yükü gibi faktörlere bağlıdır (16). Membrandan geçiş birkaç yolla olur: sitopazmadan difüzyon ile, pinositik veziküller içerisinde, hücrelerarası kanallar aracılığı ile (10).



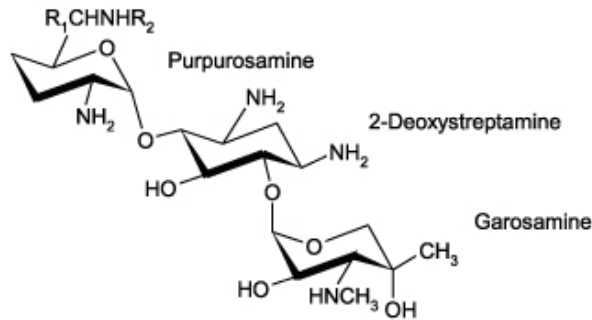
Şekil 17. Maddelerin yuvarlak pencereden geçiş yolları (10).

i. Aminoglikozidler

İlk aminoglikozid olan streptomisinin üretilmesinden kısa bir süre sonra ototoksik ve vestibülotoksik olduğu anlaşılmıştır. Meniere hastalığının tedavisinde orta kulağın aminoglikozidler ile perfüzyonu 1950'lerde Schuknecht tarafından ortaya atılmıştır (97). 1957'de Schuknecht transtimpanik streptomisin ile tedavi edilen 8 hastalık bir seri yayınlamıştır (92,96). Hastaların tamamında vestibüler fonksiyonların kimyasal ablasyonunun sağlandığı, 5 hastada total koklear fonksiyon kaybı meydana geldiği bildirilmiştir. Sonraki yıllarda araştırmalara, ototoksik etkisi vestibüler sisteme daha spesifik olan, gentamisin ile devam edilmiştir (92,98).

Aminoglikozidler, bakterilerin 30S ribozomal alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe eden antimikrobik ajanlardır. Mitokondri ve hücre membranında fosfatidilinozitle bağlanarak membran geçirgenliğini artırır. Bunun sonucunda oksidatif fosforilasyon için gerekli bir kofaktör olan Mg kaybı gerçekleşir ve hücre ölümü meydana gelir (99). Ototoksisite

mekanizması antimikrobik etki mekanizmasından farklıdır ve henüz kesin olarak ortaya konamamıştır. DNA, RNA, enzimler, proteinler, lipidler ve metabolik ara maddeler üzerinde etkileri olduğu bilinmektedir (92). Ototoksik etkisi bu maddeler üzerinden veya fosfatidilinozitol affinitesi, serbest radikal oluşumu, demir şelasyonu gibi etkiler nedeniyle olabilir (92,).



Gentamicin C₁: R₁ = R₂ = CH₃
 C₂: R₁ = CH₃; R₂ = H
 C_{1a}: R₁ = R₂ = H

Şekil 18. Gentamisinin kimyasal formülü

Korti organında ve vestibüler makulada aminoglikozidlerin bağlandığı bölgeler bulunmuştur. Çeşitli aminoglikozidlerin tercih ettikleri hücre tipleri farklıdır. Bu durum neden bazılarının daha çok kokleotoksik, bazılarının ise vestibülotoksik olduğunu açıklamaktadır (99). Ayrıca yoğun afferent inervasyona sahip vestibüler Tip I hücreler aminoglikozid toksisitesine daha duyarlı iken, yoğun afferent inervasyona sahip koklear iç tüylü hücreler daha dirençlidir (100). Kokleada kayıp, dış tüylü hücreler, iç tüylü hücreler, destek hücreleri, spiral ganglion hücreleri şeklinde ilerlerken, kokleanın bazal kıvrımları apikal kıvrımlara göre daha duyarlıdır (99,100).

Gentamisin Meniere hastalığındaki yararlı etkisi 2 yönlüdür. Bir yandan vestibüler reseptör yapıları (özellikle tüylü hücreleri) hasara uğratarak hasta kulaktan gelen fluktuan inputları azaltır veya yok eder; diğer yandan stria vaskularis ve vestibüler dark hücreleri hasara uğratarak üretilen endolenf miktarını azaltır ve böylece endolenf basıncını azaltır (30,96,101,102). Bu etkilerinin yanında, koklear tüylü hücrelere toksik etki göstererek işitme kaybına neden olur.

İntratimpanik gentamisin tedavisi için bazı endikasyonlar öne sürülmüştür (103):

- En az bir yıl takip edilen, persistan ve medikal tedaviye dirençli tek taraflı Meniere hastalığı
- Baş dönmesi sıklığı önceki tedavilerle değişmeyen veya artan, günlük işlerini güçlükle yapabilen veya yapamayan hasta
- Diğer kulaktaki işitmesi iyi olan hasta
- Saf ses eşik odyometrisi skoru 50 dB ve üzerinde, konuşmayı alma eşiği 50 dB ve üzerinde (70 dB ve üzerinde ise diğer kulağın işitmesi tam olmalı), konuşmayı ayırt etme yüzdesi %80 ve üzerinde (%50-80 ise diğer kulağın işitmesi tam olmalı) olan hasta
- Görme fonksiyonları tam, hipertansiyonu veya alkol alışkanlığı olmayan hasta
- Yaşı 45-65 aralığında olan hasta
- İlaç alerjisi veya idiosenkrazisi olmayan hasta

İntratimpanik gentamisin tedavisinde amaç, vertigo ataklarının sıklığını ve şiddetini azaltmak, bununla birlikte koklear fonksiyonları korumaktır. Bunu başarmak için birçok yöntem, uygulama yolu, dozaj, uygulama sıklığı, uygulama süresi ve tedaviyi sonlandırma kriteri ortaya atılmıştır (92,104,105).

Gentamisin, timpanik kaviteye uygulandıktan sonra başlıca yuvarlak pencere aracılığı ile iç kulağa (skala timpani) geçerken, daha az oranda oval pencerenin anüler ligamanı, vasküler ve lenfatik yapılar aracılığı ile geçer (30,96,104). Skala timpaniye geçen ilacın iç kulak sıvılarına dağılımı, longitudinal akım ve helikotremanın geçişten çok, doğrudan membranlardan geçişle olur (106). Topikal uygulama ile iç kulak sıvılarında elde edilen ilaç konsantrasyonlarının, sistemik uygulamaya göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (96,104,107).

İntratimpanik ilaç uygulamasında genel olarak birkaç yöntem mevcuttur: ilacın transtimpanik enjeksiyonu, yuvarlak pencere nişine konan materyal üzerine uygulanması, yuvarlak pencere nişine yerleştirilen

mikrokateter ile uygulanması, yuvarlak pencere nişine yerleştirilen MicroWick ile uygulanması, timpanostomi tüpü aracılığı ile damla şeklinde uygulanması (96,104,108). Bu yöntemlerin dışında, Shea tarafından aminoglikozidlerin, horizontal semisirküler kanalda oluşturulan bir açıklıktan, perilenf veya endolenf içerisine doğrudan enjeksiyonu da tariflenmiştir (109). Yüksek oranda vertigo kontrolünün yanı sıra önemli oranda derin işitme kaybı nedeniyle kullanılmaz (78).

İntratimpanik uygulamada standart gentamisin konsantrasyonu 40 mg/ml'dir. Farklı araştırmacılar tarafından, gentamisin farklı doz ve sıklıkta uygulanarak, vertigo kontrolünün yanı sıra işitme kaybı önlenmeye çalışılmıştır (92). Uygulama konsantrasyonu 10 mg ile 40 mg arasında; total doz 10 mg ile 720 mg aralığında; uygulama sayısı 1 ile 12 arasında; uygulama sıklığı günde tek ve bir kere, günde birkaç kez ve tek gün, günde tek ve ardışık günler, günde birkaç kere ve ardışık günler, haftada bir kere, 2 haftada bir kere, ayda bir kere, devamlı uygulama olarak farklılık gösterir (92,105,110).

Uygulama süresi ve tedaviyi sonlandırma kriterleri de farklılık gösterir. Labirent fonksiyonlarının kısmi veya total ablasyonunun hedeflenmesine göre yöntem değişir. Bazıları tedaviye total ablasyon sağlanana kadar devam ederken, bazıları titrasyon yöntemi ile parsiyel ablasyonu hedefler (92,105,111). Total ablasyon Nedzelski tarafından tanımlanmıştır (112). Hastada nistagmus, dengesizlik, işitme seviyesinde yükselme gözlenmesine veya toplam 12 doz tamamlanmasına kadar tedaviye devam edilir. Daha sık kullanılan total ablasyon yönteminde vertigo kontrolü yüksek orandadır, ancak beraberinde yüksek işitme kaybı riski mevcuttur (92,96,113). Jackson ve Silverstein, MicroWick ile devamlı ilaç uygulayarak total ablasyon sağladıkları 92 hastada %85 oranında vertigoda azalma, %67 oranında kulak dolgunluğunda azalma saptarken, %36 hastada işitme kaybı meydana geldiğini raporlamışlardır (96).

Titrasyon yöntemi ile parsiyel ablasyon veya vestibüler yanıtın azaltılması/değiştirilmesi Magnusson ve Padoan tarafından tariflenmiştir (114). Bu yöntemde hastaya transtimpanik olarak standart veya azaltılmış

dozda gentamisin uygulandıktan sonra hasta periyodik kontrollere çağırılır. Bir hafta – bir ay arasında değişen zamanda yapılan kontrollerde hastanın semptomları, vestibüler testleri, kontrol odyogramı, ENG bulguları değerlendirilir ve tedaviye devam edip etmeme kararı verilir (102,110,111).

Transtimpanik ilaç uygulaması oldukça basittir ve ofis şartlarında yapılır. Hasta sırtüstü yatarken başını karşı kulağına doğru çevirir. Dış kulak yolu ve timpanik membrana topikal veya lokal anestezi uygulanır. Uygulanacak olan ilaç 1 ml'lik tüberkülin enjektörüne alınır. İlaç, mikroskopik görüş altında, timpanik membranın posteroinferiorundan, 25 veya 27-gauge uzun iğne ile timpanik kaviteye, kavite dolacak şekilde (yaklaşık 0.3-0.75 ml) uygulanır. Timpanik kavitede hapsolan havanın çıkışı için ikinci bir delik oluşturulur veya giriş deliği genişletilir. Hastaya 15-45 dk bu pozisyonda kalması söylenir (96,104,108,110,111).

Titrasyon yöntemini standart gentamisin dozu (40 mg/ml) ile uygulayan Harner ve ark, 2 yıl takip ettikleri 56 hastada % 86 vertigo kontrolü sağladıklarını, saf ses ortalamalarında belirgin değişiklik olmadığını (tedavi öncesi ile sonrası arasındaki fark 1 dB), ancak konuşmayı ayırt etme skoru ortalamalarında azalma olduğunu (%9 oranında) bildirmişlerdir (110). Araştırmacılar, bu yöntemle işitme kaybının daha az olduğunu iddia etmişlerdir.

Martin ve Perez, düşük doz gentamisin (26.7 mg/ml) ile titrasyon yöntemini uyguladıkları 71 hastada 2 yıllık takip sonrasında %83 vertigo kontrolü sağladıklarını ve %32.4 işitme kaybı meydana geldiğini açıklamışlardır (111).

Blakley, intratimpanik gentamisin tedavisi ile ilgili 18 yayını tarayarak değişik yöntemleri karşılaştırmıştır (105). Vertigo kontrolü %80 ile %100 arasında, işitme kaybı ortalama %30 civarında saptanmıştır. Uygulama yolu ile vertigo kontrolü ve işitme kaybı paterni arasında tutarlılık izlenmemiştir. Aynı şekilde, uygulama protokolü ile işitme kaybı ve vertigo kontrolü arasında tutarlı bir ilişki gözlenmezken, işitme kaybı %0 ile %75 arasında bulunmuştur. Standart dozun azaltılmasının tedavi sonuçlarını etkilemediği görülürken, total doz ve uygulama sayısı ile işitme kaybı arasında orantılı bir ilişki

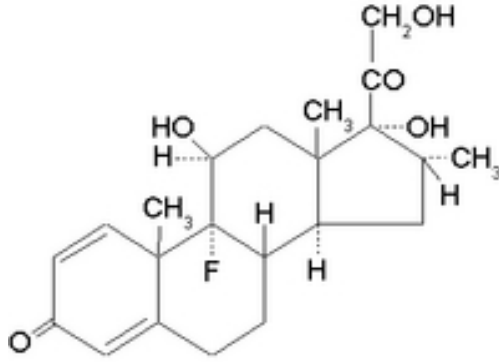
saptanamamıştır. Klasik farmakolojik bilgilerin dışında, belirli bir miktar ilacın, belirli oranda bir etki oluşturmadığı vurgulanmıştır. Tüm yöntemlerde elde edilen başarı oranlarının yüksek olmasından dolayı, total ablasyonun gerekli olmadığı belirtilmiştir. Bu durum çoğu hasta tarafından, özellikle yaşlı hastalar, iyi tolere edilememektedir ve kronik dengesizlik ile sonuçlanabilmektedir. Yeterli yarar elde edildiğinde tedavinin kesilmesi, gerektiğinde tekrarlanması önerilmektedir.

Her ne kadar aksini iddia eden otörler olsa da, çoğu araştırmacı total doz ile intratimpanik gentamisin etkisinin orantılı olmadığını kabul etmektedir (30,101,105,111). Doz-yanıt ilişkisinin orantılı olmaması bazı faktörlere bağlanmıştır: ilacın yuvarlak pencere nişindeki konsantrasyonu ve bulunma süresi, yuvarlak pencerede ilacın emilimi engelleyen anatomik varyasyonların (en sık müköz membran) varlığı (115). Silverstein ve ark, diğer yönlerden normal orta kulak boşluğuna sahip kişilerde, yuvarlak pencerenin obstrükte edici membranlar ile kısmen (%17) veya tamamen (%12) kaplı olabildiğini saptamışlardır (12). Diğer yandan Alzamil ve Linthicum, insan temporal kemiklerini inceledikleri kadavra çalışmasında kulakların %33'ünde yuvarlak pencere membranı üzerinde membran veya tıkaç bulmuşlardır (13).

Chia ve ark, 2004 yılında farklı tedavi yaklaşımlarını incelediklerinde, düşük-doz tedavilerinin semptomların kontrolünde etkisiz olduğunu, buna rağmen işitmenin daha iyi korunmadığını belirtmişlerdir (116). Yaptıkları analiz sonucunda, titrasyon metodunun en başarılı olduğu ve en iyi işitme sonuçlarını sağladığı vurgulanmıştır. Günlük multidoz uygulamasının, en belirgin işitme kaybına neden olurken, daha iyi vertigo kontrolü sağlamadığı görülmüştür.

ii. Kortikosteroidler

Intratimpanik uygulamalarda en sık kullanılan kortikosteroid deksametazondur. Deksametazon (9_fluoro_11 β ,17,21_trihydroxy_16 α _methylpregna_1,4_diene_3,20_dione), glukokortikoid etki gösteren, uzun etkili, sentetik bir kortikosteroiddir (117).



Şekil 19. Deksametazonun kimyasal formülü

Sentetik kortikosteroidler, esas olarak antienflamatuar etkileri nedeniyle kullanılır. Çeşitli metabolik etkilerinin yanı sıra, vücudun çeşitli uyarılara karşı immün yanıtını modifiye ederler. Mineralokortikoid etkinliği olmayan deksametazonun yarılanma ömrü 36-54 saattir. Karaciğerde metabolize olur ve idrarla atılır (118).

Glukokortikoidler bazı iç kulak hastalıklarında kullanılmaktadır: ani idiyopatik nörosensoriyal işitme kaybı, otoimmün işitme kaybı, gürültü kaynaklı işitme kaybı, Meniere hastalığı (117,119,120). İç kulaktaki etkileri çeşitlidir: yağ, protein ve karbonhidrat katabolizması, iyon transportu ve nöral aktivitenin modülasyonu, immün ve enflamatuar yanıtın baskılanması (121).

McCabe'nin 1979'da otoimmün nörosensoriyal işitme kaybını tanımlamasından sonra, endolenfatik hidrops-immün sistem ilişkisi gündeme gelmiştir (122-126). Her ne kadar bu ilişkinin varlığı ve detayları kesin olarak ortaya konamasa da, mevcut bulguların ışığında birçok araştırmacı Meniere hastalığında kortikosteroidleri kullanmaya yönelmiştir (127).

Sistemik uygulamada kortikosteroidlerin, antienflamatuar etkileri yanında, birçok istenmeyen etkileri vardır: enfeksiyonlara yatkınlık, sıvı-elektrolit dengesizliği, sodyum ve sıvı retansiyonu, duyarlı kişilerde konjestif kalp yetmezliği, hipopotasemi, hipertansiyon, göz içi basıncında artış, kas güçsüzlüğü ve erimesi, osteoporoz, vertebral kompresyon fraktürleri, femur ve humerus başının aseptik nekrozu, tendon rüptürü, sinirlilik, uykusuzluk vs (117,120). Bu sistemik etkilerden kaçınmak için son yıllarda steroidler doğrudan orta kulak boşluğuna uygulanmaya başlanmıştır.

Deksametazon, deksametazon 21_fosfat halinde önilaç olarak uygulanmaktadır. Hargunani ve ark tarafından, intratimpanik uygulamadan 15 dk sonra aktif deksametazon formunun iç kulak sıvılarında saptandığı ve uygulamadan sonraki 30-60 dk süresince en yüksek konsantrasyonda bulunduğu bildirilmiştir (120). Bu hızlı kimyasal dönüşüm sonrasında deksametazon özellikle spiral ligamanda, baziler membranda, Korti organında ve spiral ganglionda yüksek yoğunlukta saptanmıştır. İntratimpanik olarak uygulandıktan sonra yuvarlak pencere aracılığı ile iç kulağa geçen deksametazonun, perilenfte (128) ve daha yüksek konsantrasyonda endolenfte dağıldığı önceden gösterilmiştir (107). Etkilerini sitoplazmik reseptörler üzerinden meydana getiren (121,129) glukokortikoidlere ait reseptörlerin kokleada buldukları gösterilmiştir (130-132). Özellikle tüylü hücrelerin, destek hücrelerinin, spiral limbusun, tektorial membranın, baziler mebranın, dış ve iç sulkus hücrelerinin, Reissner membranının ve spiral ganglion nöronlarının yoğun olarak bu reseptörleri içerdiği dikkati çekmiştir (120). Hücre sitoplazmasında meydana gelen "glukokortikoid–glukokortikoid reseptör" kompleksi nukleus içerisine girerek spesifik DNA sekanslarına bağlanır. Böylece protein ekspresyonu ve üretimini kontrol eden ilgili mRNA'yı regüle eden gen transkripsiyonunu aktive eder (133).

Kortikosteroidlerin intratimpanik uygulanmasının birçok avantajı vardır: ofis şartlarında uygulanabilmesi, intractable Meniere hastalığında en az invaziv ve en az destrüktif cerrahi işlem olması, diğer nondestrüktif cerrahilere göre düşük maliyetli olması, sistemik steroid tedavisinin kontrendike olduğu veya tolere edilemediği durumlarda uygulanabilmesi, tedavinin tek kulağa uygulanabilmesi, kısa sürede tedavinin başlanabilmesi, komplikasyon oranlarının düşük olması (117,134,135). Diğer bir avantaj da, sistemik uygulamaya nazaran, daha yüksek miktarda steroidin iç kulak sıvılarına ulaşmasıdır (107,128).

Sistemik uygulamanın yan etki potansiyelinden dolayı, intratimpanik uygulama giderek ön plana çıkmıştır ve ilk aşamada uygulanan cerrahi tedavi halini almıştır (134). İntratimpanik kortikosteroid uygulaması son yıllarda

Meniere hastalığının tedavisinde yoğun olarak kullanılmasına rağmen, bu tedavinin etkinliği konusunda görüş birliği sağlanamamıştır (117).

Meniere hastalığında intratimpanik steroid tedavisi ilk olarak Sakata tarafından 1987'de tanımlanmıştır (123). Itoh ve Sakata, intratimpanik deksametazon ile tedavi edilen 61 unilateral Meniere hastasının sonuçlarını bildirmişlerdir (136). Haftada bir kez 2 mg deksametazon uygulanması ile (toplam 4 veya 5 kez) %78 vertigo kontrolü, %74 tinnitusta iyileşme/azalma elde edilmiştir. Herhangi bir zararlı yan etki meydana gelmemiştir.

