

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
CERRAHİ TIP BÖLÜMLERİ BÖLÜMÜ
KULAK BURUN BOĞAZ
ANABİLİM DALI

**CASTELLANİ SOLÜSYONUNUN
KOBAYLARDA OTOTOKSİK ETKİSİNİN
OTOAKUSTİK EMİSYON ve
BEYİNSAPI İŞİTSEL UYARILMIŞ
POTANSİYELLERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ÖMER BAYIR

UZMANLIK TEZİ

İZMİR – 2010

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
CERRAHİ TIP BÖLÜMLERİ BÖLÜMÜ
KULAK BURUN BOĞAZ
ANABİLİM DALI

**CASTELLANI SOLÜSYONUNUN
KOBAYLARDA OTOTOKSİK ETKİSİNİN
OTOAKUSTİK EMİSYON ve
BEYİNSAPI İŞİTSEL UYARILMIŞ
POTANSİYELLERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ÖMER BAYIR
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. BÜLENT ŞERBETÇİOĞLU

TEŞEKKÜR

Öğrenciliğim ve asistanlığım boyunca maddi ve manevi desteğini hiç eksik etmeyen aileme;

Tez çalışmamın her aşamasında yardımcı olan hocam Doç. Dr. Günay KIRKIM ve Uzm. Biyolog H. Efsun KOLATAN'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli katkılarından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. M. Bülent ŞERBETÇİOĞLU'na;

Bu tezin istatistiksel analizinde yardımcı olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Alp ERGÖR'e;

Asistanlığım boyunca yardımlarını esirgemeyen Odyoloji Yüksek Lisans öğrencileri Serpil Mungan, Merve Durgut ve Selhan Gürkan'a;

Asistanlığım boyuncaengin bilgileri ve deneyimlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Kerim CERYAN, Prof. Dr. Ataman GÜNERİ, Prof. Dr. Semih SÜTAY, Prof. Dr. E. Alpin GÜNERİ, Prof. Dr. A. Ömer İKİZ, Doç. Dr. T. Kemal ERDAĞ ve Doç. Dr. M. Cenk ECEVİT'e;

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Murat BELGİ, Uzm. Dr. Ersoy Doğan ve Uzm. Dr. Yücel Birinci'ye;

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nın tüm çalışanlarına;

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
RESİM LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET (Türkçe ve İngilizce).....	1
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Otomikoz	7
2.2. Castellani Solüsyonu	8
2.3. Ototoksisite.....	10
2.4. Gentamisin Ototoksisitesi.....	11
2.5. Ototoksisitenin Monitörizasyonu	13
2.6. Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyelleri.....	13
2.7. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Anestezi Yöntemi	18
3.2. İntratimpanik enjeksiyon	19
3.3. DPOAE ve BİUP Testlerinin Uygulanması	21
3.4. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
7. KAYNAKLAR.....	44

KISALTMALAR

Ag: Aminoglikozid

BİUP: Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri

Cs: Castellani solüsyonu

dB: Desibel

DEÜİKDÜ: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı
İşitme-Konuşma-Denge Ünitesi

DEÜDHÜAL: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve
Araştırma Laboratuvarı