Sennaroğlu ve ark, timpanostomi tüpü uyguladıkları ve deksametazonun damla formu (1 mg/ml) ile tedavi ettikleri intractable Meniere hastalarında %72 vertigo kontrolü (intratimpanik gentamisin sonuçları ile aynı) sağladıklarını, işitmede %16 düzelme ve %8 kötüleşme meydana geldiğini raporlamışlardır (137).

Barrs ve ark, Meniere hastalığının neden olduğu intractable vertigolu 21 hastayı haftalık intratimpanik deksametazon (4 mg/ml) enjeksiyonları ile tedavi ettiklerini, 6 aylık vertigo kontrolünün %43 olduğunu, yarar gören hastaların %60'ında enjeksiyonların tekrarının gerektiğini ve sadece bir hastada belirgin işitme kaybı meydana geldiğini yayınlamışlardır (134). Aynı otörün sonraki çalışmasında 34 hasta haftalık intratimpanik deksametazon (10 mg/ml) enjeksiyonları ile tedavi edilirken, 6 aylık vertigo kontrolü %44, 2 yıllık vertigo kontrolü %24 ve bir hastada belirgin işitme kaybı saptanmıştır (135).

Bu tedavi ile ilgili en iyi sonuçlar Shea ve Ge tarafından yayınlanmıştır (138). İntratimpanik deksametazon (8 mg/ml) perfüzyonu beraberinde tek doz intravenöz ve ardından bir aylık oral deksametazon ile tedavi ettikleri 28 Meniere hastasında %67.9 işitmede düzelme, %96.4 vertigo kontrolü, %89.3 kulak dolgunluğunda azalma ve %82.1 tinnitusta azalma gösterilmiştir. Ancak, bu yayından yola çıkarak, işitme kaybı ve tinnitusa yönelik intratimpanik deksametazon ile yapılan başka çalışmalarda buna benzer olumlu sonuçlar elde edilememiştir (123,125).

Barrs ve ark, intratimpanik kortikosteroid tedavisi için bazı kriterler önermişlerdir: endolenfatik kese cerrahisi veya destrüktif bir işlem istemeyen

hastalar, bilateral Meniere hastalığı olanlar, genel durumu kötü olan ve genel anestezi için uygun olmayan hastalar, tekrarlayan enjeksiyonlar için rızası olan hastalar (134,135).

Intractable Meniere hastalarında intratimpanik deksametazon tedavisi ile farklı araştırmalarda elde edilen sonuçlar tutarlı değildir. Yarar gören hastalarda semptomlar aylar içerisinde tekrarlamakta ve uygulamaların tekrarı gerekmektedir.

Kortikosteroidlerin bir diğer olası kullanım alanı, aminoglikozidlerin neden olduğu ototoksisitenin önlenmesidir. Bu konuda yapılan çalışmalar henüz yetersizdir. Silverstein ve ark, intratimpanik gentamisin tedavisi uyguladıkları ve işitmesinde anlamlı kötüleşme (saf ses ortalamalarında ≥ 10 dB veya konuşmayı ayırt etme skorunda ≥ 15 dB kötüleşme) meydana gelen hastalarda sistemik steroid (oral prednizon) tedavisini denemişler ve işitmede anlamlı iyileşme elde etmişlerdir (139).

Himeno ve ark tarafından gerçekleştirilen deneysel bir çalışmada, sistemik olarak uygulanan aminoglikozidlerin (kanamisin) meydana getirdiği kokleotoksisitenin önlenmesi için intrakoklear deksametazon infüzyonu uygulanmıştır (121). Çalışma olumlu sonuçlanmış ve kanamisinin neden olduğu kokleotoksisitenin, intrakoklear deksametazon infüzyonu ile önlenemediği saptanmıştır.

5. APOPTOZİS, OTOTOKSİSİTE VE TUNEL YÖNTEMİ

Apoptozis veya diğer adıyla programlı hücre ölümü, ilk olarak 1972 yılında Kerr ve ark tarafından bildirilmiştir (140). Tüm multisellüler organizmalar için önemli kontrollü fizyolojik bir proses olan apoptozis, morfolojik ve biokimyasal olaylar sonucunda hücrenin “intihar” etmesidir. Apoptozis, hücre ölümü ile proliferasyonu arasındaki dengeyi sağlayarak embriyogenezde ve normal doku homeostazisinin sağlanmasında merkezi rol oynar.

Hücre ölümü başlıca 2 yolla olur: apoptozis ve nekroz. Nekrozda hücre şişer, kromatin yoğunlaşır, hücrel ve nükleer lizis meydana gelir ve olayın ardından enflamasyon ortaya çıkar. Apoptozis sürecinde ise hücre büzülür, sitoplazma dansitesi artar, kromatin yoğunlaşır ve kısımlara ayrılır, plazma membranı buruşur (“tomurcuklanma”). Sonuçta hücre, hücre organelleri ve/veya nükleer materyalden oluşan, intakt plazma membranı ile çevrili apoptotik cisimlere bölünür (140-142). Apoptotik cisimler, herhangi bir enflamatuvar reaksiyon meydana gelmeden komşu hücreler ve özellikle makrofajlar tarafından fagosite edilir (140,141). Endojen kalsiyum- ve magnezyum-bağımlı endonükleazların aktivasyonu genellikle apoptotik prosese eşlik eder (140). Endonükleazların etkisi ile DNA, internükleozomal alanlarda bölünerek 180-200 bp boyunda fragmanlara ayrılır (143,144). DNA fragmentasyonu in situ koşullarda, Gavrieli ve ark tarafından tanımlanan, “Terminal deoksinükleotidil transferaz mediated dUTP Nick End Labeling” (TUNEL) yöntemi ile gösterilebilir (145). Bu yöntemde digoksjenin veya biotin ile işaretlenmiş dUTP, DNA fragmanının serbest 3'-OH ucuna enzimatik olarak bağlanır ve böylece apoptotik hücrelerde çok sayıda olan DNA fragmanları immunohistokimyasal olarak tespit edilir.

Apoptozis indüksiyonu ve prosesin devamı birçok gen ve onların protein ürünlerinin kontrolündedir. Ayrıca antineoplastik ajanlar gibi birçok sitotoksik ilaç ve radyasyon da olayı tetikleyebilir (140). Forge tarafından kronik aminoglikozid tedavisi sonrasında koklear dış tüylü hücrelerde

meydana gelen dejeneratif değişikliklerin, apoptotik süreçte saptanan morfolojik bulgulara çok benzediği ortaya atıldıktan sonra, aminoglikozidlere bağlı koklear hücre dejenerasyonunda apoptozisin etkili olduğu gündeme gelmiştir (146).

İç kulaktaki tüylü hücrelerin kaybı 2 şekilde meydana gelir: hücrenin epitelden ekstrüzyonu ile veya hücrenin epitel içerisinde dejenerasyonu ile (146-148). Etkilenen koklear hücrelerin kaybı, epitel içerisinde dejenerasyon ile olur (146,148). Aminoglikozidlere bağlı tüylü hücre dejenerasyonunda apoptozisin rol aldığı Nakagawa ve ark tarafından, guinea piglere sistemik kanamisin tedavisi uyguladıktan sonra, TUNEL yöntemi kullanılarak gösterilmiştir (143). Son dönemde Momiyama ve ark tarafından koklear doku kültürleri ile yapılan deneysel çalışmada, neomisinin neden olduğu kokleotoksistide koklear tüylü hücrelerin apoptozisinin indüklendiği aynı yöntem ile gösterilmiştir (144).

Farklı hücre tiplerinin apoptotik indüksiyona ve devamındaki sinyallere duyarlılığı farklıdır (140). Yapılan çalışmalarda dış tüylü hücrelerin iç tüylü hücrelere kıyasla daha kolay indüklendiği ve daha hassas olduğu saptanırken (143,144), destek hücrelerinde de apoptozis meydana geldiği bulunmuştur (143).

Raphael ve Altschuler, ilaca bağlı koklear hasar sonrasında etkilenen tüylü hücrelerin iyi kontrol edilen bir mekanizma ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (148). Böylece Korti organında herhangi bir kollaps meydana gelmediği ve genel yapının hasardan korunduğu dikkati çekmiştir. Nakagawa ve ark tarafından da desteklenen bu bulgular apoptozisin doğası ile uyumludur. Dolayısıyla apoptozis, ototoksik etki sonrasında Korti organının yapısal hasarının azaltılmasına katkıda bulunmaktadır (143).

Forge ve Li tarafından, gentamisine bağlı tüylü hücre ölümünde hem apoptozisin, hem nekrozun rol aldığı ortaya atılmıştır (149). İlaçların veya radyasyonun neden olduğu hücre ölümünde, çok yüksek ilaç veya radyasyon dozu genelde nekroza neden olurken, apoptozis daha düşük, ancak klinik olarak yeterli dozlarda tetiklenir (140). Benzer şekilde uygulanan gentamisin miktarının, tüylü hücre ölümünün apoptozis veya nekroz ile meydana

gelmesini etkilediği öne sürölmüştür (150). Programlı hücre ölümlü olan apopitozis enerji gerektirirken, nekrotik hücre ölümlü enerji gerektirmez. Apopitotik hücreler yeterli enerjiye sahip olmadığında veya ilaca bağlı toksik etki çok fazla olduğunda nekroz meydana gelir (150).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

1. GENEL BİLGİLER

Araştırma projemiz Celal Bayar Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından değerlendirildi ve 21.10.2004 tarihinde kabul edildi. Araştırma protokolü Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulları Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'na sunuldu ve kurul tarafından onaylandı.

Araştırmaya 22 adet, 18-24 aylık, erkek, Hartley soyu guinea pig dahil edildi. Kobayların ağırlıkları 500-700 gr aralığında saptandı. Kobaylar ve pellet şeklindeki hazır yemleri, üniversitemiz Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından temin edildi.

Kobaylar alındıktan sonra Tıp Fakültesi Dekanlığı'na bağlı Deney Hayvanları Laboratuvarı'na yerleştirildi. Hayvanların bakımı, laboratuvarda mevcut olan, 30x70 cm ve 35 cm yüksekliğinde, çelik telden imal edilmiş, tabanında ızgara bulunan, ortasından ikiye bölünmüş (her bir bölme 30x35x35 cm ölçülerinde) kafesler içinde sağlandı. Her bir kafes, kenarları 5 cm yüksekliğinde, emaye ince metal levhalardan yapılmış birer tepsi içerisine yerleştirildi. Böylece kafesin ızgara tabanı ile tepsi tabanı arasında 2 cm yüksekliğinde, atıkların birikebileceği bir boşluk kalması sağlandı. Tepsinin içerisine iri odun talaşı konarak, ıslaklık ve neme çok hassas olan kobayların altının kuru kalması sağlandı.

Her bölmeye birer tane konulan denekler, ağırlıklı olarak pellet şeklinde üretilmiş, uygun miktarda, hazır ticari gıdalarla beslendi. Daha önce bahsedildiği gibi özel olarak üretilen bu yemlerde gerekli oranda C vitamini mevcuttur ve ek gıdaya gerek yoktur. Vitamin takviyesi amacıyla günde en az

bir kez olmak üzere havuç, salatalık, marul, karpuz kabuğu, taze ve kuru ot gibi besinler verildi.

Kemirgen olan kobayların 10 üstte ve 10 altta olmak üzere 20 dişi vardır. Üst ve alt insisiv dişler diğerlerinden belirgin olarak uzundur. Kobaylara düzenli olarak kemirmesi için gıdalar (havuç, salatalık, karpuz kabuğu vb) verilmelidir veya yaşadığı ortamda tahta parçacıkları gibi maddeler bulundurulmalıdır. Aksi halde zamanla insisiv dişler uzamakta ve maloklüzyon meydana gelmektedir.

Pellet yem ve su, kuş kafeslerinde kullanılan yemlik ve suluklarda verildi. Su, günde 2 kez değiştirilmek üzere, bol miktarda sağlandı.

Kafesler, tepsileri, yemlikler ve suluklar haftada 2 kez yıkanarak temizlendi.

Kobayların bulunduğu mekan günde en az bir kez havalandırıldı, ortam ısısının 20°C ve üzerinde kalması sağlandı. 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ortamın aydınlatılmasına dikkat edildi.

Araştırmaya başlamadan önce tüm guinea piglere genel anestezi altında otomikroskopik muayene uygulanarak, dış kulak yolu ve timpanik membranların doğal olduğu kontrol edildi. Araştırma boyunca genel anestezi, intraperitoneal olarak uygulanan, birbiri ile karıştırılmış 10 mg/kg xylazine HCl (Alfazyne %2 Enjektabl, Alfasan, Woerden, Hollanda) ve 100 mg/kg ketamin HCl (Alfamine %10 Enjektabl, Alfasan, Woerden, Hollanda) ile sağlandı. Bu yöntem ile enjeksiyon sonrasında yaklaşık 90-120 dakikalık genel anestezi sağlanmaktadır. Otomikroskopik muayene ve uygulamalar operasyon mikroskobu ile gerçekleştirildi (Möller-Wedel Spectra 500, Rosengarten, Germany).

Araştırma kapsamındaki 22 guinea pig 7 farklı gruba ayrıldı:

- ▣ KONTROL Grubu: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup (2 kobay)
- ▣ SF Grubu : İntratimpanik olarak serum fizyolojik uygulanan grup (2 kobay)
- ▣ N Grubu : İntratimpanik olarak neomisin uygulanan grup (2 kobay)
- ▣ TDG Grubu : İntratimpanik olarak tek doz gentamisin uygulanan grup (4 kobay)

- MDG Grubu : İntratimpanik olarak multidoz gentamisin uygulanan grup (4 kobay)
- TDG+D Grubu : İntratimpanik olarak tek doz gentamisin + deksametazon kombinasyonu uygulanan grup (4 kobay)
- MDG+D Grubu : İntratimpanik olarak multidoz gentamisin + deksametazon kombinasyonu uygulanan grup (4 kobay)

2. İNTRATİMPANİK UYGULAMA

İntratimpanik uygulamalar rutin olarak genel anestezi altında uygulandı. İndüksiyon sonrasında 15-20 dk beklendi ve ardından uygulama yapılması planlanan guinea pig sırtüstü yatırılarak başı karşı kulağına doğru çevrildi. Dış kulak yoluna uygun boyda spekulum yerleştirildikten sonra, tüberkülin enjektörüne alınan ilaç 28-gauge (0.40x38 mm) iğne ile, operasyon mikroskobu ile sağlanan mikroskopik görüş altında, intratimpanik olarak, timpanik kavite doldurulacak şekilde (yaklaşık 0.20-0.30 ml) enjekte edildi. Enjeksiyon sonrasında kobayın, uygulama yapılan kulağı üstte kalacak şekilde, 30 dk yan yatması sağlandı. Bekleme süresi sonrasında aynı işlem diğer kulak için tekrarlandı.

Uygulama sona erdikten sonra kobay, anestezinin etkisi tamamen geçene kadar gözlem altında tutuldu ve ardından kafesine bırakıldı.



Resim 7. İntratimpanik uygulama

3. GRUPLAR

KONTROL Grubu: Bu kontrol grubu, herhangi bir uygulama yapılmayan 2 kobaydan oluşturuldu. Kokleaların 3 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, bir tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

SF Grubu: Bu gruptaki 2 guinea pigin her iki kulağına multidoz (5 gün arka arkaya) serum fizyolojik uygulandı. Kokleaların 3 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, bir tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

N Grubu: Bu gruptaki 2 guinea pigin her iki kulağına multidoz (5 gün arka arkaya) neomisin sülfat (Cebemyxine sol, Chauvin, Fransa) uygulandı. Kokleaların 3 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, bir tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

TDG Grubu: Bu gruptaki 4 kobayın her iki kulağına tek doz gentamisin sülfat (Genta amp, 40 mg/ml, İE Ulagay) uygulandı. Kokleaların 5 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, 3 tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

MDG Grubu: Bu gruptaki 4 kobayın her iki kulağına multidoz (5 gün arka arkaya) gentamisin sülfat uygulandı. Kokleaların 5 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, 3 tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

TDG+D Grubu: Bu gruptaki 4 kobayın her iki kulağına tek doz gentamisin sülfat bire bir oranında deksametazon fosfat (24 mg/ml) ile karıştırılarak uygulandı. Kokleaların 5 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, 3 tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

Deksametazon fosfat, DEVA İlaç Firması tarafından, toz şeklinde aktif etken madde olarak "Dexamethasone 21 sodium phosphate" halinde, 141190 analiz numarası ve Lot=04V0485B1 kodu ile temin edildi. Etken madde her uygulama öncesinde, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji

Anabilim Dalı tarafından, distile su içerisinde çözünerek 24 mg/ml konsantrasyonda hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan deksametazon fosfat 4-6 saat içerisinde uygulandı ve sonraki uygulamalar için yeniden hazırlandı.

MDG+D Grubu: Bu gruptaki 4 kobayın her iki kulağına multidoz (5 gün arka arkaya) gentamisin sülfat bire bir oranında deksametazon fosfat ile karıştırılarak uygulandı. Kokleaların 5 tanesi ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak incelenirken, 3 tanesi elektron mikroskopik olarak incelendi.

4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

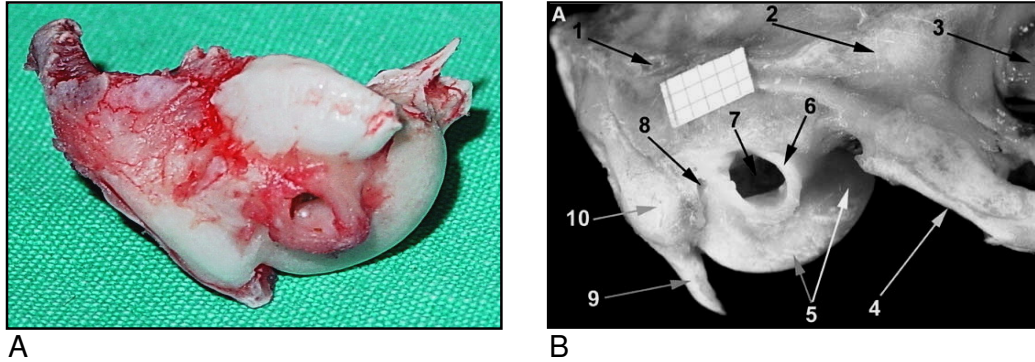
Son intratimpanik uygulamadan sonra (bazı gruplarda tek uygulama) guinea piglerin 14 gün boyunca, yukarıda belirtilen koşullarda, bakımı sağlandı. 15. gün intraperitoneal olarak uygulanan xylazine + ketamin karışımı ile anestezi sağlandıktan sonra otomikroskopik muayene yapılarak herhangi bir enfeksiyon bulgusu olmadığı kontrol edildi. Ardından aynı karışımının intrakardiyak enjeksiyonu ile kobaylar sakrifiye edildi. Temporal kemik disseksiyonları, koklea ve iç kulak yapılarına hızlı erişim sağlayacak bir teknik ile gerçekleştirildi.

Disseksiyon tekniği: Disseksiyon öncesinde kobayın kafatasında orta hatta bulunan tüyler traşlanır. Kafatası derisine orta hatta, sagittal planda, orbitaları birleştiren hayali hat seviyesinden vertebralara kadar uzanan, deri, derialtı ve periostu geçen insizyon oluşturulur. Böylece temporal kaslar, frontal ve parietal kemikler ortaya konulur.



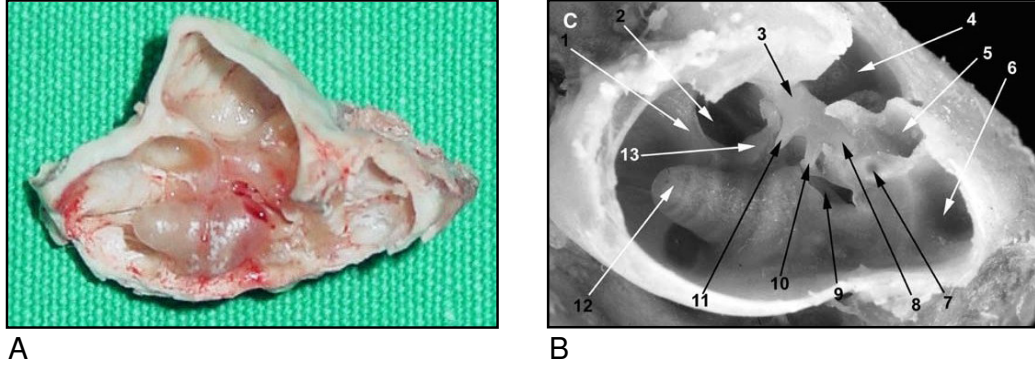
Resim 8. Kobay kafatasının ortaya konması

İnsizyonun ardından, bir taraftaki temporal kas ve periost önce parietal kemiğin, ardından temporal kemiğin skuamöz parçasının üzerinden eleve edilir. Aurikula laterale ekarte edilerek kıkırdak dış kulak yolu, keskin disseksiyon ile, timpanik halkadan ayrılır. Subperiosteal planda kas dokularının elevasyonuna devam edilerek, temporal kemiğin mastoid ve timpanik parçaları (bulla) ortaya konulur. Bundan sonraki aşamada mastoid parça oksipital kemikten; skuamöz parça parietal, frontal, palatin ve etmoid kemiklerden; bulla oksipital ve sfenoid kemiklerden; petröz parça sfenoid kemikten disseke edilir. Ortaya konan VII. ve VIII. kranial sinirlerin ekstratemporal kısımları kesildikten sonra temporal kemik, çevre kas dokularından da disseke edilerek kafatasından ayrılır.



Resim 9. Guinea pig temporal kemiği (A) ve sağ temporal kemiğin lateral yüzü (B) (22). B: 1.temporal kanal açıklığı 2.temporal skuama 3.orbita alt duvarı 4.zigomatik ark 5.ventral timpanik bulla 6.timpanik halka 7.dış kulak yolu 8.stilomastoid foramen 9.parakondilar proses 10.mastoid proses

Timpanik halka, dış kulak yolu, timpanik membran ve bullanın lateral duvarı disseke edildikten sonra timpanik kavite ortaya konulur. Böylece kavite içerisine projekte olan koklea görünür hale gelir.



Resim 10. Lateral duvarı ve malleoinkudal kompleksi disseke edilmiş guinea pig temporal kemiği (A) ve sol timpanik kavitenin medial yüzü (B) (22). B: 1.kokleayı timpanik kavitenin medial duvarına fikse eden kemik lamina 2.ventral timpanik bulla 3.malleus başı 4.dorsal timpanik bulla 5.mastoid proses havalı hücreleri 6.ventral timpanik bullanın mastoid parçası 7.fasial sinir 8.inkusun kısa kolu 9.oval ve yuvarlak pencereleri sınırlayan kemik niş 10.inkudostapedial eklem 11.manubrium mallei 12.kokleanın apeksi 13.tensor timpani kasının kemik kapsülü

Bu aşamadan sonra koklea ve kemik labirentin hasarlanmamasına dikkat edilerek gereksiz kemik dokular disseke edilir.

Işık mikroskopik olarak incelenmesi planlanan koklealar %10 formalin çözeltisine, elektron mikroskopik olarak incelenmesi planlanan koklealar %2.5 gluteraldehit fosfat çözeltisine konuldu.

Işık mikroskopik olarak incelenmesi planlanan koklealar %10 formalin çözeltisinde 24 saat tespit edildi. 0.1M EDTA (etilen diamin tetra-asetik asit) çözeltisinde 3 hafta süreli dekalsifikasyon işleminden sonra dokular, derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidrate edildi. Dehidrate edilen dokular, ksilen ile şeffaflaştırıldıktan sonra, parafine gömülerek rutin parafin takip protokolü tamamlandı (Tablo 4).

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
Tespit	%10 formalin	24 saat
Dekalsifikasyon	0.1M EDTA	3 hafta
Dehidratasyon	%50 alkol	½ saat
	%60 alkol	½ saat
	%70 alkol	½ saat
	%80 alkol	½ saat
	%90 alkol	½ saat
	%95 alkol	1 saat
	%95 alkol	1 saat
	%100 alkol	1 saat
Şeffaflaştırma	Alkol : Ksilen	½ saat
	Ksilen	½ saat
	Ksilen	½ saat
Emdirme (% 60°C etüv)	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
Gömme	Parafin	

Tablo 4. Parafin takip protokolü

Elde edilen parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler alınarak, deparafinize ve rehidrate edildikten sonra, Hematoksilen–Eosin boyası ile boyandı ve Olympus BX–40 ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Işık mikroskopik inceleme sonrasında parafin bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı ve DeadEnd Colorimetric TUNEL System (Cat.#G7132, Lot#193645, Promega Corporation, Madison, WI, USA) kiti ile TUNEL yöntemi uygulanarak (Tablo 5) immunohistokimyasal inceleme için hazırlandıktan sonra Olympus BX–40 ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Işık mikroskopik ve immunohistokimyasal inceleme Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
Deparafinizasyon	60 °C etüv	24 saat
Deparafinizasyon	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
Rehidratasyon	%95 alkol	2 dakika
	%80 alkol	2 dakika
	%70 alkol	2 dakika
	%60 alkol	2 dakika
Yıkama	Distile su	10 dakika
Dokuların etrafını çizme	Dakopen	
Yıkama	PBS	3x5 dakika
	%4 paraformaldehit	15 dakika
Yıkama	PBS	3x5 dakika
	Proteinaz K solusyonu	10 dakika
Yıkama	PBS	3x5 dakika
	%4 paraformaldehit	5 dakika
Yıkama	PBS	3x5 dakika
Tamponlama	Equilibration tampon solusyonu	5 dakika
Primer antikor	Ensim solusyonu	37 °C'de 1 saat
	SSC solusyonu	10 dakika
Yıkama	PBS	3x5 dakika
	%3 hidrojen peroksit	5 dakika
Yıkama	PBS	3x5 dakika
	Streptavidin HRP	30 dakika
Yıkama	PBS	3x5 dakika
Boyama	DAB boyası	10 dakika
Yıkama	Distile su	10 dakika
Zit boyama	Mayer's Hematoksilen	4 dakika

Tablo 5. TUNEL yöntemi takip protokolü

Elektron mikroskopik olarak incelenmesi planlanan koklealar %2.5 gluteraldehit fosfat tamponunda 4°C'de 24 saat tespit edildi. 0.1M EDTA çözeltisinde 3 hafta süreli dekalsifikasyon işleminden sonra sırasıyla Tablo 6'da görülen işlemler uygulanarak elektron mikroskop takip protokolü tamamlandı.

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
1. Tespit	%2.5 gluteraldehit fosfat	4°C'de 24 saat
Dekalsifikasyon	0.1M EDTA	3 hafta
2. Tespit	%1 osmium tetroksit	4°C'de 1 saat
Dehidratasyon	%50 alkol	15 dakika
	%60 alkol	15 dakika
	%70 alkol	15 dakika
	%80 alkol	15 dakika
	%90 alkol	15 dakika
	%95 alkol	15 dakika
	%95 alkol	15 dakika
	%100 alkol	30 dakika
	%100 alkol	30 dakika
İnfiltrasyon	Propilen oksit	30 dakika
	Propilen oksit + karışım (1:1)	30 dakika
	Propilen oksit + karışım (1:3)	120 dakika
	Saf karışım	24 saat
Gömme	Gömme materyali	
Karışım	Araldite CY 212 20 ml	
	DDSA 22 ml	
	BDMA 1.1 ml	
	Dibutilphtalate 0.5 ml	

Tablo 6. Elektron mikroskop takip protokolü

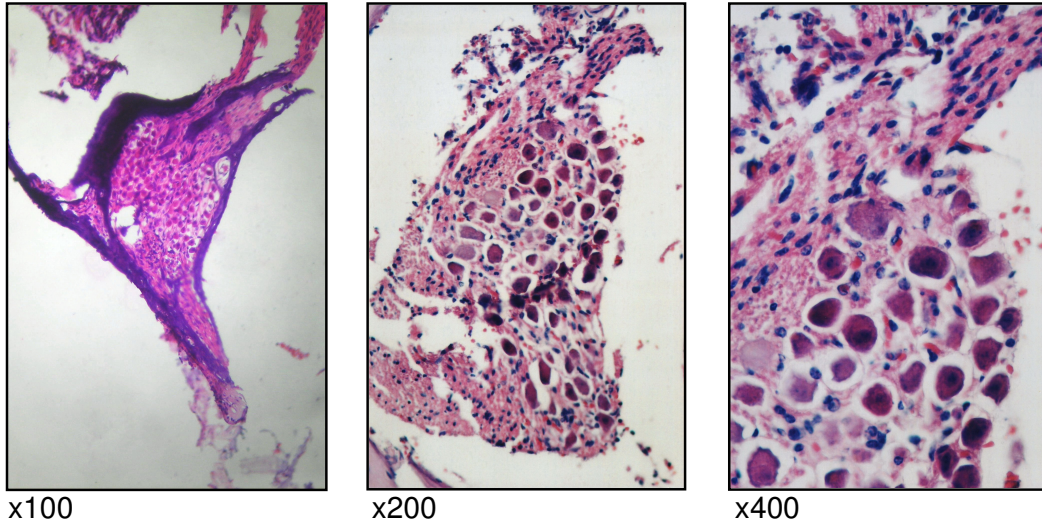
Dokular bu şekilde hazırlandıktan sonra alınan yarı ince kesitler Toluidin mavisi–Azür II boyası ile boyanarak ışık mikroskopik olarak değerlendirildi. Leica Ultracut UCT ultramikrotom ile alınan ince kesitler, Uranil asetat–Kursun sitrat ile kontrastlama yapıldıktan sonra, Zeiss 900 transmisyon elektron mikroskobu (TEM, Zeiss, Germany) ile incelendi. Elektron mikroskopik inceleme Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Teknik yetersizlikten dolayı çalışma kapsamında kobaylardan elde edilen temporal kemik preparatlarında sadece kokleotoksisite değerlendirilebildi. Vestibülotoksisiteye yönelik histopatolojik inceleme yapılamadı.

IV. BULGULAR

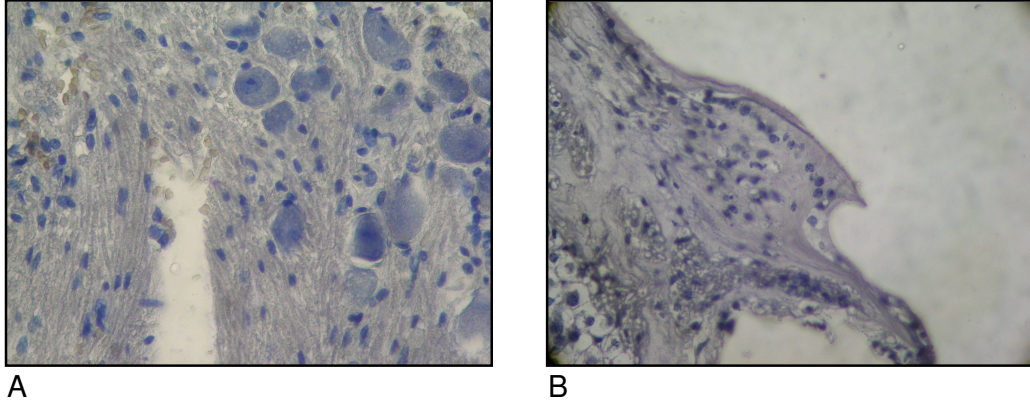
KONTROL Grubu:

Kontrol grubundan alınan Hematoksilen–Eosin boyalı preparatların ışık mikroskopik değerlendirmesinde genel yapının normal histolojik görünümde olduğu izlendi. Spiral ganglion hücrelerinin eukromatik nükleus ve belirgin nükleolus içerdiği, sitoplazmik yapının bazofilik boyanma özelliğinde olduğu görüldü. Satellit hücrelerin görünümü normal olarak değerlendirilirken, ödem ve enflamatuar hücre [=polimorfonükleer lenfosit (PNL)] infiltrasyonuna rastlanmadı. Spiral limbusu hücrelerinin dizilimi normal olarak değerlendirildi (Resim 11).



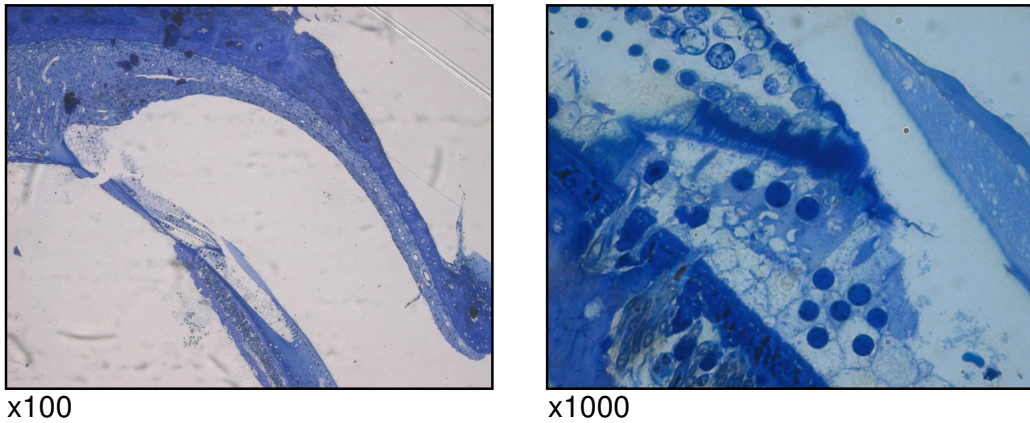
Resim 11. Kontrol grubundan alınan Hematoksilen–Eosin ile boyalı ışık mikroskopik koklea görüntüleri.

Bu gruba ait kesitlerin TUNEL yöntemi ile hazırlanan preparatlarında pozitif boyanma gösteren hücre gözlenmedi (Resim 12).



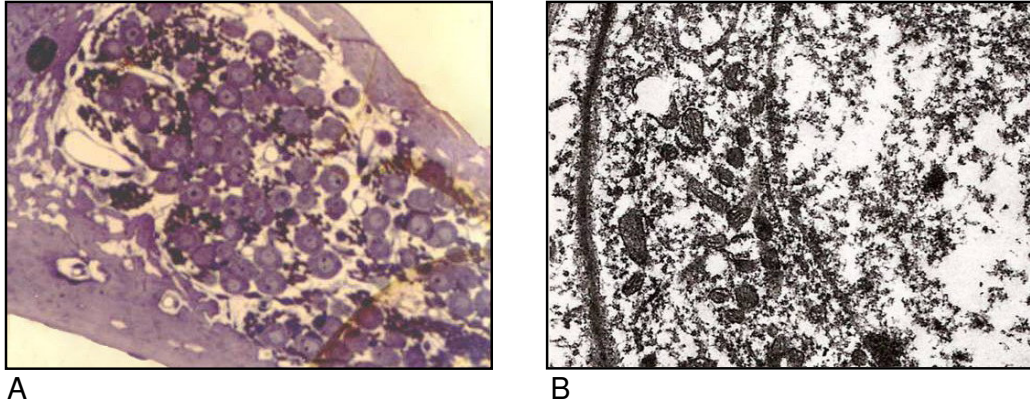
Resim 12. Kontrol grubundan alınan ve TUNEL yöntemi uygulanan spiral ganglion (A) ve spiral limbus (B) görüntüleri (x400, Artalan boyası: Mayer's Hematoksilen).

Kontrol grubunun Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntülerinde dış tüylü hücrelerin uzantıları normal yapıda, hücre nükleusları ve nükleolusları belirgin, sitoplazma dansitesinin normal olduğu gözlemlendi. Tektorial membran, destek hücrelerin nükleusları ve sitoplazmik yapıları doğal olarak izlenirken, hemen yakın komşulukta normal yapı ve çapta aksonlar saptandı (Resim 13).



Resim 13. Kontrol grubundan alınan Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntüleri.

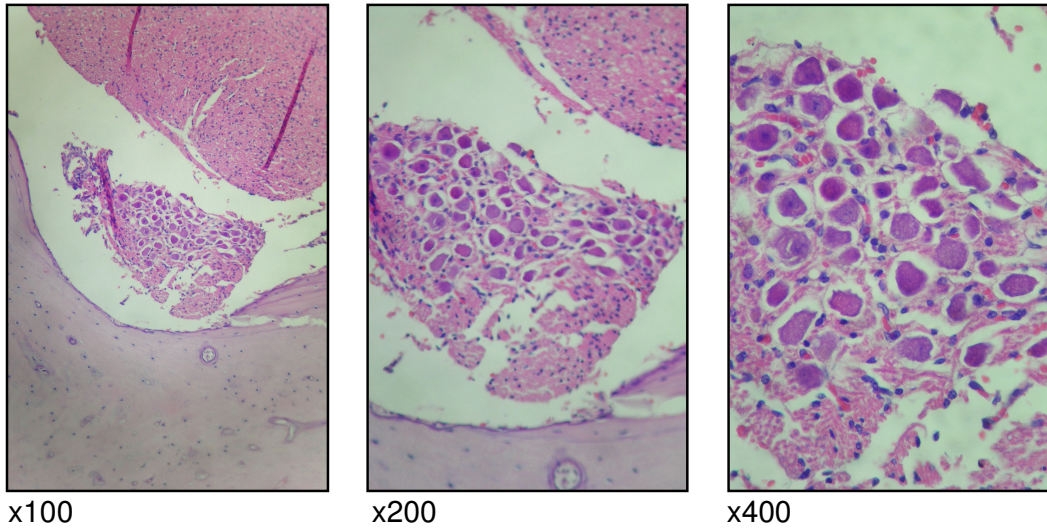
Bu gruba ait Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik ve Uranil asetat–Kursun sitrat boyalı ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion görüntülerinde normal ganglion yapısı izlendi (Resim 14).



Resim 14. Kontrol grubuna ait Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik (A, x200) ve Uranil asetat–Kursun sitrat boyalı ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

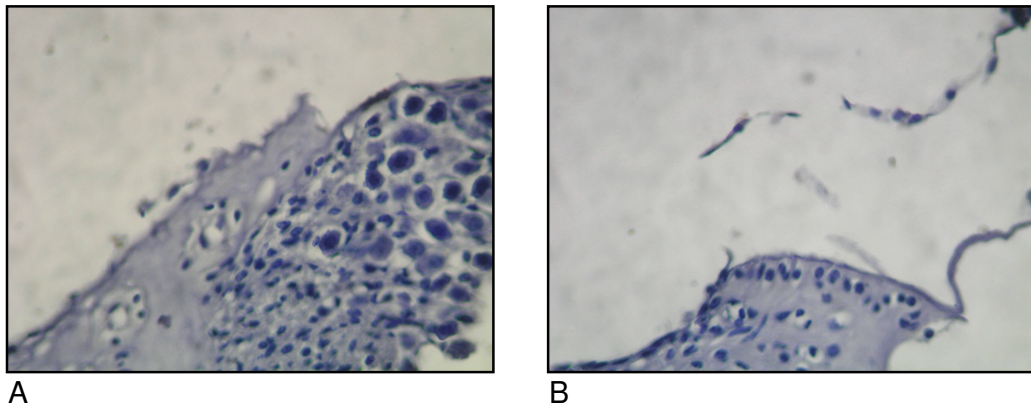
SF Grubu:

Bu gruptan alınan Hematoksilen–Eosin boyalı preparatların ışık mikroskopik değerlendirmesinde genel yapının normale yakın histolojik görünümde olduğu görüldü. Spiral ganglion hücrelerinin nukleus, nukleolus ve sitoplazma görünümlerinin doğal olduğu gözlenirken, bir kokleadan alınan preparatların incelenmesinde spiral ganglion hücrelerinde saptanan ödem, sitoplazma, akson ve myelin değişikliklerinin tamamı minimal olarak değerlendirildi. Satellit hücrelerin görünümü normal olarak değerlendirilirken, yer yer hafif ödem izlendi. Spiral limbusu oluşturan hücrelerin diziliminin kontrol grubuna benzer olduğu saptandı (Resim 15).



Resim 15. Serum fizyolojik uygulanan gruptan alınan koklea görüntüleri.

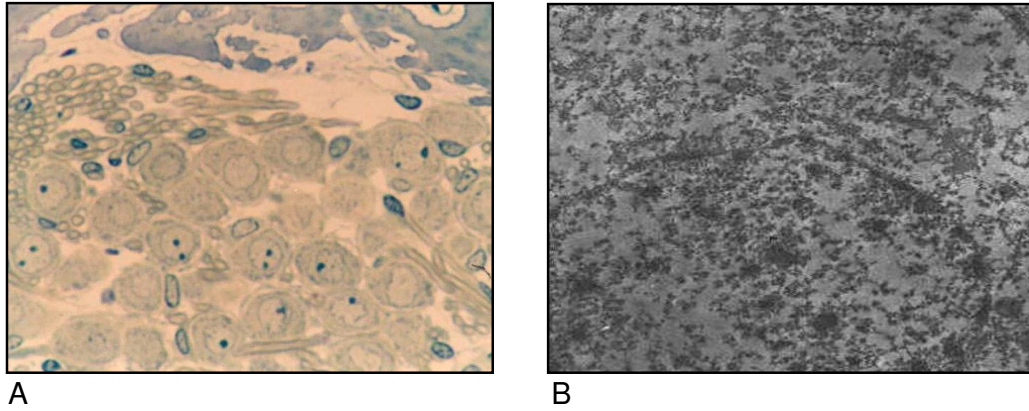
TUNEL yöntemi ile hazırlanan preparatlarda apoptotik hücre saptanmadı (Resim 16).