DKY: Dış kulak yolu

DPOAE: Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon

DTH: Dış tüylü hücre

FDA: Federal Drug Administration

Gm: Gentamisin

HL: Hearing Level

Hz: Hertz

İTH: İç tüylü hücre

kHz: kilo Hertz

OAE: Otoakustik emisyon

OD: Ortanca değer

SD: Standart deviasyon

Sf: Serum fizyolojik

SNİK: Sensörinöral işitme kaybı

SS: Standart sapma

TM: Timpan membran

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Otomikoz predispozan faktörler.....	8
Tablo 2: Topikal antifungaller.....	9
Tablo 3: Castellani solüsyonunun içeriği.....	9
Tablo 4: BİUP testinde kullanılan klik parametreleri.....	22
Tablo 5: BİUP testinde kullanılan 6 kHz ve 8 kHz ton burst parametreleri.....	21
Tablo 6: İntratimpanik enjeksiyonlardan önce, intratimpanik enjeksiyonlardan 10 ve 21 gün sonra, klik uyararı ile yapılan BİUP sonuçları.....	30
Tablo 7: İntratimpanik enjeksiyonlardan önce, intratimpanik enjeksiyonlardan 10 ve 21 gün sonra, 6 kHz ve 8 kHz ton burst uyarana karşı elde edilen BİUP eşik sonuçları.....	31
Tablo 8: İntratimpanik enjeksiyonlar öncesinde alınan BİUP eşiklerinin ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri).....	32
Tablo 9: İntratimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 10. günde BİUP eşiklerinin ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri).....	32
Tablo 10: İntratimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 21. günde BİUP eşiklerinin ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri).....	32
Tablo 11: İntratimpanik enjeksiyonlar öncesinde DPOAE yanıtlarının ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri).....	34
Tablo 12: İntratimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 10. günde alınan DPOAE yanıtlarının ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri).....	34
Tablo 13: İntratimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 10. günde alınan DPOAE yanıtlarının ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri).....	34

Tablo 14: İntratifpanik Gm uygulanan grubun (Grup 1), DPOAE yanıtlarının ve BİUP eşiklerinin, testler arasında Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılması (p değeri).. 36

Tablo 15: İntratifpanik Cs uygulanan grubun (Grup 2), DPOAE yanıtlarının ve BİUP eşiklerinin, testler arasında Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılması (p değeri)...36

Tablo 16: İntratifpanik Sf uygulanan grubun (Grup 3), DPOAE yanıtlarının ve BİUP eşiklerinin, testler arasında kendi içerisinde Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılması (p değeri)..... 37

Tablo 17: İntratifpanik Gm uygulanan grubun (Grup 1) intratifpanik Sf verilen gruba (Grup 3) göre DPOAE ve BİUP değışiklikleri değeriendirme amaçlı yapılan Mann-Whitney U testinin ‘p’ değeri..... 38

Tablo 18: İntratifpanik Cs uygulanan grubun (Grup 2) intratifpanik Sf verilen gruba (Grup 3) göre DPOAE ve BİUP değışiklikleri değeriendirme amaçlı yapılan Mann-Whitney U testinin ‘p’ değeri..... 38

Tablo 19: İntratifpanik Gm uygulanan grubun (Grup 1) intratifpanik Cs verilen gruba (Grup 2) göre DPOAE ve BİUP değışiklikleri değeriendirme amaçlı yapılan Mann-Whitney U testinin ‘p’ değeri..... 38

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Çalışmada kullanılan ilaçlar.....	19
Resim 2: Anestezi için kullanılan ilaçlar.....	20
Resim 3: Yüksek doz eter solutularak uygulanan sakrifikasyon.....	20
Resim 4: Otomikroskopik bakı ve intratimpanik enjeksiyon.....	21
Resim 5: İntratimpanik enjeksiyonda kullanılan aletler.....	21
Resim 6: Çalışmada kullanılan DPOAE ve BİUP testi düzenekleri.....	23

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Gereç ve yöntem akış şeması.....	23
Şekil 2: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce klik uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	24
Şekil 3: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce 6 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	24
Şekil 4: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce 8 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	25
Şekil 5: İntratifimpanik Gm uygulanan kobaylarda 10. gün klik uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	25
Şekil 6: İntratifimpanik Cs uygulanan kobaylarda 10. gün 6 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	26
Şekil 7: İntratifimpanik Sf uygulanan kobaylarda, 10.günde 8 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	26
Şekil 8: İntratifimpanik Gm uygulanan kobaylarda, 21. günde 6 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	27
Şekil 9: İntratifimpanik Cs uygulanan kobaylarda, 21. günde 8 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	27
Şekil 10: İntratifimpanik Sf uygulanan kobaylarda, 21. günde klik uyarı ile elde edilen işitme eşik traseri.....	28
Şekil 11: Grupların BIUP yanıtlarının, 3-D Bar Charts yöntem ile günlere göre ortalamaları.....	33
Şekil 12: Grupların BIUP yanıtlarının Error Bar yöntemi ile günlere göre ortalamaları...	33
Şekil 13: Grupların DPOAE yanıtlarının, Error Bar yöntemi ile günlere göre talamaları.	35
Şekil 14: Grupların DPOAE yanıtlarının, 3-D Bar Charts yöntem ile günlere göre ortalamaları.....	35