Resim 16. Serum fizyolojik verilen gruptan alınan ve TUNEL yöntemi uygulanan spiral ganglion (A) ve spiral limbus (B) görüntüleri (x400).

Yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntülerinde hücre nükleusları ve nükleolusları doğal görünümde bulunurken, bir kokleadan

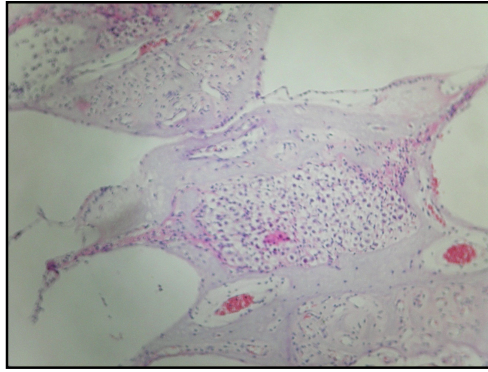
alınan preparatlarda minimal ödem ve sitoplazma değişikliği izlendi. Destek hücrelerinin ve yakın komşuluktaki aksonların normal yapıda olduğu saptandı. Yarı ince kesit ışık mikroskopik ve ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion kesitlerinde normale yakın ganglion yapısı izlendi (Resim 17).



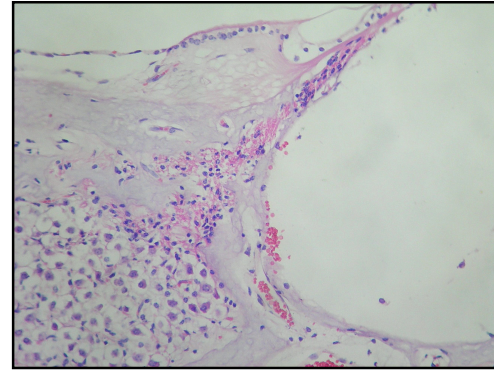
Resim 17. Serum fizyolojik verilen gruba ait yarı ince kesit (A, x200) ve ince kesit spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

N Grubu:

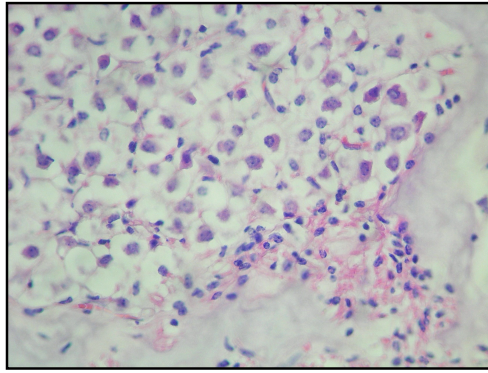
Hematoksilen–Eosin boyalı preparatların ışık mikroskopik incelemesinde kokleada ciddi toksisite bulguları saptandı. Spiral limbus ve spiral ganglionda etkilenmenin fazla olduğu dikkati çekerken, ganglion hücrelerinde ödem, asidofili artışı, büzüşme, nükleusta piknoz gibi bulgular gözlemlendi. Satellit hücrelerinde dağılmanın yanı sıra enflamatuar hücre infiltrasyonu izlendi. En çok etkilenen grup olduğu belirlendi. Spiral limbus hücrelerinde dağılma, hücre düzeninde bozulma ve hücrelerde boy kısalması meydana geldiği görüldü (Resim 18).



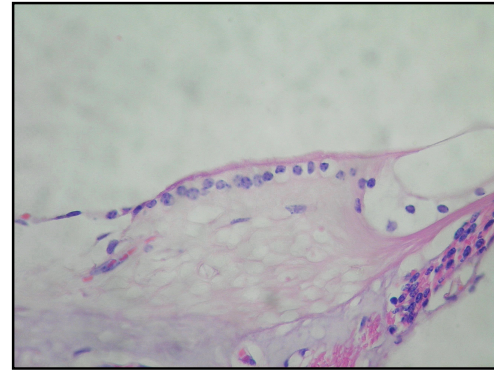
x100



x200



x400



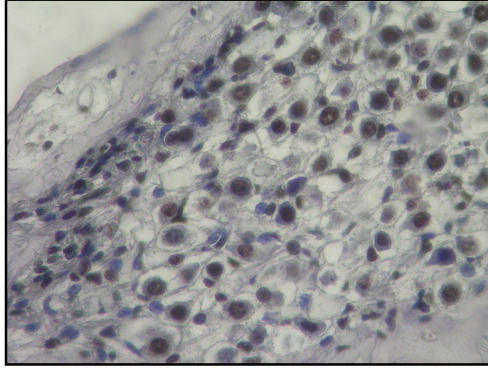
x400

Resim 18. Neomisin uygulanan gruba ait koklea görüntüleri.

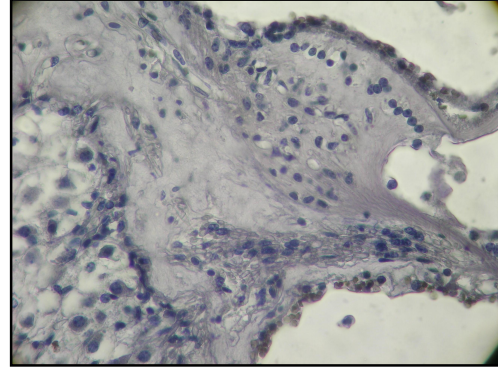
TUNEL yöntemi ile hazırlanan kesitlerde gerçekleştirilen immunohistokimyasal değerlendirmede, spiral ganglionda ve spiral limbusta çok sayıda pozitif boyanma gösteren (apoptotik) hücre izlendi (Resim 19).

Yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntülerinde tüylü hücrelerin sitoplazma dansitesinin belirgin olarak arttığı, hücre ve nukleus membranlarının belirginliğini kaybettiği ve retiküler laminanın belirgin olarak incelendiği görüldü. Destek hücrelerinin nukleus, nukleolus ve sitoplazmik yapılarının bozulduğu, sitoplazmaları içerisinde geniş vakuoller bulunduğu izlendi. Hücrelerin ödemli olduğu dikkati çekerken, yağlı dejenerasyon bulgusu olarak iri lipid damlacıkları içerdikleri gözlemlendi. Yakın komşuluktaki sinir liflerine ait aksonlarda belirgin incelmeye ve myelin kaybı saptandı. Yarı ince kesit ışık mikroskopik ve ince kesit transmisyon elektron mikroskopik

spiral ganglion kesitlerinde hücrelerde ödem ve nukleus piknozu izlendi (Resim 20).



A



B

Resim 19. Neomisin verilen gruba ait ve TUNEL yöntemi uygulanan spiral ganglion (A) ve spiral limbus (B) görüntüleri (x400).



A

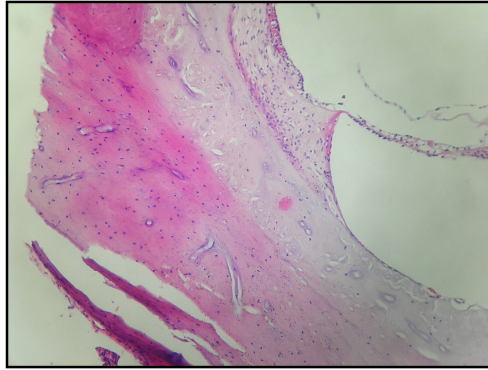


B

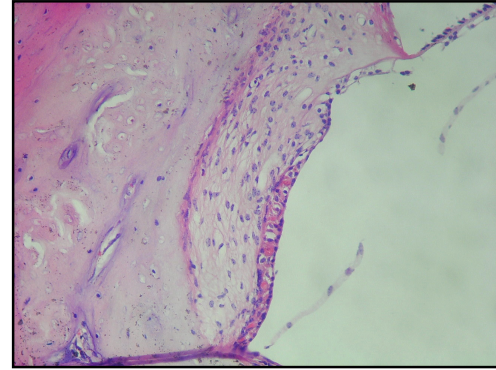
Resim 20. Neomisin uygulanan gruba ait yarı ince kesit (A, x200) ve ince kesit spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

TDG Grubu:

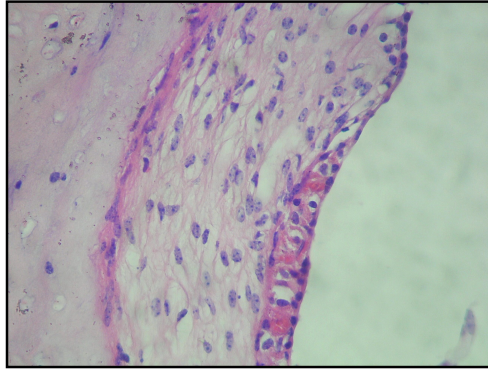
Hematoksilen–Eosin boyalı preparatların ışık mikroskobu altında değerlendirilmesinde, kokleada, N ve MDG gruplarına göre kısmen daha az olan toksisite bulguları saptandı. Spiral ganglion hücrelerinde ödem, hücrelerde asidofili artışı, büzüşme, nukleusta piknoz, enflamatuar hücre infiltrasyonu, satellit hücrelerinde dağılma gibi bulguların daha hafif olarak bulunduğu görüldü. Spiral limbus hücrelerinde dağılma, hücre düzeninde bozulma ve hücrelerin boylarında kısalma izlendi (Resim 21).



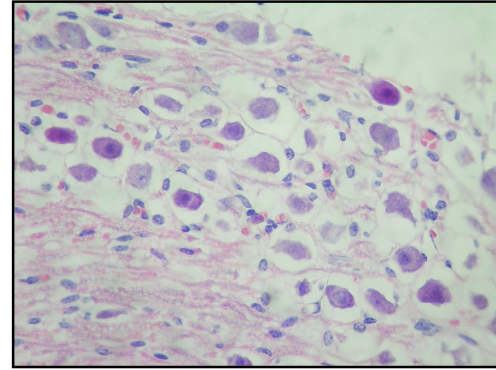
x100



x200



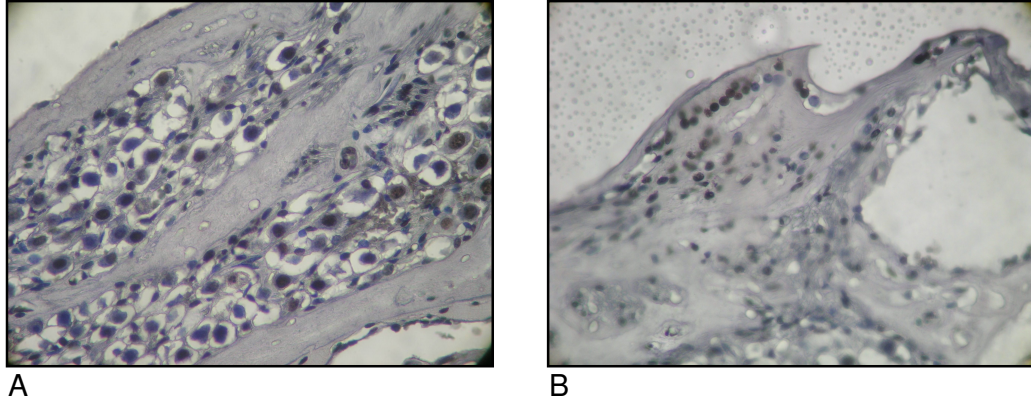
x400



x400

Resim 21. Tek doz gentamisin uygulanan gruba ait koklea görüntüleri.

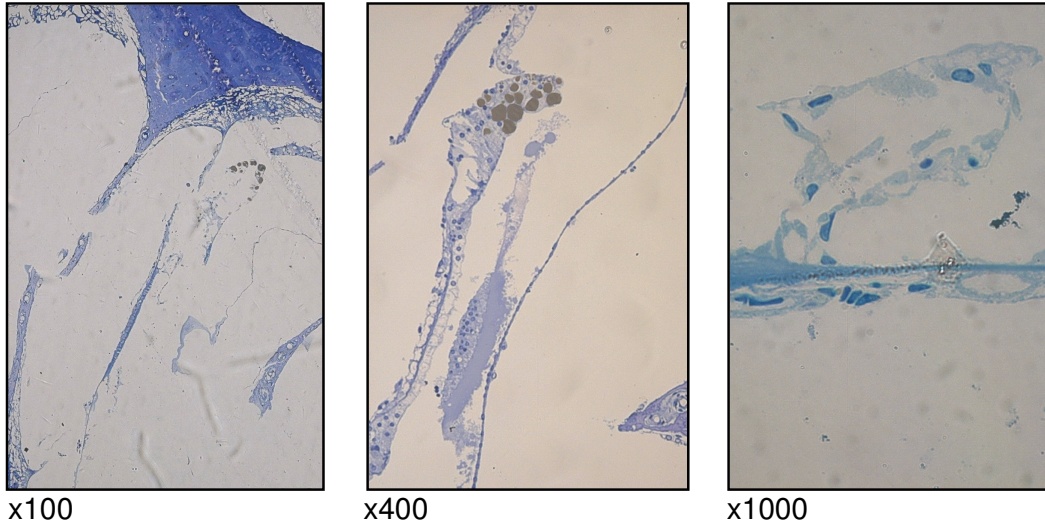
TUNEL yöntemi ile hazırlanan preparatlarda spiral limbusta ve spiral ganglionda apoptotik hücreler görüldü (Resim 22).



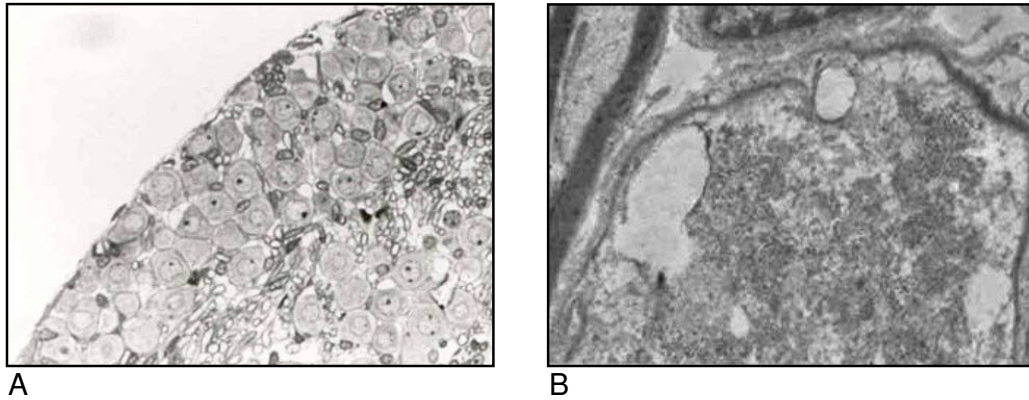
Resim 22. Tek doz gentamisin uygulanan grubun immunohistokimyasal olarak boyanmış preparatlarında spiral ganglion (A) ve spiral limbusta (B) görüntüleri (x400).

Yarı ince kesitlerde Korti organının ışık mikroskopik değerlendirmesinde, tüylü hücrelerde belirgin ödem ve yer yer sitoplazma bütünlüğünün kaybı izlendi. Bazı kesitlerde retiküler laminayı oluşturan destek hücrelerinin apikal kısmı ve tüylü hücrelerin uzantıları izlenebilmekle beraber, bazal laminadan oldukça uzaklaşmış oldukları saptandı. Tüylü hücrelere komşu destek hücrelerinde vakuolizasyon ve aşırı ödem görüldü. Birçok hücrenin sitoplazmik bütünlüğünü kaybetmiş olduğu gözlemlendi. Aralarında yer yer makrofaj benzeri infiltratif hücreler görüldü. Bazı hücrelerin içerisinde lipid damlacıklarına rastlandı. İzlenen sinir liflerinin aksonlarında ödem, myelinde incelme dikkati çekti (Resim 23).

Yarı ince kesit ışık mikroskopik ve ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion kesitlerinde hücre ödemi, nükleusta piknoz, sitoplazmik vakuoller gibi patolojik bulgular saptandı (Resim 24).



Resim 23. Tek doz gentamisin uygulanan gruba ait Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntüleri.

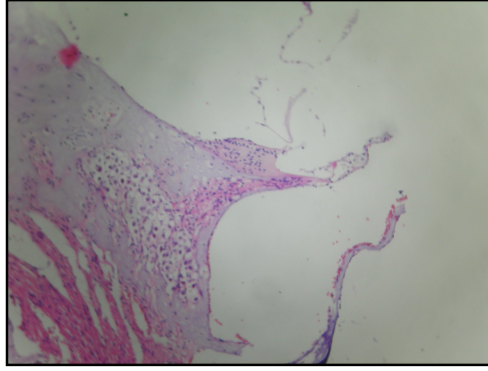


Resim 24. Tek doz gentamisin grubuna ait yarı ince kesit (A, x200) ve ince kesit spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

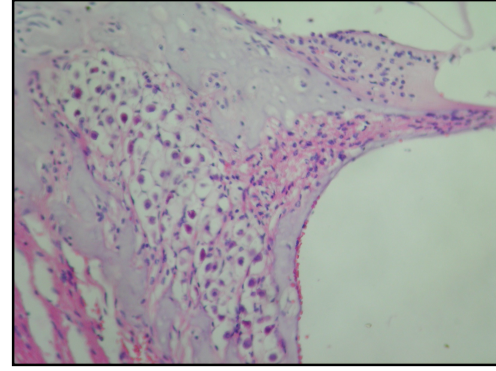
MDG Grubu:

Hematoksilen–Eosin boyalı preparatların ışık mikroskopik incelemesinde, N grubuna benzer şekilde şiddetli toksisite bulguları izlendi. Spiral ganglion hücrelerindeki ödem, büzüşme, asidofili artışı, nukleus piknozu bulgularının belirgin olduğu, satellit hücrelerin ciddi harabiyeti ve hücreler arasında belirgin enflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. Spiral

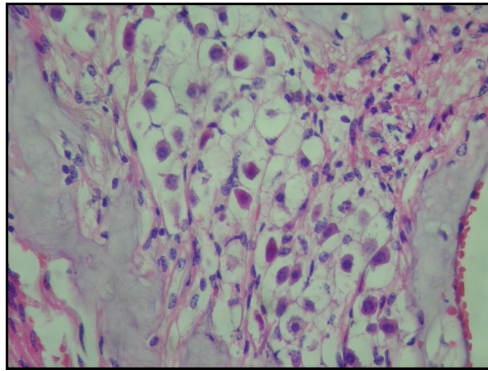
limbus hücrelerinin düzeninde bozulma, hücrelerde ödem ve kısalma görüldü (Resim 25).



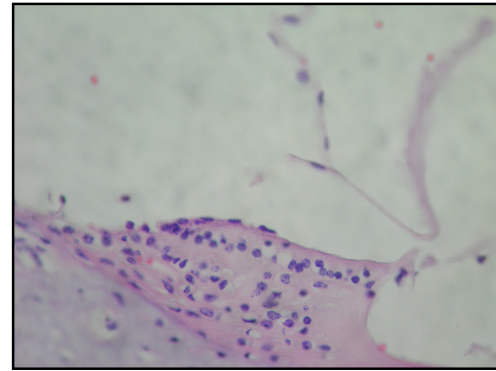
x100



x200



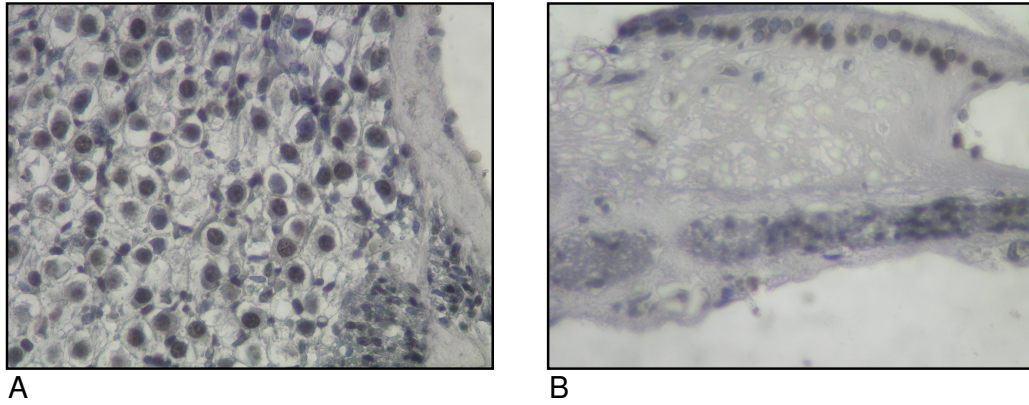
x400



x400

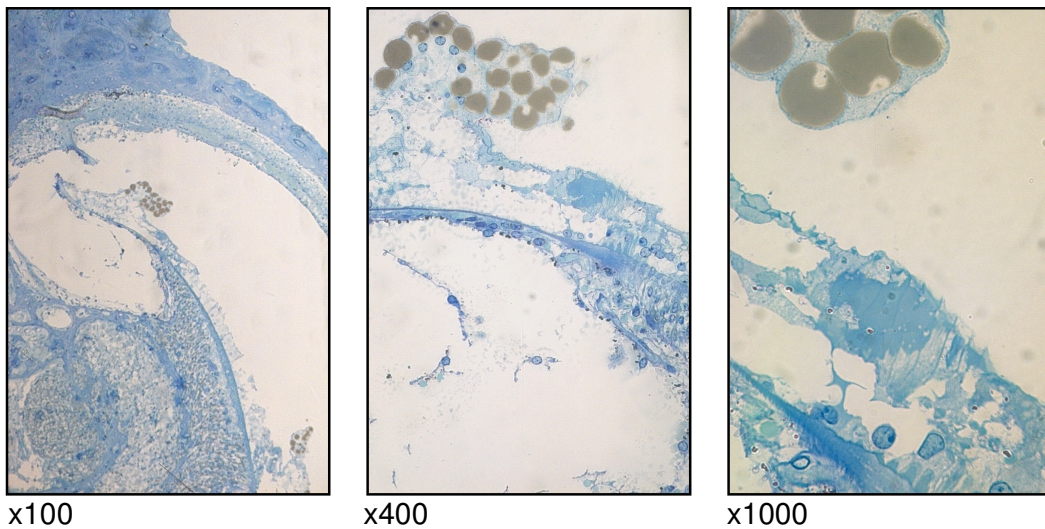
Resim 25. Multidoz gentamisin uygulanan gruba ait koklea görüntüleri.

TUNEL yöntemi ile hazırlanan kesitlerin değerlendirilmesinde çok sayıda apoptotik hücre izlendi (Resim26).



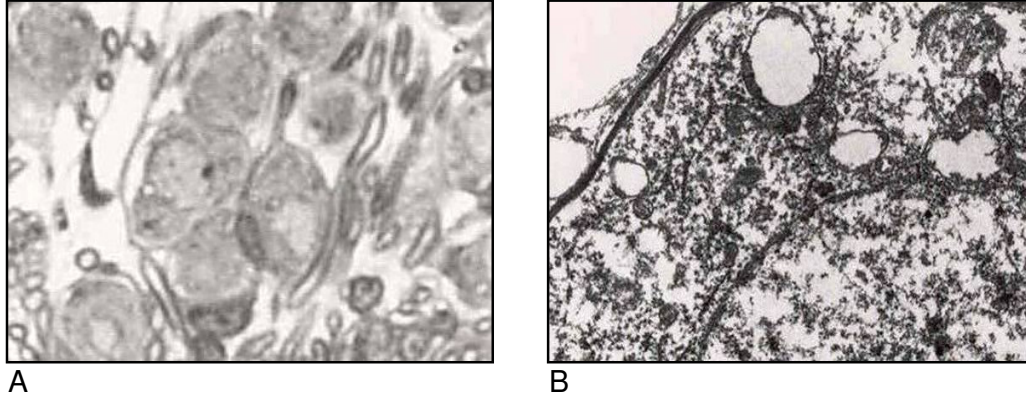
Resim 26. Multidoz gentamisin uygulanan grubun immunohistokimyasal olarak boyanmış preparatlarında spiral ganglion (A) ve spiral limbus (B) görüntüleri (x400).

Grubun yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntülerinde tüylü hücrelerde sitoplazmik dansite artışı, hücre ve nukleus membranlarında düzensizlik, retiküler laminada incelme, destek hücrelerde nukleus, nukleolus ve sitoplazma değişikliklerinin yanı sıra sitoplazma içerisinde geniş vakuoller saptandı. Hücrelerde şiddetli ödem ve iri lipid damlacıkları gözlemlendi. Sinir lifi aksonlarının incelmesi görüldüğü gibi, myelinde kayıp izlendi (Resim 27).



Resim 27. Multidoz gentamisin uygulanan gruba ait Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntüleri.

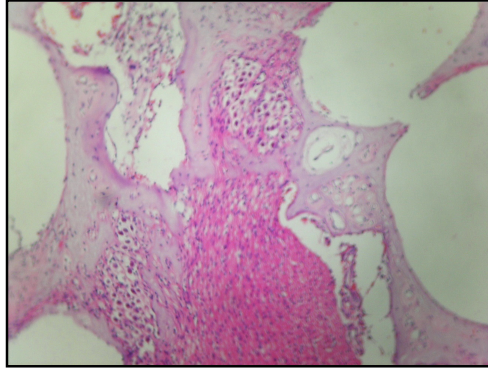
Gruba ait yarı ince kesit ışık mikroskopik ve ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion kesitlerinde hücre ödemi ve nukleusta piknoz gibi patolojik bulgular TDG grubuna kıyasla daha belirgin olarak izlenirken, geniş sitoplazmik vakuoller dikkati çekti (Resim 28).



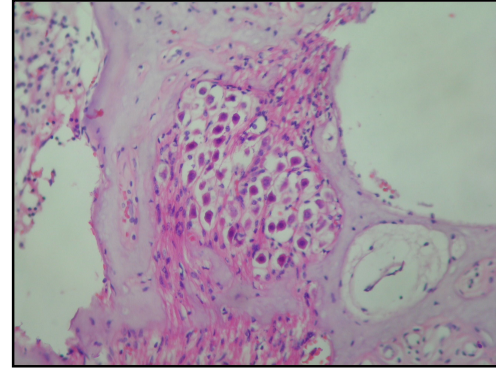
Resim 28. Multidoz gentamisin grubuna ait yarı ince kesit (A, x200) ve ince kesit spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

TDG+D Grubu:

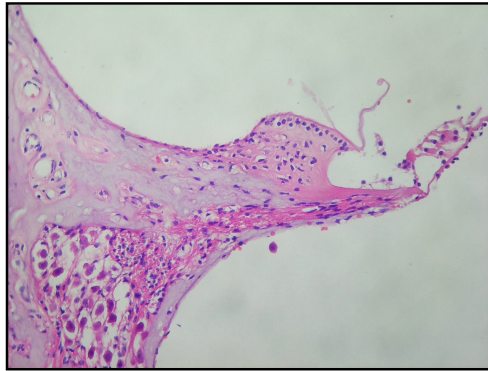
Hematoksilen–Eosin boyalı preparatların ışık mikroskobu altında değerlendirilmesinde, kokleotoksisitenin, TDG grubu ile karşılaştırıldığında daha hafif olduğu dikkati çekerken, spiral ganglion hücrelerinde saptanan ödem, asidofili artışı, büzüşme, nukleus piknozu, enflamatuar hücre infiltrasyonu, satellit hücre harabiyeti gibi toksik bulguların minimal ve orta şiddette olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde spiral limbus hücrelerindeki dağılıma, hücre düzeninde bozulma ve hücre boylarında kısalma gibi patolojik değişikliklerin daha hafif ve enflamatuar hücre sayısının daha az olduğu görüldü (Resim 29).



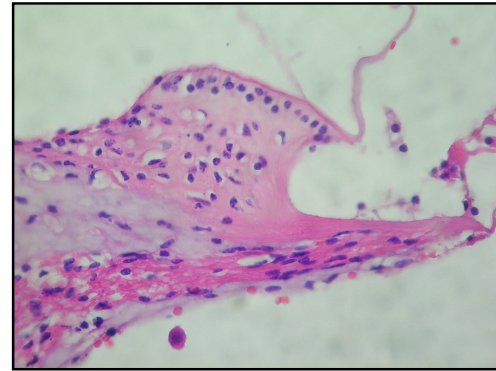
x100



x200



x200

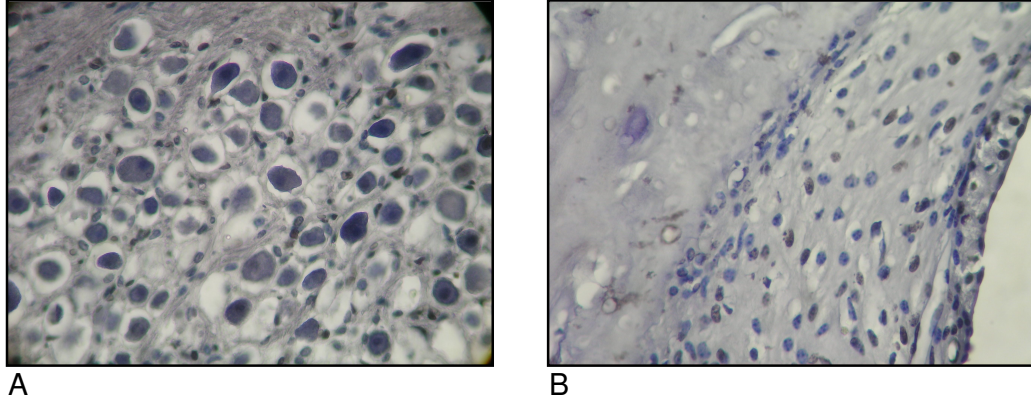


x400

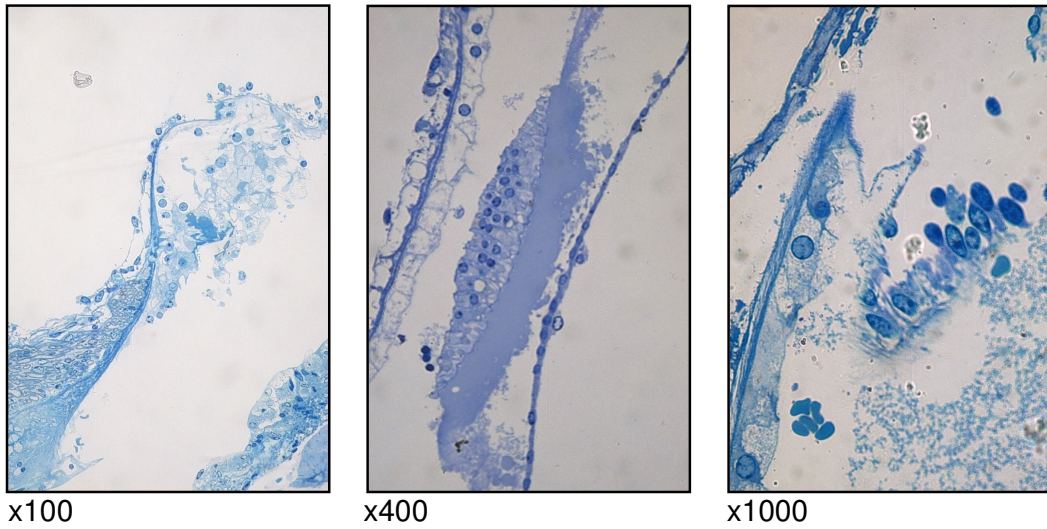
Resim 29. Tek doz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan gruba ait koklea görüntüleri.

TUNEL yöntemi ile hazırlanan preparatlarda spiral limbusta ve spiral ganglionda az sayıda apoptotik hücre saptandı (Resim 30).

Yarı ince kesitlerde Korti organının ışık mikroskopik değerlendirmesinde, tüylü hücrelerin nukleus ve sitoplazmik yapılarının, TDG grubuna oranla daha sağlıklı bir görünüm gösterdiği izlendi. Tüylü hücrelerin ve destek hücrelerinin nukleus ve nukleolus yapılarının oldukça korunmuş olduğu gözlemlendi. Bazı kesitlerde lümende kanama belirtisi eritrositler görüldü. Az sayıda infiltratif hücreye rastlanırken, bazı hücrelerin küçük yağ damlacıkları içerdiği izlendi. Yakın komşuluktaki akson ve myelin yapılarının normale yakın görünüm sergilediği gözlemlendi (Resim 31).

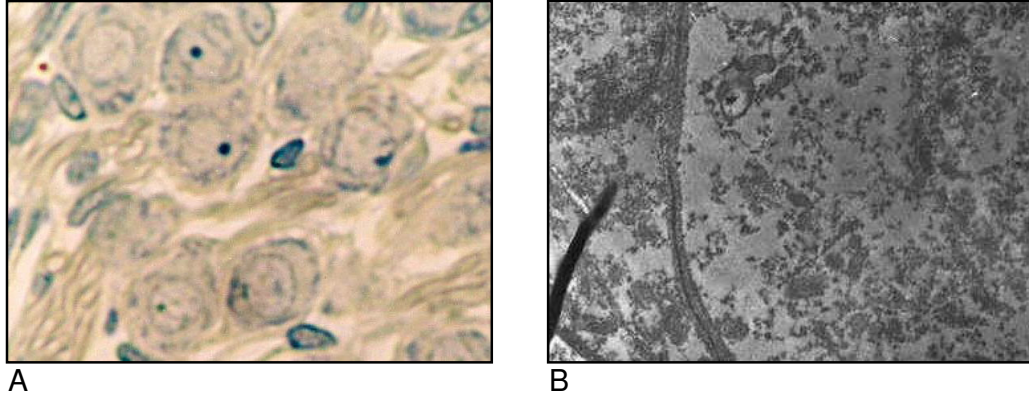


Resim 30. Tek doz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan grubun immunohistokimyasal olarak boyanmış preparatlarında spiral ganglion (A) ve spiral limbus (B) görüntüleri (x400).



Resim 31. Tek doz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan gruba ait Toluidin mavisi–Azür II boyalı yarı ince kesit ışık mikroskopik Korti organı görüntüleri.

Yarı ince kesit ışık mikroskopik ve ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion kesitlerinde hücresel ödem, nukleus piknozu, sitoplazmik vakuoller gibi toksik bulguların hafif ve orta şiddette olduğu saptandı (Resim 32).

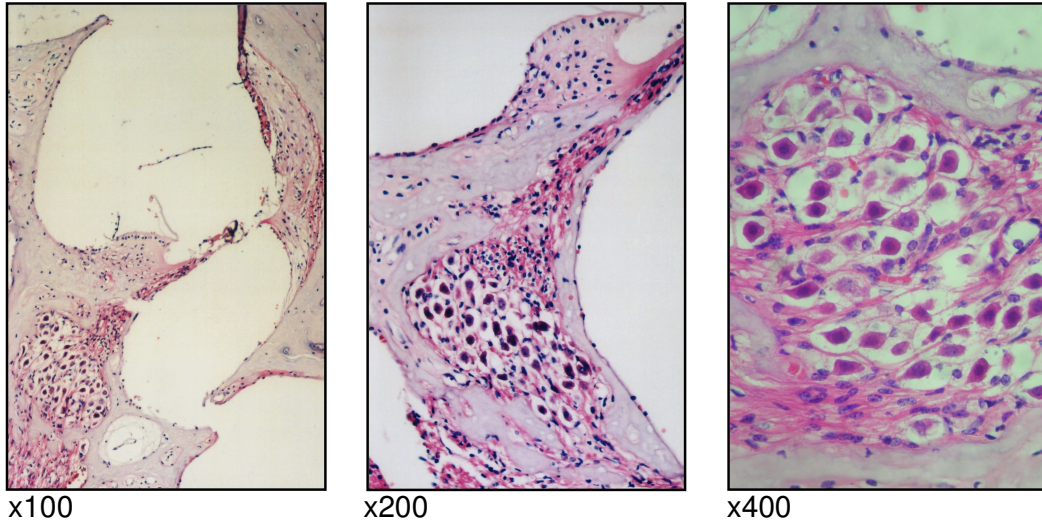


Resim 32. Tek doz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan gruba ait yarı ince kesit (A, x200) ve ince kesit spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

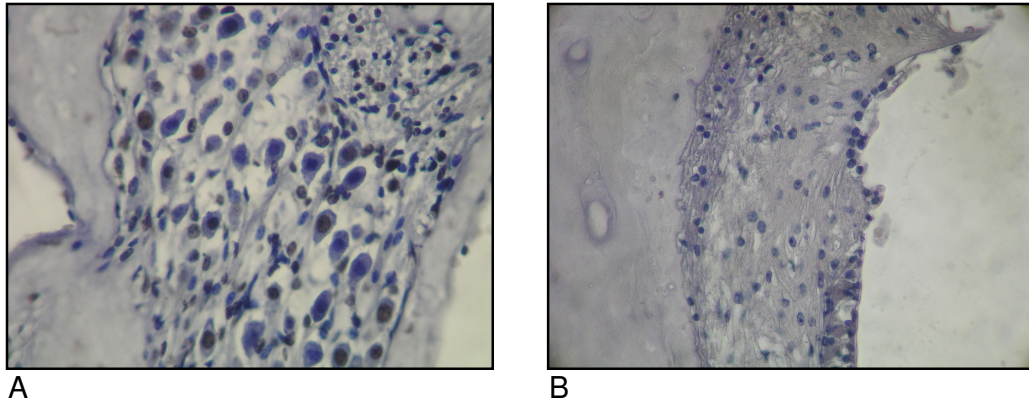
MDG+D Grubu:

Hematoksilen–Eosin boyalı preparatlarının ışık mikroskopik değerlendirmesinde, spiral ganglion hücrelerindeki ödem, asidofili artışı, büzüşme, nukleus piknozu, enflamatuar hücre infiltrasyonu, satellit hücre harabiyeti gibi bulguların MDG grubuna kıyasla daha hafif ve TDG+D grubuna yakın olduğu izlendi. Spiral limbus hücrelerindeki dağılım, hücre düzeninde bozulma, hücre boylarında kısalma gibi toksisite bulgularının ve saptanan enflamatuar hücre sayısının spiral gangliondaki bulgulara paralellik gösterdiği görüldü (Resim 33).

TUNEL yöntemi ile hazırlanan kesitlerinin değerlendirilmesinde MDG grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak az ve TDG+D grubuna yakın sayıda apoptotik hücre belirlendi (Resim 34).



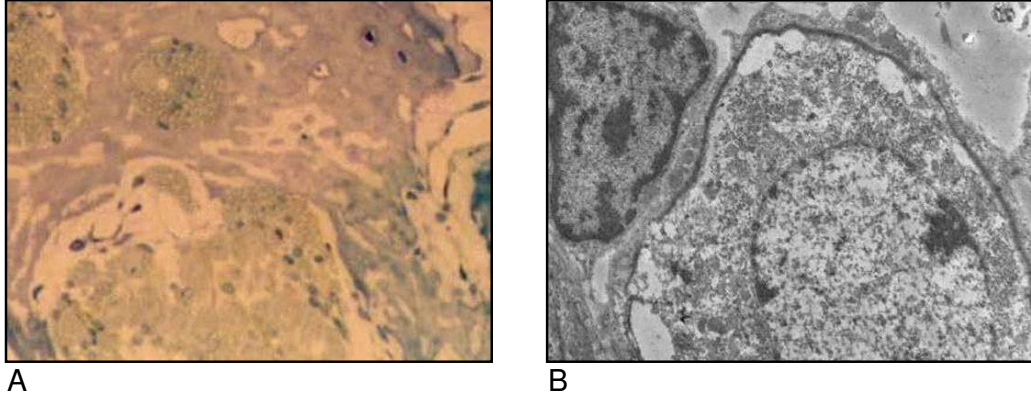
Resim 33. Multidoz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan gruba ait koklea görüntüleri.



Resim 34. Multidoz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan grubun immunohistokimyasal olarak boyanmış preparatlarında spiral ganglion (A) ve spiral limbus (B) görüntüleri (x400).