ÖZET

Castellani Solüsyonunun Kobaylarda Ototoksik Etkisinin Otoakustik Emisyon ve Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyelleri ile Değerlendirilmesi.

Dr. Ömer BAYIR

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı
İnciraltı / İzmir

Amaç: Otomikoz tedavisinde güçlü etkiye sahip ve ototoksik etkisi olmayan ilaç araştırmaları günümüzde de devam etmektedir. Kulak Burun Boğaz pratiğinde timpan membran perforasyonu bulunan hastalarda topikal otomikoz ilaçlarının kullanılmasından ototoksik etkileri nedeniyle kaçınılmaktadır. Fungal eksternal otit tedavisi için kullanılan nonspesifik ototopikal ilaçlardan birisi olan Castellani solüsyonu, uzun yıllardır özellikle Türkiye’de tercih edilmektedir. Timpan membran perforasyonu olan hastalarda da otomikoz tedavisi için kullanılmakta olan Castellani solüsyonunun ototoksik etkisine ışık tutabilmek amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Ondört dişi erişkin albino kobay çalışmaya alındı. Tüm işitme testlerinin uygulanmasından önce, kobayların otomikroskopik incelemeleri gerçekleştirilerek distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ve beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyellerinin yanıtları kaydedildi. Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri testinde klik, 6 kHz ve 8 kHz ton burst uyarılar kullanıldı. Sonrasında 7 kobayın sol orta kulağına, 7 gün boyunca, intratimpanik 0.2 ml (40 mg/ml) Gentamisin enjeksiyonu uygulandı (Grup 1). Diğer 7 kobayın sol kulağına, 7 gün boyunca 0.1 ml Castellani solüsyonu enjeksiyonu uygulandı (Grup 2). Tüm kobayların sağ kulağına, 7 gün boyunca, intratimpanik 0.2 ml serum fizyolojik enjeksiyonu uygulandı (Grup 3). Enjeksiyonların başlangıcından 10 ve 21 gün sonra, distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ile beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri testleri tekrarlandı. Testlerin verileri, Wilcoxon Signed Ranks Testi, Mann - Whitney U Testi ve Kruskal – Wallis Testi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi.

Bulgular: Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon yanıtları Grup 1 ve Grup 2’de incelenen kulaklarda 10 ve 21. günlerde alınamazken, Grup 3’teki kulaklarda bu yanıtlar elde

edildi. Grup 1 ve Grup 2'deki kobay kulaklarında, enjeksiyon öncesiyle 10 ve 21. gün beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri eşikleri karşılaştırıldığında, anlamlı bir eşik artışı gözlemlendi. Bununla birlikte, serum fizyolojik uygulanmasından önce ve 21. günde elde edilen işitsel uyarılmış potansiyel eşiklerinde anlamlı bir değişiklik saptandıysa da bu fark hiçbir kulakta aslında 5 dB sınırını aşmamaktaydı. Bu nedenle, bu farklılığın ototoksisiteyle bağlantılı olduğu düşünülmeydi. Yapılan istatistiksel analizlerde, her iki işitme testi kullanılarak Grup 1 ile Grup 3 ve Grup 2 ile Grup 3 arasında gerçekleştirilen karşılaştırmaların tümünde anlamlı farklılıklar gözlemlendi.