Yarı ince kesitlerde Korti organının ışık mikroskopik değerlendirmesinde, tüylü hücrelerin ve destek hücrelerinin nukleus, nukleolus, sitoplazmik yapılarının oldukça korunmuş olduğu ve yer yer küçük sitoplazmik yağ damlacıkları bulunduğu görüldü. İnfiltratif hücre sayısının TDG+D uygulanan grup ile aynı olduğu dikkati çekti. Kesitlerde izlenen sinir

lifi aksonlarında minimal ödem ve myelin tabakasında incelme izlendi. Yarı ince kesit ışık mikroskopik ve ince kesit transmisyon elektron mikroskopik spiral ganglion kesitlerinde hücresel ödem, nukleus piknozu, sitoplazmik vakuoller gibi toksik bulguların MDG grubuna göre daha hafif şiddette olduğu saptandı (Resim 35).



Resim 35. Multidoz gentamisin ve deksametazon kombinasyonu uygulanan grubun yarı ince kesit (A, x200) ve ince kesit spiral ganglion görüntüleri (B, x5000).

Gruplara ait histopatolojik bulgular Tablo 7 ve 8'de görülmektedir.

	Ödem	Sitoplazma değişiklikleri	Lipid damlacıkları	Vakuolizasyon	Akson ve myelin değişikliği	PNL infiltrasyonu
KONTROL GRUBU						
I. preparat	0	0	0	0	0	0
II. preparat	0	0	0	0	0	0
III. preparat	0	0	0	0	0	0
SERUM FİZYOLOJİK GRUBU						
I. preparat	1	1	0	0	1	0
II. preparat	0	0	0	0	0	0
III. preparat	1	0	0	0	0	0
NEOMİSİN GRUBU						
I. preparat	3	3	3	3	3	3
II. preparat	3	3	3	3	3	3
III. preparat	3	3	3	3	3	3
TEK DOZ GENTAMİSİN GRUBU						
I. preparat	3	2	2	2	2	2
II. preparat	2	2	2	2	2	2
III. preparat	3	2	3	2	3	3
IV. preparat	2	2	3	3	2	2
V. preparat	2	2	2	3	2	2
MULTİDOZ GENTAMİSİN GRUBU						
I. preparat	3	3	3	2	2	3
II. preparat	3	2	3	3	3	2
III. preparat	3	3	3	3	3	2
IV. preparat	3	2	3	3	3	3
V. preparat	2	2	2	3	3	3
TEK DOZ GENTAMİSİN + DEKSAMETAZON GRUBU						
I. preparat	1	1	1	1	1	1
II. preparat	1	2	1	1	1	1
III. preparat	2	1	2	1	1	1
IV. preparat	2	1	2	2	1	1
V. preparat	1	1	1	1	2	2
MULTİDOZ GENTAMİSİN + DEKSAMETAZON GRUBU						
I. preparat	1	1	1	1	1	1
II. preparat	1	2	1	1	1	1
III. preparat	2	2	2	1	1	1
IV. preparat	2	1	2	2	2	1
V. preparat	2	1	2	2	2	2

Tablo 7. Preparatlarda saptanan Korti organına ait histopatolojik bulgular

	Ödem	Nukleus piknozu	Asidofili artışı	Satellit hücre düzensizliği	PNL infiltrasyonu	Apoptozis
KONTROL GRUBU						
I. preparat	0	0	0	0	0	0
II. preparat	0	0	0	0	0	0
III. preparat	0	0	0	0	0	0
SERUM FİZYOLOJİK GRUBU						
I. preparat	1	0	0	0	1	0
II. preparat	0	0	0	0	0	0
III. preparat	0	0	0	0	0	0
NEOMİSİN GRUBU						
I. preparat	3	3	3	3	3	3
II. preparat	3	3	3	3	3	3
III. preparat	3	3	3	3	3	3
TEK DOZ GENTAMİSİN GRUBU						
I. preparat	2	2	2	2	2	2
II. preparat	2	2	2	2	2	2
III. preparat	3	3	3	3	3	2
IV. preparat	2	2	2	2	2	1
V. preparat	2	3	2	2	2	1
MULTİDOZ GENTAMİSİN GRUBU						
I. preparat	3	3	2	2	3	2
II. preparat	3	2	3	3	3	3
III. preparat	3	3	3	3	3	3
IV. preparat	3	3	3	3	3	3
V. preparat	2	2	3	2	2	3
TEK DOZ GENTAMİSİN + DEKSAMETAZON GRUBU						
I. preparat	1	2	2	2	1	1
II. preparat	1	1	2	1	1	2
III. preparat	2	1	1	1	1	1
IV. preparat	2	1	1	2	2	1
V. preparat	2	1	1	1	2	1
MULTİDOZ GENTAMİSİN + DEKSAMETAZON GRUBU						
I. preparat	1	1	2	2	1	1
II. preparat	1	1	2	1	1	2
III. preparat	2	2	2	2	2	2
IV. preparat	2	2	1	2	2	1
V. preparat	2	2	1	1	2	1

Tablo 8. Preparatlarda saptanan spiral gangliona ait histopatolojik bulgular

Kullanılan derecelendirme sistemi:

- 0:** Histopatolojik değişiklik yok
- 1:** Minimal histopatolojik değişiklik
- 2:** Orta derecede histopatolojik değişiklik
- 3:** Şiddetli histopatolojik değişiklik

Apopitozis derecelendirmesi (x40'lık büyütme alanında):

- 0:** Apopitotik hücre yok
- 1:** 1–5 adet apopitotik hücre
- 2:** 6–10 adet apopitotik hücre
- 3:** 10'dan fazla apopitotik hücre

Tablolarda yer alan verilerin analizi GraphPad InStat Version 3.01 (1998) yazılımı ile “one-way ANOVA with post test” uygulanarak yapıldı. $p < 0.05$ saptandığında aradaki fark anlamlı olarak kabul edildi.

V. TARTIŞMA

Meniere hastalığı, toplumda çok sayıda bireyi etkileyen, tekrarlayan vertigo atakları ile kişiyi ciddi olarak sarsan ve çalışamaz, hatta günlük işlerini göremez hale getiren, bir iç kulak hastalığıdır. Hastalığın prevalansı ve insidansı ile ilgili farklı rakamlar bildirilmesine rağmen, AAO-HNS İşitme ve Denge Komitesinin 1995 kılavuzu kriterlerine uygun olarak yapılan en geniş çaplı araştırmada prevalans 100.000'de 43, ortalama yıllık insidans 100.000'de 4.3 bulunmuştur (43). Hastalığın kesin tedavisi yoktur ve uygulanmakta olan tedavi seçenekleri vertigoya yöneliktir, uzun vadede işitme kaybını önlemede etkisizdir (28). Bu doğrultuda uygulanan tedavi yöntemlerinden bir tanesi de intratimpanik gentamisin tedavisidir.

Gentamisin tedavisinin iç kulakta meydana getirdiği 2 yönlü etki, Meniere hastalığında bu ilaçtan yararlanılmasını sağlar: bir yandan vestibüler reseptör yapıları (özellikle tüylü hücreleri) hasara uğratarak hasta kulaktan gelen fluktuan inputları azaltır veya yok eder; diğer yandan stria vaskülaris ve vestibüler dark hücreleri hasara uğratarak üretilen endolenf miktarını azaltır ve böylece endolenf basıncını azaltır (30,96,101,102).

Blakley tarafından 2000 yılında yapılan literatür taramasında vertigo kontrolünde etkinliği %80 ile %100 arasında bulunan intratimpanik gentamisin tedavisinin ortalama %30 işitme kaybına neden olduğu saptanmıştır (105). Son yıllarda bu kokleotoksik etkiyi önlemek için yoğun çalışmalar yapılmıştır ve birçok yöntem, uygulama yolu, dozaj, uygulama sıklığı, uygulama süresi ve tedaviyi sonlandırma kriteri ortaya atılmıştır (92,104,105). Bunların yanı sıra aminoglikozid ototoksitesini önlemek için birçok ajan denenmiştir ve umut verici sonuçlar alınmıştır: fosfomisin (151), glutation (152-154), α _lipoik asit gibi serbest radikal önleyicileri (155,156), demir şelatörleri (157), N_nitro_L_arjinin metilester (nitrik oksit sentaz

inhibitörü) (158), nörotrofinler (159). Tüm bu ajanların aminoglikozidlere bağlı kokleotoksik etkiyi azalttığı gösterilmiştir, ancak beraberinde vestibülotoksik etkinin de azaldığı gözlenmiştir.

Aminoglikozidlerin neden olduğu kokleotoksisitenin önlenmesinde son yıllarda gündeme gelen bir alternatif steroid tedavisidir. Silverstein ve ark, intratimpanik gentamisin ile tedavi ettikleri ve işitmesinde kötüleşme meydana gelen hastalarda sistemik steroid (oral prednizon) tedavisi ile işitmede anlamlı iyileşme elde etmişlerdir (139). Ancak sistemik uygulamada steroidlerin birçok yan etkisi mevcuttur (bakınız II.4.F.f. Deksametazon ve Meniere Hastalığındaki Yeri). Bu nedenle aminoglikozid kokleotoksisitesinin topikal steroid uygulaması ile önlenmesi gündeme gelmiştir. Himeno ve ark, bu doğrultuda yaptıkları çalışmada olumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Gerçekleştirdikleri deneysel çalışmada, sistemik olarak uygulanan kanamisinin meydana getirdiği kokleotoksisiteyi, intrakoklear deksametazon infüzyonu ile önlemeye çalışmışlardır (121). Çalışma olumlu sonuçlanmış ve kanamisinin denen olduğu kokleotoksisitenin, intrakoklear deksametazon infüzyonu ile önlenebildiği hem elektrofizyolojik, hem de histopatolojik olarak gösterilmiştir.

Topikal steroid tedavisi günümüzde Meniere hastalığında uygulanan tedavilerden biridir. İntratimpanik steroid (özellikle deksametazon) uygulaması, hastalığın tedavisinde giderek ön plana çıkmıştır ve ilk aşamada uygulanan cerrahi tedavi halini almıştır (134). Buna rağmen tedavinin etkinliği konusunda fikir birliği yoktur (bakınız II.4.F.f. Deksametazon ve Meniere Hastalığındaki Yeri).

Araştırmamızda, yukarıdaki tecrübelerin ve elde edilen bulguların ışığında, Meniere hastalığının tedavisinde yaygın olarak tercih edilen intratimpanik gentamisin uygulamasının neden olduğu kokleotoksik etkilerin azaltılması veya önlenmesinde topikal deksametazonun rolünün araştırılması hedeflenmiştir. Deneysel çalışmamızda, otolojik araştırmalarda ve özellikle ototoksisitenin incelendiği deneysel modellerde yoğun olarak kullanılan guinea pigler denek olarak kullanılmıştır. Elde edilen temporal kemik preparatlarında, teknik yetersizlikten dolayı, sadece kokleotoksisite

değerlendirilebilirken, vestibülotoksisiteye yönelik histopatolojik inceleme yapılamamıştır.

Çalışmamızda herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubuna ait koklea görüntüleri normal olarak saptanmış ve “histopatolojik değişiklik yok” olarak değerlendirilmiştir. İntratimpanik olarak serum fizyolojik uygulanan gruptan elde edilen preparatlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı toksisite bulgusu saptanmamıştır ($p>0.05$). Bir kokleadan alınan preparatlarda spiral ganglion hücrelerinde saptanan ödem, sitoplazma, akson ve myelin değişikliklerinin tamamı minimal olarak değerlendirilmiştir. Bulgularımız literatürde bildirilenler ile uyumludur (160-162).

Aminoglikozidlerin ototoksisitesine yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır. Vestibüler reseptör yapıları (özellikle tüylü hücreleri) ve vestibüler dark hücreleri hasara uğrattırırken, vestibüler sensör organda vakuolizasyona, kist oluşumuna, tüylü hücrelerde ve destek hücrelerinde nukleus değişikliklerine neden oldukları saptanmıştır (98). Kokleada, Korti organı dejenerasyonu, tüylü hücrelerin ve destek hücrelerinin kaybı, nöral hücrelerin ve ganglion hücrelerinin hasarı gibi toksik etkiler ortaya konmuştur (98,163). Imamura ve Adams tarafından, yuvarlak pencere membranına lokal olarak gentamisin uygulanan guinea piglerin kokleaları 4-7 gün sonra incelendiğinde Korti organında, spiral ligaman, spiral limbus ve spiral ganglion hücrelerinde dejenerasyon saptanmıştır (164). Dış tüylü hücrelerin gentamisin toksisitesine daha duyarlı olduğu, Deiters hücrelerinin aynı veya benzer duyarlılığı gösterdiği gözlenmiştir. Tipik olarak kokleanın bazal kıvrımında daha şiddetli Korti organ hasarı meydana geldiği görülmüştür. Korti organında yüksekliği azaldığı, dış tüylü hücrelerin kaybı, Deiters hücrelerinin kaybı, izlenen Deiters hücrelerinin şeklinin bozulduğu ve nukleuslarının baziler membrana yakın yer aldığı dikkati çekmiştir. Uygulama sonrasında 1 ve 3 ay gibi uzun süre bakımı sağlanan ve ardından sakrifiye edilen guinea piglerin koklealarında yukarıdaki bulgulara ek olarak sırasıyla skala vestibülinin tamamen fibrotik doku ile dolduğu ve skala vestibüli fibrozisinin yanı sıra skala vestibülde ve spiral ligamanda yeni kemik formasyonu

saptanmıştır. Bir haftadan fazla bakımı sağlanan kobay koklealarında ve Korti organının total yokluğu saptanan koklealarda stria vaskularis kalınlığında azalma, striada ödem ve dejenerasyon izlenmiştir. Korti organının total olarak kaybı görüldüğünde yerini skuamöz epitelin aldığı ve skuamöz epitel hücre nukleuslarının baziler membranın superior yüzeyinde yerleştiği gözlenmiştir.

Bizim araştırmamızda intratimpanik olarak uygulanan ilaçlardan birisi olan neomisin, en erken geliştirilen aminoglikozidlerden birisidir. Kısa sürede güçlü ototoksik etkisi anlaşılmış ve sistemik tedaviden kaldırılmıştır (99,165). Hayvan modellerinde, intratimpanik uygulama sonrasında yuvarlak pencere membranı aracılığı ile perilenfe geçtiği (166) ve hem yüksek konsantrasyonda (167), hem de düşük konsantrasyonda belirgin koklear hasara neden olduğu bulunmuştur (168). Kendi deneysel çalışmamız kapsamında neomisin uygulanan kobay grubunun koklear değerlendirmesinde şiddetli kokleotoksikite bulguları saptanırken, tüm gruplar içerisinde en çok etkilenen grup olduğu görülmüştür. Spiral limbus ve spiral ganglionda etkilenmenin fazla olduğu gözlenirken, hücresel ödem, asidofili artışı, büzüşme, nukleus piknozu, sitoplazmik dansite artışı, sitoplazmik vakuoller ve lipid damlacıkları, aksonal ödem ve myelin kaybı gibi histopatolojik bulguların tamamı tüm preparatlarda şiddetli olarak değerlendirilmiştir. TUNEL yöntemi ile boyanan preparatların spiral ganglion görüntülerinde ışık mikroskopik olarak x40 büyütme her alanda ortalama 10'dan fazla apoptotik hücre saptanmıştır.

TDG grubunda Korti organında ve spiral ganglion hücrelerinde saptanan toksik bulguların niteliğinin neomisin grubuna benzer olduğu gözlenmiştir. Neomisin grubuna kıyasla sitoplazmik değişiklikler kısmen daha hafif ($p<0.05$) ve spiral gangliondaki apoptotik hücre sayısı anlamlı olarak daha az ($p<0.01$) olarak gözlenirken, diğer patolojik bulguların aynı şiddette olduğu, arada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Kokleotoksik bulgular açısından serum fizyolojik ve kontrol grupları ile karşılaştırma yapıldığında tüm bulgular için aradaki fark çok anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).

Wanamaker ve ark tarafından, gerbillere tek doz ve multidoz (5 d n arka arkaya) intratimpanik gentamisin uygulanarak gerçekleştirilen çalışmada, artan gentamisin dozu ile ototoksik etkilerin arttığı gösterilmiştir (98). Tek doz uygulanan koklealarda protein sentez değişikliğine bağlı bulgular ve i tüylü hücrelerin altındaki sinir terminallerinin ödemi izlenirken, multidoz uygulanan grupta i ve dış tüylü hücrelerin kaybı, i tüylü hücrelerin boyunda azalma ve sinir terminallerinde daha fazla ödem saptanmıştır. Benzer şekilde Pender, kedilerin orta kulağına gentamisin infüze ederek yaptđı histopatolojik çalışmada kokleanın bazal kıvrımında özellikle dış tüylü hücrelerde kayıp meydana geldiğini, apikal kıvrımlara doğru hasarın giderek azaldđını ve yüksek gentamisin konsantrasyonu ile tüylü hücre hasarının arttığını, hatta Korti organı yapısının tamamen kaybolduğunu bildirmiştir (169). Daha yeni bir çalışmada Wagner ve ark tarafından, artan gentamisin dozu ile i ve dış tüylü hücre hasarının arttığı saptanmıştır (170). Yaptđımız araştırmada sonucunda multidoz gentamisin uygulanan koklealar incelendiğinde elde edilen bulgularda, kohleotoksik bulguların tek doz uygulama yapılan gruba göre daha belirgin olduğu, ancak apoptotik hücre sayısı dışında arada anlamlı fark bulunmadđı görülmüştür ($p>0.05$). Apoptotik hücre sayısı anlamlı olarak daha fazla saptanırken ($p<0.01$), neomisin grubu ile kıyaslandđında bulguların benzer olduğu, herhangi bir bulgu için arada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadđı dikkati çekmiştir ($p>0.05$).

TDG+D grubunun koklea görüntülerinin değerlendirilmesinde, TDG grubu ile karşılaştırıldığında toksik bulguların genel olarak daha az olduğu görülmüştür. Korti organında izlenen ödem, sitoplazmik lipid damlacıkları ve vakuolizasyon, PNL infiltrasyonu, akson ve myelin değişikliği gibi bulgular anlamlı olarak daha hafif bulunurken ($p<0.05$), spiral ganglionda belirgin olarak daha hafif saptanan nukleus piknozu ($p<0.01$) dışındaki bulgularda anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Apoptotik hücre sayısının genel olarak daha az olduğu, ancak anlamlı fark bulunmadđı saptanmıştır ($p>0.05$). TDG grubundaki apoptotik hücre sayısının MDG grubuna göre belirgin olarak az

olmasının yanı sıra preparat sayısının bu sonuçta etkili olduğu düşünülmüştür.

MDG+D grubundaki koklealar incelendiğinde, MDG grubuna kıyasla toksik bulguların belirgin olarak daha az olduğu gözlenmiştir. Korti organındaki ödem, sitoplazmik değişiklikler, sitoplazmik lipid damlacıkları anlamlı olarak az ($p<0.05$), vakuolizasyon, PNL infiltrasyonu, akson ve myelin değişikliği çok anlamlı olarak daha az bulunmuştur ($p<0.001$). Benzer şekilde spiral gangliondaki toksisite bulguları anlamlı olarak daha hafif saptanmıştır (ödem, asidofili, PNL infiltrasyonu için $p<0.01$; nukleus piknozu, satellit düzensizliği için $p<0.05$). Apoptotik hücre sayısının belirgin olarak daha az olduğu, aradaki farkın istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p<0.001$). Grubun bulguları, TDG+D grubundakilerle genel olarak kıyaslandığında toksisitenin daha belirgin olduğu, ancak anlamlı fark bulunmadığı görülmüştür (tüm bulgular için $p>0.05$).

Son yıllarda aminoglikozid ototoksitesisi ile ilgili reaktif oksijen radikalleri oluşumu üzerinde durulmuştur. Gentamisin, esas olarak metabolik ürünleri ile toksik etki oluşturduğu bulunmuştur. Demir iyonlarının gentamisin tarafından şelasyonu ile gentamisin – demir kompleksi oluşur, bu kompleks de, ciddi ototoksisiteye sahip, reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu katalize eder (121,171). Aminoglikozidlerin, iç kulak doku eksplantlarında serbest radikal oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (172-174). Oluşan bu serbest radikaller, hücrel proteinlerin ve nükleik asitlerin peroksidasyonuna yol açarak hücrel hasar oluştururlar (121,171). Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunan moleküllerdir. Süperoksit radikal ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikal ($OH^{\bullet-}$), nitrik oksit (NO^{\bullet}) ve lipid peroksil radikal ($lipid-O_2^{\bullet}$) serbest radikallere örnektir. Bu radikaller normal intrasellüler metabolizmanın ürünleridir ve aşırı miktarda birikmeleri süperoksit dismutaz gibi enzimler tarafından önlenir (157). Serbest radikallerin, demir iyonu (Fe^{2+}) varlığında metabolize edilmesi sonucunda oluşan toksik hidroksil radikalleri hızlı bir şekilde DNA'ya, intrasellüler proteinlere ve membran lipidlerine bağlanır. Bu bağlanma, DNA'da kırılma,

normal protein metabolizmasında bozulma ve membran lipidlerinin fonksiyonunda bozulma ile sonuçlanır (157).

Hong ve ark tarafından, yuvarlak pencere membranına lokal olarak gentamisin uygulanan guinea piglerin vestibüler hücrelerinde artan nitrik oksit sentaz seviyesine bağlı olarak nitrik oksit üretiminin arttığı bulunmuştur (150). Yüksek miktarları doğrudan sitotoksik olan nitrik oksit, ototoksik etkisini esas olarak süperoksit ile kompleks oluşturarak gösterir. Bu kompleks hızla ayrılarak peroksinitrit (NO_2^\bullet) ve hidroksil radikali ortaya çıkar. Peroksinitrit toksik bir maddedir, hücrel protein ve nükleik asit bileşenlerini doğrudan hasara uğratabilir. Böylece iki farklı hücre ölümü mekanizmasından birini başlatarak (apoptozis veya nekroz) hücrenin ölümüne neden olur. Yüksek miktarda peroksinitrit nekroza neden olurken, daha düşük miktarları apoptotik süreci tetikler (150).

Aminoglikozidlere bağlı ototoksisitede üzerinde durulan reaktif oksijen radikalleri oluşumunu destekleyen başka veriler de mevcuttur: esansiyel demir takviyesi aminoglikozid toksisitesini artırırken, deferoxamin (demir şelatörü) tedavisi neomisin kokleotoksisitesini azaltır (157). Benzer şekilde serbest oksijen radikallerinin miktarını azaltan maddeler aminoglikozid ototoksisitesini azaltır: glutation (152-154), α -lipoik asit (155,156), N-nitro-L-arjinin metilester (nitrik oksit sentaz inhibitörü) (158).

Yukarıdaki bilgiler dışında aminoglikozidlerin, tüylü hücreleri ve spiral ganglion hücrelerini doğrudan da hasara uğrattıkları gösterilmiştir (175).

Mevcut bilgiler ışığında, deksametazonun hangi mekanizma ile gentamisin kokleotoksisitesini azalttığı veya önlediği kesin olarak bilinmemektedir. Nordang ve ark tarafından ratlar ile gerçekleştirilen deneysel çalışmada, intratimpanik deksametazon uygulaması sonrasında yuvarlak pencere membranının kalınlığında, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmamıştır (129). Aminoglikozidlerin intratimpanik uygulama sonrasında esas olarak yuvarlak pencere membranından iç kulağa geçtiği göz önüne alındığında (30,96,104), intratimpanik deksametazonun iç kulak sıvılarındaki aminoglikozid konsantrasyonunu etkilemediği düşünülmüştür.

İntratimpanik uygulama sonrasında yuvarlak pencereden iç kulağa geçen deksametazonun, perilenfte ve endolenfte dağıldığı gösterilmiştir (107,128). Sitoplazmik reseptörler üzerinden etki eden (121,129) glukokortikoidlere ait reseptörlerin kokleada buldukları gösterilmiştir (130-132). Özellikle tüylü hücrelerin, destek hücrelerinin, spiral limbusun, tektorial membranın, baziler mebranın, dış ve iç sulkus hücrelerinin, Reissner membranının ve spiral ganglion nöronlarının yoğun olarak bu reseptörleri içerdiği saptanmıştır (120).

Deksametazon iç kulakta birçok etki meydana getirir: yağ, protein ve karbonhidrat katabolizması, iyon transportu ve nöral aktivitenin modülasyonu, immün ve enflamatuvar yanıtın baskılanması (121), kemotaktik ve vazoaaktif faktörlerin salınımının inhibisyonu, lipolitik ve proteolitik enzimlerin sekresyonunun baskılanması, lökosit ekstravazasyonunun azaltılması (176). Glukokortikoidler, doku hasarı ile ilgili immunolojik olayları baskılayarak, interferon- γ , granulosit/monosit-koloni stimüle edici faktör, interlökinler ve tümör nekroz faktörü- α gibi mediatörleri inhibe ederek toksik etkilerini azaltırlar (133,176). Ayrıca intratimpanik uygulama sonrasında koklear kan akımını attırdıkları gösterilmiştir (176). Artan koklear kan akımı, koklear fizyolojiye pozitif yönde etki ederek, aminoglikozidlerin oluşumunu arttırdığı reaktif oksijen radikallerinin azalmasına neden olarak, kokleotoksisitenin azalmasına katkı sağlıyor olabilir.

Antioksidan enzimlerin, iskemi sırasında serbest radikal oluşumuna karşı beyin dokusunu koruyan önemli defans mekanizması olduğu kabul edilmektedir. Tuor ve ark, glukokortikoidlerin, hipoksi-iskemi öncesinde veya sırasında antioksidan enzim aktivitesini arttırarak koruma sağladığını bildirmişlerdir (177). Nitrik oksit sentaz mRNA ve sitokinlerle ilgili gen ekspresyonunu baskılayarak reaktif oksijen radikalleri oluşumunu azaltmaları steroidlerin diğer bir koruma mekanizmalarıdır (121,133). Hu ve ark tarafından, steroidlerin, serbest radikal hasarına bağlı hücre yıkımını azaltarak ilaç toksisitesini önleyebildikleri gösterilmiştir (178).

Aminoglikozidlere bağlı koklear hücre dejenerasyonunda apoptozisin rol aldığı Nakagawa ve ark tarafından, guinea piglere sistemik kanamisin

tedavisi uyguladıktan sonra, TUNEL yöntemi kullanılarak gösterilmiştir (143). Bu bulgu Momiyama ve ark tarafından, koklear doku kültürleri ile yapılan deneysel çalışma ile desteklenmiştir (144). Kendi araştırmamızda hem neomisin, hem de gentamisin uygulanan gruplarda apoptotik hücrelerin saptanması (neomisin grubu = multidoz gentamisin grubu > tek doz gentamisin grubu), aminoglikozidlerin oluşturduğu kokleotoksisitede apoptozisin etkili olduğunu göstermektedir.

MDG+D grubunda spiral ganglionda belirlenen apoptotik hücre sayısı, MDG grubundaki apoptotik hücre sayısı ile karşılaştırıldığında belirgin olarak az ve aradaki fark istatistiksel olarak çok anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Bunun yanında ödem, polimorfonükleer lenfosit infiltrasyonu, asidofili artışı ($p < 0.01$), nukleus piknozu, satellit hücre harabiyeti ($p < 0.05$) gibi diğer kokleotoksik bulgular da anlamlı olarak daha hafif saptanmıştır. Bu bulgular, deksametazonun, apoptotik hücre ölümünü tetikleyen intrasellüler mekanizmaları inhibe ettiğini akla getirmektedir. Bu etki, apoptozisi tetikleyen serbest oksijen radikallerinin azaltılması veya apoptozisin indüksiyonunda ve devamında etkili hücre içi sinyallerin önlenmesi sonucunda olabilir.

Deksametazonun (1) antioksidan enzim aktivitesini ve koklear kan akımını arttırmak suretiyle gentamisin kokleotoksisitesine bağlı ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin miktarını azaltarak, (2) serbest radikallerin sentezi ile ilgili gen ekspresyonunu ve dolayısıyla serbest radikallerin oluşumunu azaltarak, (3) apoptotik süreçte rol alan mediatörleri inhibe ederek ve (4) serbest radikallerin direkt hasarına bağlı hücre yıkımında etkili lipolitik ve proteolitik enzimlerin sekresyonunu baskılayarak gentamisin kokleotoksisitesini azalttığı veya önlediği düşünülmektedir. Bu bilginin klinik uygulamalar için yol gösterici olacağı kanaatine varılmıştır. Ancak, bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. İntratimpanik serum fizyolojik uygulamasının belirgin kokleotoksik etki oluşturmadığı histopatolojik olarak gösterilmiştir.

2. İntratimpanik olarak multipl dozlar halinde uygulandığında neomisin şiddetli kokleotoksisiteye neden olduğu ortaya konmuştur.

3. Tek doz intratimpanik gentamisin uygulamasının belirgin kokleotoksik olduğu ve bu toksik etkinin multidoz uygulamada arttığı bulunmuştur.

4. İntratimpanik olarak uygulanan aminoglikozidlerin neden olduğu kokleotoksisitede apopitotik hücre ölümünün rol aldığı saptanmıştır. Tek doz uygulama ile apopitotik hücre sayısının oldukça az olduğu ve multipl uygulama ile belirgin olarak arttığı gözlenmiştir.

5. İntratimpanik gentamisin, yüksek konsantrasyonda (24 mg/ml) deksametazon ile kombine edilerek uygulandığında kokleotoksik etkinin azaldığı ve bu azalmanın multidoz uygulamada daha belirgin olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir.

6. Tek doz uygulamada tedaviye deksametazon eklendiğinde apopitotik hücre sayısında anlamlı fark bulunmazken, multidoz uygulamada apopitotik hücre sayısının belirgin olarak az olduğu immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir.

7. Araştırmamızda vestibülotoksisite değerlendirilemediğinden, gentamisine ait vestibülotoksik etki üzerine deksametazonun etkinliğini gösteren yeni çalışmalara gereksinim vardır.

8. İntratimpanik gentamisin ve deksametazon kombinasyonunun, hem deneysel olarak oluşturulacak endolenfatik hidropsta, hem de klinik olarak Meniere hastalarında etkinliğini inceleyen araştırmalar gereklidir.

VII. ÖZET

İntratimpanik gentamisin uygulaması, intractable Meniere hastalığında yaygın olarak tercih edilen bir tedavi yöntemidir. Birçok avantajı bulunan bu uygulamanın, amaçlanan vestibülotoksisitenin yanı sıra kokleotoksisiteye neden olması kullanımını sınırlamaktadır.

Çalışmamızda, deneysel olarak kobaylara uygulanan intratimpanik gentamisinin neden olduğu kokleotoksik etkiyi önlemede beraberinde uygulanan deksametazonun etkinliği araştırılmıştır.

Denek olarak kullanılan yirmi iki adet kobaya intratimpanik olarak farklı medikasyonlar uygulanarak yedi farklı grup oluşturulmuştur. Uygulama yapılmayan, multidoz serum fizyolojik ve neomisin uygulanan gruplar iki kobaydan; tek ve multidoz gentamisin ile tek ve multidoz gentamisin + deksametazon kombinasyonu uygulanan gruplar dört kobaydan meydana gelmiştir. Kullanılan medikal ajanlar ticari olarak mevcut preparatlardan seçilirken, deksametazon toz halinde aktif etken madde olarak temin edildikten sonra 24 mg/ml konsantrasyonda hazırlanarak kullanılmıştır.

Elde edilen preparatlar, ışık mikroskopik, immunohistokimyasal ve transmisyon elektron mikroskopik olarak değerlendirilmiştir. Farklı grupların koklear kesit örneklerinde saptanan hücresel ödem, asidofili artışı, nukleus piknozu, sitoplazmik dansite artışı, sitoplazmik vakuoller ve lipid damlacıkları, akson ve myelin değişikliği, polimorfonükleer lenfosit infiltrasyonu ve satellit hücre düzensizliği gibi histopatolojik bulgular karşılaştırılmıştır. TUNEL yöntemi kullanılarak her grupta izlenen apoptotik hücre sayıları belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır.

İntratimpanik gentamisinin deksametazon ile kombine edilmesinin kokleotoksisiteyi önlemede, hem tek doz, hem multidoz uygulamada etkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle multidoz uygulamanın deksametazon ile

kombinasyonunun apoptotik hücre sayısını belirgin olarak azalttığı ortaya konmuştur.

VIII. İNGİLİZCE ÖZET

“THE ROLE OF DEXAMETHASONE TO PREVENTİNG COCHLEOTOXICITY CAUSED BY INTRATYMPANIC GENTAMICIN APPLICATION”

Intratympanic gentamicin treatment is a wide spread choice of management for intractable Meniere disease. This treatment modality has many advantages, but because of its cochleotoxicity aside from its aimed vestibulotoxicity, limits its usage.

The potential efficacy of dexamethasone to preventing cochleotoxicity caused by intratympanic gentamicin treatment in guinea pigs was evaluated experimentally in our study.

Total of 22 guinea pigs were divided into 7 groups, each of which a different medication was applied. There were 2 guinea pigs in the groups of no application, multi-dose saline and neomycin application; 4 guinea pigs in the groups of single and multi-dose sole gentamicin groups and single and multi-dose gentamicin + dexamethasone combination groups. The medical agents that were applied were selected among commonly prescribed forms when dexamethasone was acquired as active compound and prepared in the concentration of 24 mg/ml.

The sampled histological specimens were evaluated via rutine light microscopically, immunohistochemically and transmission electron microscopically. The cellular edema, increase in acidophilia, piknosis of the nucleus, increase in density of the cytoplasm, cytoplasmic vacuoles and lipid quantity, changes in axone and myelin, infiltration of polymorphonuclear

lymphocyte were compared histopathologically. Apoptotic cell quantity was counted in each group and the values were compared among the groups.

It is demonstrated that combination of intratympanic gentamicin with dexamethasone has been effective in preventing cochleotoxicity in both single and multi-dose applications. It has been shown that there was a statistically significant decrease in the number of apoptotic cells with supplementary dexamethasone combined with the multi-dose intratympanic gentamicin application.

IX. KAYNAKLAR

1. Aslan A. Kulak anatomisi. Koç C, ed; Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş–Boyun Cerrahisi (içinde). Ankara: Güneş Kitabevi, 2004:45-61.
2. Gulya AJ. Anatomy of the ear and temporal bone. In: Glasscock ME III, Gulya AJ, eds. Surgery of the Ear, 5th ed. Hamilton, Ontario: B. C. Decker, 2003:35-57.
3. Wajnberg J. The true shape of the tympanic membrane. J Laryngol Otol 1987;101:538-41.
4. Lim DJ. Human tympanic membrane. An ultrastructural observation. Acta Otolaryngol 1970;70:176-86.
5. Akyıldız AN. Temporal kemik ve işitme organının anatomisi. Akyıldız AN, ed; Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi (içinde). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998:22-61.
6. Bhide A. Etiology of the retraction pocket in the posterosuperior quadrant of the eardrum. Arch Otolaryngol 1997;103:707-11.
7. Su WY, Marion MS, Hinojosa R, et al. Anatomical measurements of the cochlear aqueduct, round window membrane, round window niche, and facial recess. Laryngoscope 1982;92:483-6.
8. Toth M, Alpar A, Patonay L, et al. Development and surgical anatomy of the round window niche. Ann Anat 2006;188:93-101.
9. Cureoglu S, Schachern PA, Rinaldo A, et al. Round window membrane and labyrinthine pathological changes: an overview. Acta Otolaryngol 2005;125:9-15.
10. Goycoolea MV. Clinical aspects of round window membrane permeability under normal and pathological conditions. Acta Otolaryngol 2001;121:437-47.

11. Carpenter AM, Muchow D, Goycoolea MV. Ultrastructural studies of the human round window membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;115:585-90.
12. Silverstein H, Rowan PT, Olds MJ, et al. Inner ear perfusion and the role of round window patency. *Am J Otol* 1997;18:586-9.
13. Alzamil KS, Linthicum FH Jr. Extraneous round window membranes and plugs: possible effect on intratympanic therapy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:30-2.
14. Kawabata I, Paparella MM. Fine structure of the round window membrane. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1971;80:13-26.
15. Schachern PA, Paparella MM, Duval AJ 3rd. The normal chinchilla round window membrane. *Arch Otolaryngol* 1982;108:550-4.
16. Goycoolea MV, Muchow D, Schachern P. Experimental studies on round window membrane structure: function and permeability. *Laryngoscope* 1988;98 (Suppl 44):1-20.
17. Tekdemir I, Aslan A, Tuccar E, et al. An anatomical study of the tympanic branch of the glossopharyngeal nerve (nerve of Jacobson). *Ann Anat* 1998;180:349-52.
18. Tekdemir I, Aslan A, Ersoy M, et al. A radiologico-anatomical comparative study of the cochlear aqueduct. *Clin Radiol* 2000;55:288-91.
19. Young YS, Nadol JB Jr. Dimensions of the extended facial recess. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989;98:336-8.
20. Takadi A, Sando I, Takahashi H. Computer-aided three-dimensional reconstruction and measurement of semicircular canals and their cristae in man. *Acta Otolaryngol* 1989;107:362-5.
21. Stjernholm C, Muren C. Dimensions of the cochlear nerve canal: a radioanatomic investigation. *Acta Otolaryngol* 2002;122:43-8.
22. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. *Hear Res* 2005;199:103-10.
23. Goksu N, Hazioglu R, Kemaloglu Y, et al. Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992;101:699-704.

24. Kayhan FT, Algun Z. A histologic study on the temporal bone of guinea pigs. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2003;10:51-7.
25. Sehitoglu MA, Uneri C, Celikoyar MM, et al. Surgical anatomy of the guinea pig middle ear. *Ear Nose Throat J* 1990;69:91-7.
26. Counter AA, Bjelke B, Klason T, et al. Magnetic resonance imaging of the cochlea, spiral ganglia and eighth nerve of the guinea pig. *Neuroreport* 1999;10:473-9.
27. Asarch R, Abramson M, Litton WB. Surgical anatomy of the guinea pig ear. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1975;84:250-5.
28. Costa SS, Sousa LCA, Piza MR. Meniere's disease: overview, epidemiology, and natural history. *Otolaryngol Clin N Am* 2002;35:455-95.
29. Merchant SN, Adams JC, Nadol JB Jr. Pathophysiology of Meniere's syndrome: are symptoms caused by endolymphatic hydrops? *Otol Neurotol* 2005;26:74-81.
30. Akyıldız AN. Endolenfatik hidrops. Çelik O, ed; *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi (içinde)*. İstanbul: Turgut Yayıncılık, 2002:238-52.
31. Committee on Hearing and Equilibrium. Meniere's disease: guidelines for the diagnosis and evaluation of the therapy for reporting. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;113:181-5.
32. Meniere P. Maladies de l'oreille interne offrant les symptomes de la congestion cerebrale apoplectiforme. *Gaz Med de Paris* 1861;16:88.
33. Meniere P. Nouveaux documents relatifs aux lesions de l'oreille interne caracterisee par des symptomes de congestion cerebrale apoplectiforme. *Gaz Med de Paris* 1861;16:239.
34. Meniere P. Observations de maladies de l'oreille interne caracterisee par des symptomes de congestion apoplectiforme. *Gaz Med de Paris* 1861;16:379.
35. Guild S. The circulation of the endolymph. *Am J Anat* 1927;39:57.
36. Portmann G. Vertigo surgical treatment by the opening the saccus endolymphaticus. *Arch Otolaryngol* 1927;6:309.

37. Dandy WE. Meniere's disease: its diagnosis and method of treatment. *Arch Surg* 1928;16:1127-52.
38. Hallpike CS, Cairns H. Observation on pathology of Meniere's syndrome. *J Laryngol Otol* 1938;53:624-54.
39. Kimura RS. Experimental blockage of the endolymphatic sac and duct and its effect on the inner ear of the guinea pig. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1967;76:4664-87.
40. Committee on Hearing and Equilibrium. Meniere's disease: criteria for diagnosis and evaluation of therapy for reporting. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1972;76:1462-4.
41. Committee on Hearing and Equilibrium. Meniere's disease: criteria for diagnosis and evaluation of therapy for reporting. *AAO-HNS Bulletin* 1985;5:6-7.
42. Pearson BW, Brackmann DE. Committee on hearing and equilibrium: guidelines for reporting treatment results in Meniere's disease. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985;93:579-81.
43. Kotimäki J, Sorri M, Aantaa E, et al. Prevalence of Meniere's disease in Finland. *Laryngoscope* 1999;109:748-53.
44. Paparella MM. The cause (multifactorial inheritance) and pathogenesis (endolymphatic malabsorption) of Meniere's disease and its symptoms (mechanical and chemical). *Acta Otolaryngol* 1985;99:445-51.
45. Akyıldız AN. Meniere Hastalığı ve Dalgalı İşitme Kayıpları. Ankara: Ogun Kardeşler Matbaası, 1980.
46. Meyerhoff WL, Paparella MM, Shea D. Meniere's disease in children. *Laryngoscope* 1978;88:1504-11.
47. Paparella MM, Costa SS, Fox R, et al. Meniere's disease and other labyrinthine diseases. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckmann J, Meyerhoff WL, eds. *Otolaryngology*, vol. II: otology, 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1991:1680-714.
48. Bernstein J. Occurrence of episodic vertigo and hearing loss in families. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1965;74:101-11.