Sonuç: Yukardaki bulgular ışığında, Castellani solüsyonunun kobaylarda ototoksik etkisinin bulunduğu sonucuna varıldı. Ototoksisiteye insandan daha duyarlı olduğu bilinen kobayda Castellani solüsyonunun ototoksik olması, insanda da ototoksik etkisi olacağı anlamına gelmemektedir. Bununla birlikte, bu çalışmanın sonucuna göre, timpan membran perforasyonu bulunan otomikozlu hastalarda Castellani solüsyonunun kullanılması önerilemez. İleri çalışma olarak Castellani solüsyonunun içeriğinde bulunan tüm maddelerin ototoksik etkisinin ayrı ayrı araştırılması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Ototoksisite, Castellani solüsyonu, Gentamisin, otomikoz, ototopikal ilaçlar.

ABSTRACT

Assesment of Castellani Solution's Ototoxic Effects on Guinea Pigs Using Otoacoustic Emission and Auditory Evoked Brainstem Potentials

Dr. Ömer BAYIR

Dokuz Eylul University, Medical School,

Department of Otorhinolaryngology

İnciraltı / İzmir

Objective: Research seeking an agent that has an intense impact on otomycosis treatment with less ototoxicity has been continuing. Use of topical otomycosis drugs on patients with tympanic membrane perforation has been problematic in ENT practice because of potential ototoxicity. One of the nonspecific topical drug is Castellani's solution. It is used for fungal external otitis treatment and commonly preferred in Turkey for years. It is likely that guinea pigs are more susceptible to topical ototoxic drugs than are humans. Thus, this research is planned to evaluate ototoxic effects of Castellani's solution on guinea pigs when used intratympanically.

Material and Methods: Fourteen female adult albino guinea pigs were used in this experiment. Distortion product otoacoustic emissions and auditory evoked brainstem potentials were recorded in order to evaluate the effect of intratympanic injections. All treatments were performed seven consecutive days using intratympanic injection. The first group comprised of the left ears of seven guinea pigs and received 0.2 ml of gentamicin (40 mg/ml (Group 1). The second group comprised of the left ears of the other seven guinea pigs and received 0.1 ml of Castellani's solution (Group 2). Contralateral ears of all these fourteen guinea pigs were used as negative control group and received 0.2 ml of saline solution intratympanically for seven consecutive days (Group 3). All these treatments were performed simultaneously. Otomicroscopic evaluation was performed in order to check the external ear canal and tympanic membrane of pigs prior to all recordings. For auditory evoked brainstem potential recordings, standart alternating clicks as well as 6 and 8 kHz tone bursts were delivered through an insert earphone. Distortion product otoacoustic emissions and auditory evoked brainstem potentials were recorded, three times for each guinea pig, prior to

intratympanic injection, on the tenth and twenty-first days after the injections. Wilcoxon Signed Ranks Test, Mann – Whitney U Test and Kruskal – Wallis Test were used for statistical analysis of data.

Results: In Groups 1 and 2, following Castellani and gentamicin injections, distortion product otoacoustic emissions were absent on tenth and twenty-first days of the experiment. However, for Group 3, there was no significant change in both responses for the same time periods. The only statistical difference was occurred between the auditory evoked brainstem potential thresholds before and after the twenty-first day of the experiment of the saline solution. On the tenth and twenty-first day of the experiment, in the ears belong to Groups 1 and 2, auditory evoked brainstem potentials thresholds were found to be significantly increased, whereas in Group 3 ears any threshold shifts obtained were 5 dB HL only. Thus, the latter result is not considered to be due to ototoxicity. According to statistical analysis, significant differences were found between Groups 1 and 3 as well as Groups 2 and 3.

Conclusion: It is concluded that Castellani's solution has ototoxic effect on guinea pigs. Thus, Castellani's solution is not to be recommended to patients with tympanic membrane perforation. As a further research, all the components of Castellani's solution should be tested individually.