49. Okafor BC. Incidence of Meniere's disease. *J Laryngol Otol* 1984;98(8):775-9.
50. Caparosa RJ. Medical treatment of Meniere's disease. *Laryngoscope* 1963;73:666-72.
51. Nsamba C. A comparative study of the etiology of vertigo in the African. *J Laryngol Otol* 1972;86:17-25.
52. Watanabe Y, Mizukoshi K, Shojaku H, et al. Epidemiological and clinical characteristics of Meniere's disease in Japan. *Acta Otolaryngol* 1995;519:206-10.
53. Wladislavosky-Waserman P, Facer GW, Mokri B, et al. Meniere's disease: a 30-year epidemiologic and clinical study in Rochester, MN, 1951-80. *Laryngoscope* 1984;94:1098-102.
54. Mizukoshi K, Ino H, Ishikawa K, et al. Epidemiological survey of definite cases of Meniere's disease collected by the seventeen members of the Meniere's disease Research Committee of Japan in 1975-1976. *Adv Otorhinolaryngol* 1979;25:106-11.
55. Schuknecht HF. *Pathology of the ear*. Cambridge (MA): Harvard University Press, 1991.
56. Paparella MM. Pathology of Meniere's disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1984;93 (Suppl 112):31-5.
57. Lindsay J, Schuknecht HF, Neff WD, et al. Obliteration of the endolymphatic sac and cochlear aqueduct. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1952;61:697-716.
58. Lawrence M. The flow of endolymph – a unified concept. *Otolaryngol Clin N Am* 1980;13:577.
59. Rauch SD, Merchant SN, Thedinger BA. Meniere's syndrome and endolymphatic hydrops: a double-blind temporal bone study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989;98:873-83.
60. Wackym PA, Sando I. Molecular and cellular pathology of Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 1997;30:947-60.

61. Shambaugh GE Jr. The endolymphatic sac and duct in Meniere's disease. Surgical and histopathological observations. *Arch Otolaryngol* 1969;89:815-25.
62. Ikeda I, Sando I. Endolymphatic duct and sac in patients with Meniere's disease: a temporal bone histopathological study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1984;93:540-6.
63. Kodama A, Sando I. Dimensional anatomy of the vestibular aqueduct and the endolymphatic sac (rugose portion) in human temporal bones. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982;91 (Suppl 96):13.
64. Sando I, Ikeda M. The vestibular aqueduct in patient with Meniere's disease: a temporal bone histopathologic investigation. *Acta Otolaryngol* 1984;97:558-70.
65. Gibson WPR, Arenberg K. Pathophysiologic theories in the etiology of Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 1997;30:961.
66. Hebbbar GK, Rask-Andersen H, Linthicum FH. Three-dimensional analysis of 61 human endolymphatic ducts and sacs in ears with and without Meniere's disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991;100:219.
67. Ruckenstein MJ. Immunologic aspects of Meniere's disease. *Am J Otolaryngol* 1999;20:161-5.
68. Tomiyama S. Endolymphatic hydrops induced by immune response of the endolymphatic sac: relation to perilymph antibody levels. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992;(Suppl 157):48-53.
69. Xenellis J, Morrison AW, McClowskey D, et al. HLA antigens in the pathogenesis of Meniere's disease. *J Laryngol Otol* 1986;100:21-4.
70. Duke WW. Meniere's syndrome caused by allergy. *JAMA* 1923;81:2179-81.
71. Derebery MJ. Allergic management of Meniere's disease: an outcome study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:174-82.
72. Antoli-Candela F. The histopathology of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1976;(Suppl 340):5-42.

73. Fraysse B, Alonso A, House W. Meniere's disease and endolymphatic hydrops, clinical-histopathological correlations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990;89 (Suppl 76):2-22.
74. Schuknecht HF, Rütger A. Blockage of longitudinal flow in endolymphatic hydrops. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1991;248:209-17.
75. Okuno T, Sando I. Localization, frequency and severity of endolymphatic hydrops and the pathology of the labyrinthine membrane in Meniere's disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1987;96:438-45.
76. Sennaroglu L, Linthicum FH. Histopathology case of the month: histopathology of Meniere's disease. *Am J Otol* 2000;21:889.
77. Cohen H, Ewell LR, Jenkis HA. Disability in Meniere's disease. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121:29-33.
78. Schessel DA, Minor LB, Nedzelski J. Meniere's disease and other peripheral vestibular disorders. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, et al, eds. *Otolaryngology Head&Neck Surgery*, 3rd ed. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book, 1998:2672-705.
79. Paparella MM. Pathogenesis of Meniere's disease and Meniere's syndrome. *Acta Otolaryngol* 1984;(Suppl 406):10-25.
80. Hays R, Quist-Hanssen SV. The natural course of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1976;82:289-93.
81. Friberg U, Stahle J, Svedberg A. The natural course of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1984;406:72-7.
82. Enander A, Stahle J. Hearing in Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1967;64:543-56.
83. Balkany T, Sires B, Arenberg I. Bilateral aspects of Meniere's disease: an underestimated clinical entity. *Otolaryngol Clin N Am* 1980;13:603.
84. Kitahara M, Kitano H. Surgical treatment of Meniere's disease. *Am J Otol* 1985;6:108-9.
85. Paparella MM, Griebie M. Bilaterality of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1984;9:233-7.
86. Kileny PR, Zwolan TA. Diagnostic and rehabilitative audiology. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, et al, eds. *Otolaryngology*

- Head&Neck Surgery, 3rd ed. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book, 1998:2875-93.
87. Torok N. Old and new in Meniere's disease. *Laryngoscope* 1977;87:1870-7.
 88. Ruckenstein MJ, Rutka JA, Hawke M. The treatment of Meniere's disease: Torok revisited. *Laryngoscope* 1991;101:211-8.
 89. Silverstein H, Smouha E, Jones R. Natural history vs. surgery for Meniere's disease. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;100:6-16.
 90. Dickins JRE, Graham SS. Surgical treatment of peripheral vestibular disorders. In: Glasscock ME III, Gulya AJ, eds. *Surgery of the Ear*, 5th ed. Hamilton, Ontario: B. C. Decker, 2003:547-75.
 91. Sajjadi H. Medical management of Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 2002;35:581-9.
 92. Berryhill WE, Graham MD. Chemical and physical labyrinthectomy for Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 2002;35:675-82.
 93. Dowdal-Osborn M. Early vestibular rehabilitation in patients with Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 2002;35:683-90.
 94. Shepard NT, Telian SA. Vestibular rehabilitation. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, et al. *Otolaryngology Head&Neck Surgery*, 3rd ed. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book, 1998:2744-54.
 95. Horak FB, Jones-Rycewicz C, Black FO, et al. Effects of vestibular rehabilitation on dizziness and imbalance. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;106:175-80.
 96. Jackson LE, Silverstein H. Chemical perfusion of the inner ear. *Otolaryngol Clin N Am* 2002;35:639-53.
 97. Schuknecht HF. Ablation therapy for the relief of Meniere's disease. *Laryngoscope* 1956;66:859-70.
 98. Wanamaker HH, Gruenwald L, Damm KJ, et al. Dose-related vestibular and cochlear effects of transtympanic gentamicin. *Am J Otol* 1998;19:170-9.
 99. Mutlu C. Ototoxisite. Çelik O, ed; *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi (içinde)*. İstanbul: Turgut Yayıncılık, 2002:257-70.

100. Nakashima T, Teranishi M, Hibi T, et al. Vestibular and cochlear toxicity of aminoglycosides – a review. *Acta Otolaryngol* 2000;120:904-11.
101. Okuda T, Sugahara K, Shimogori H, et al. Inner ear changes with intracochlear gentamicin administration in guinea pigs. *Laryngoscope* 2004;114:694-7.
102. Harner SG, Kasperbauer JL, Facer GW, et al. Transtympanic gentamicin for Meniere's syndrome. *Laryngoscope* 1998;108:1446-9.
103. Yetişer S. Medikal Labirentektomi. Ardıç FN, ed; *Vertigo (içinde)*. İzmir: İzmir Güven Kitabevi, 2005:509-34.
104. Hoffmann KK, Silverstein H. Inner ear perfusion: indications and applications. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;11:334-9.
105. Blakley BW. Update on intratympanic gentamicin for Meniere's disease. *Laryngoscope* 2000;110:236-40.
106. Plontke SK, Wood AW, Salt AN. Analysis of gentamicin kinetics in fluids of the inner ear with round window administration. *Otol Neurotol* 2002;23:967-74.
107. Parnes LS, Sun AH, Freeman DJ. Corticosteroid pharmacokinetics in the inner ear fluids: an animal study followed by clinical application. *Laryngoscope* 1999;109:1-17.
108. Light JP, Silverstein H. Transtympanic perfusion: indications and limitations. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;12:378-83.
109. Shea JJ. Streptomycin perfusion of the labyrinth. *Oper Tech Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;2:41-4.
110. Harner SG, Driscoll CLW, Facer GW, et al. Long-term follow-up of transtympanic gentamicin for Meniere's syndrome. *Otol Neurotol* 2001;22:210-4.
111. Martin E, Perez N. Hearing loss after intratympanic gentamicin therapy for unilateral Meniere's disease. *Otol Neurotol* 2003;24:800-6.
112. Nedzelski JM, Chiong CM, Fradet G, et al. Intratympanic gentamicin instillation as treatment of unilateral Meniere's disease: update of an ongoing study. *Am J Otol* 1993;14:278-82.

113. Rauch SD, Oas JG. Intratympanic gentamicin for treatment of intractable Meniere's disease: a preliminary report. *Laryngoscope* 1997;107:49-55.
114. Magnusson M, Padoan S. Delayed onset of ototoxic effects of gentamicin in treatment of Meniere's disease: rationale for extremely low dose therapy. *Acta Otolaryngol* 1991;111:671-6.
115. Walsted A. Unpredictable hearing loss after intratympanic gentamicin treatment for vertigo. A new theory. *Acta Otolaryngol* 2001;121:42-4.
116. Chia SH, Gamst AC, Anderson JP, et al. Intratympanic gentamicin therapy for Meniere's disease: a meta-analysis. *Otol Neurotol* 2004;25:544-52.
117. Doyle KJ, Bauch C, Battista R, et al. Intratympanic steroid treatment: a review. *Otol Neurotol* 2004;25:1034-9.
118. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 7th ed. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1998.
119. Nadel DM. The use of systemic steroids in otolaryngology. *Ear Nose Throat J* 1996;75:502-6.
120. Hargunani CA, Kempton JB, DeGagne JM, et al. Intratympanic injection of dexamethasone: time course of inner ear distribution and conversion to its active form. *Otol Neurotol* 2006;27:564-9.
121. Himeno C, Komeda M, Izumikawa M, et al. Intra-cochlear administration of dexamethasone attenuates aminoglycoside ototoxicity in the guinea pig. *Hear Res* 2002;167:61-70.
122. Derebery MJ, Rao VS, Siglock TJ, et al. Meniere's disease: an immune complex-mediated illness? *Laryngoscope* 1991;101:225-9.
123. Silverstein H, Isaacson JE, Olds MJ, et al. Dexamethasone inner ear perfusion for the treatment of Meniere's disease: a prospective, randomized, double-blind, crossover trial. *Am J Otol* 1998;19:196-201.
124. Atlas MD, Chai F, Boscata L. Meniere's disease. Evidence of an immune process. *Am J Otol* 1998;19:628-31.
125. Arriaga MA, Goldman S. Hearing results of intratympanic steroid treatment of endolymphatic hydrops. *Laryngoscope* 1998;108:1682-5.

126. Paparella MM, Djalilian HR. Etiology, pathophysiology of symptoms, and pathogenesis of Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 2002;35:529-45.
127. Shea JJ. Classification of Meniere's disease. *Am J Otol* 1993;14:224-9.
128. Chandrasekhar SS, Rubinstein RY, Kwartler JA, et al. Dexamethasone pharmacokinetics in the inner ear: comparison of route of administration and use of facilitating agents. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:521-8.
129. Nordang L, Linder B, Anniko M. Morphologic changes in round window membrane after topical hydrocortisone and dexamethasone treatment. *Otol Neurotol* 2003;24:339-43.
130. Rarey KE, Curtis LM, ten Cate WJF. Tissue specific levels of glucocorticoid receptor within the rat inner ear. *Hear Res* 1993;64:205-10.
131. Erichsen S, Bagger-Sjöbäck D, Curtis LM, et al. Appearance of glucocorticoid receptors in the inner ear of the mouse during development. *Acta Otolaryngol* 1996;116:721-5.
132. ten Cate WJF, Curtis LM, Small GM, et al. Localization of glucocorticoid receptors and glucocorticoid receptor mRNAs in the rat cochlea. *Laryngoscope* 1993;103:865-71.
133. Takemura K, Komeda M, Yagi M, et al. Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res* 2004;196:58-68.
134. Barrs DM, Keyser JS, Stallworth C, et al. Intratympanic steroid injections for intractable Meniere's disease. *Laryngoscope* 2001;111:2100-4.
135. Barrs DM. Intratympanic injections of dexamethasone for long-term control of vertigo. *Laryngoscope* 2004;114:1910-4.
136. Itoh A, Sakata E. Treatment of vestibular disorders. *Acta Otolaryngol* 1991;481:617-23.
137. Sennaroglu L, Sennaroglu G, Gursel B, et al. Intratympanic dexamethasone, intratympanic gentamicin, and endolymphatic sac

- surgery for intractable vertigo in Meniere's disease. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125:537-43.
138. Shea JJ, Ge X. Dexamethasone perfusion of the labyrinth plus intravenous dexamethasone for Meniere's disease. *Otolaryngol Clin North Am* 1996;29:353-8.
 139. Silverstein H, Jackson LE, Light JP. Steroid rescue of hearing during gentamicin perfusion of the inner ear. Presented at the annual meeting of the American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery. Denver, CO, September 10, 2001.
 140. Au JL, Panchal N, Li D, et al. Apoptosis: a new pharmacodynamic endpoint. *Pharm Res* 1997;14:1659-71.
 141. Van Cruchten S, Van Den Broeck W. Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis. *Anat Histol Embryol* 2002;31:214-23.
 142. Guitton MJ, Wang J, Puel JL. New pharmacological strategies to restore hearing and treat tinnitus. *Acta Otolaryngol* 2004;124:411-5.
 143. Nakagawa T, Yamane H, Takayama M, et al. Apoptosis of guinea pig cochlear hair cells following chronic aminoglycoside treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1998;255:127-31.
 144. Momiyama J, Hashimoto T, Matsubara A, et al. Leupeptin, a calpain inhibitor, protects inner ear hair cells from aminoglycoside ototoxicity. *Tohoku J Exp Med* 2006;209:89-97.
 145. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501.
 146. Forge A. Outer hair cell loss and supporting cell expansion following chronic gentamicin treatment. *Hear Res* 1985;19:171-82.
 147. Nakagawa T, Yamane H, Shibata S, et al. Gentamicin ototoxicity induced apoptosis of the vestibular hair cells of guinea pigs. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;254:9-14.
 148. Raphael Y, Altschuler RA. Scar formation after drug-induced cochlear insult. *Hear Res* 1991;51:173-84.

149. Forge A, Li L. Apoptotic death of hair cells in mammalian vestibular sensory epithelia. *Hear Res* 2000;139:97-115.
150. Hong SH, Park SK, Cho YS, et al. Gentamicin induced nitric oxide-related oxidative damages on vestibular afferents in the guinea pig. *Hear Res* 2006;211:46-53.
151. Ohtani I, Okitsu K, Aikawa T, et al. Protective effect of fosfomicin against aminoglycoside ototoxicity. *ORL* 1985;47:42-8.
152. Garetz S, Altschuler RA, Schacht J. Attenuation of gentamicin ototoxicity by glutathione in the guinea pig in vivo. *Hear Res* 1994;77:81-7.
153. Lautermann J, McLaren J, Schacht J. Glutathione protection against ototoxicity depends on nutritional status. *Hear Res* 1995;86:15-24.
154. Nishida I, Takimuda M. Attenuation of aminoglycoside ototoxicity by glutathione. *ORL* 1996;58:68-73.
155. Garetz SL, Rhee DJ, Schacht J. Sulfhydryl compounds and antioxidants inhibit cytotoxicity to our hair cells of a gentamicin metabolite in vitro. *Hear Res* 1994;77:75-80.
156. Conlon BJ, Aran JM, Erre JP, Smith DW. Attenuation of aminoglycoside-induced cochlear damage with the metabolic antioxidant α -lipoic acid. *Hear Res* 1999;128:40-4.
157. Conlon BJ, Pery BP, Smith DW. Attenuation of neomycin ototoxicity by iron chelation. *Laryngoscope* 1998;108:284-7.
158. Takumida M, Popa R, Anniko M. Free radicals in the guinea pig inner ear following gentamicin exposure. *ORL* 1999;61:63-70.
159. Lopez I, Honrubia V, Lee SC, et al. The protective effect of brain-derived neurotrophic factor after gentamicin ototoxicity. *Am J Otol* 1999;20:317-24.
160. Sheppard WM, Wanamaker HH, Pack A, et al. Direct round window application of gentamicin with varying delivery vehicles: a comparison of ototoxicity. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:890-6.

161. Husmann KR, Morgan AS, Girod DA, et al. Round window administration of gentamicin: a new method for the study of ototoxicity of cochlear hair cells. *Hear Res* 1998;125:109-19.
162. Kobayashi M, Umemura M, Sone M, et al. Differing effects on the inner ear of three gentamicin compounds: GM-C1, -C2 and -C1a. *Acta Otolaryngol* 2003;123:916-22.
163. Zheng Y, Schachern PA, Michihiko S, et al. Histopathology case of the month: aminoglycoside ototoxicity. *Otol Neurotol* 2001;22:266-8.
164. Imamura S, Adams JC. Distribution of gentamicin in the guinea pig inner ear after local or systemic application. *J Assoc Res Otolaryngol* 2003;4:176-95.
165. Matz G, Rybak L, Roland PS, et al. Ototoxicity of ototopical antibiotic drops in humans. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130:S79-S82.
166. Harada T, Nagai Y, Iwamori M, et al. Ototoxicity of neomycin and its penetration through the round window membrane into the perilymph. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986;95:404-8.
167. Kohonen A, Tarkkanen J. Cochlear damage from ototoxic antibiotics by intratympanic application. *Acta Otolaryngol* 1969;68:90-7.
168. Brummett RE, Haris RF, Lindgren JA. Detection of ototoxicity of drugs applied directly to the middle ear space. *Laryngoscope* 1976;86:1177-87.
169. Pender DJ. Gentamicin tympanoclysis: effects on the labyrinthine sensory cells. *Laryngoscope* 2003;113:343-8.
170. Wagner N, Caye-Thomasen P, Laurell G, et al. Cochlear hair cell loss in single-dose versus continuous round window administration of gentamicin. *Acta Otolaryngol* 2005;125:340-5.
171. Choi D, Park SK, Martin P, et al. Effect of aminoglycoside otic drops on isolated cochlear outer hair cells with and without liver extract activation. *Acta Otolaryngol* 2004;124:675-8.
172. Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, et al. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hear Res* 1996;98:116-24.

173. Hirose K, Hockenberry DN, Rubel EW. Reactive oxygen species in chick hair cells after gentamicin exposure in vitro. *Hear Res* 1997;104:1-14.
174. Sha SH, Schacht J. Stimulation of free radical formation by aminoglycoside antibiotics. *Hear Res* 1999;128:112-8.
175. Hinojosa R, Nelson EG, Lerner SA, et al. Aminoglycoside ototoxicity: a human temporal bone study. *Laryngoscope* 2001;111:1797-805.
176. Shirwany NA, Seidman MD, Tang W. Effect of transtympanic injection of steroids on cochlear blood flow, auditory sensitivity, and histology in the guinea pig. *Am J Otol* 1998;19:230-5.
177. Tuor UI, Simone CS, Arellano R, et al. Glucocorticoid prevention of neonatal hypoxic-ischemic damage: role of hyperglycemia and antioxidant enzymes. *Brain Res* 1993;604:165-72.
178. Hu ZB, Yang GS, Li M, et al. Mechanism of cytosine arabinoside toxicity to the blast cells of acute myeloblastic leukemia: involvement of free radicals. *Leukemia* 1995;9:789-98.