Key words: Ototoxicity, Castellani's solution, gentamicin, otomycosis, ototopical agents.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dış kulak yolunda (DKY) koruyucu bariyerler olmasına rağmen bu bariyerlerin hasar görmesi halinde enfeksiyon görülebilir. Mantarlar tarafından oluşturulan DKY enfeksiyonu otomikoz olarak tanımlanır. Otomikozun etiolojisinde birçok faktör olmasına karşın en bilinen neden, sıcak ve nemli iklimdir. Otomikoz tedavisinin en önemli bölümünü DKY temizliği oluştururken ek olarak topikal ve gerekli olduğu hallerde sistemik antifungal ilaçlar da kullanılır (1-4).

Otomikozda kullanılan nonspesifik ototopikal antifungaller içerisinde henüz Federal Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan bir ilaç bulunmamaktadır. Bunun en önemli nedeni, ototoksisite oluşturmalarıdır. Asetik asit, borik asit, cresylate ve Gentian boyasının ototoksik etkileri prospektif çalışmalarda gösterilmiş iken alüminyum asetatın ototoksik olmadığı gösterilmiştir. Türkiye’de sıklıkla kullanılan nonspesifik bir ototopikal antifungal olan Castellani solüsyonunun (Cs) ise henüz ototoksik etkisi olup olmadığı tam olarak anlaşılamamıştır (5-7).

Ototoksisite üzerine pek çok çalışma bulunmaktadır. Son 30 yılda ototoksisite konusunda çok geniş araştırmalar yürütülmüş olmasına karşın, birçok maddenin ototoksisite mekanizması halen tam aydınlatılamamıştır. Ototoksisite araştırmaları çoğunlukla deney hayvanları ve özellikle kobaylar üzerinde yapılmaktadır. Bunun nedeni, kobayların anatomik özelliklerinden kaynaklanmaktadır (8,9).

Ototoksisitenin tanı ve takibinde birçok test olmasına rağmen, çalışmalarda sıklıkla otoakustik emisyon (OAE) ve beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri (BİUP) kullanılmaktadır. OAE, özellikle iç kulak fonksiyonlarının işlevini gösterirken, BİUP, objektif işitme eşiklerini belirlemede kullanılır. Her iki test de objektif odyolojik test sayılmaktadır. Uyarılmış OAE testlerinden biri olan distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE), dış tüylü hücrelerin (DTH) işlevini yansıtmadaki üstünlüğünden dolayı ototoksisite değerlendirilmesinde tercih edilen önemli bir testtir (10-13).

Orta kulak ile DKY arasındaki timpan membran, orta kulağın asıl koruyucu bariyeridir. Ototopikal otomikoz ilaçlar, DKY'ye damlatılarak kullanılır. Bu nedenle timpan membran perforasyonu olan hastalarda kullanılan ototopikal ilaçların, orta kulaktan geçerek yuvarlak pencere aracılığı ile kokleayı etkiledikleri ve ototoksisiteye neden oldukları düşünülmektedir (6,7).

Çalışmamızda, timpan membran perforasyonu olan otomikoz tanılı hastalarda kullanılan Cs'nun ototoksisitesine ışık tutabilmek amacıyla, insandan daha fazla ototoksisiteye duyarlı olduğu kabul edilen kobayda, Cs ototoksisitesi DPOAE ve BİUP testleri ile incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Dış kulak yolunda anatomik ve histolojik bariyerler bulunmaktadır. DKY çevresindeki saçlar, aurikula ve tragus yüzeyel bariyerleri oluşturmaktadır. Medial bariyer ise orta kulak ile DKY arasındaki timpan membrandır. DKY lateral 1/3'te (kartilaj kısım) kıl folikülleri ve serümeni üreten apopiloseböz glandlar yer almaktadır. Serümen, DKY cildi üzerine yayılarak hidrofobik bir yüzey oluşturur. Ayrıca serümen içerisinde lizozim, immünglobulinler gibi enzim ve proteinler bulunur. Serümenin bu özellikleri, enfeksiyona karşı koruyucu bir bariyer oluşturur (1-4,14-16).

2.1. Otomikoz

Otomikoz, DKY mantar enfeksiyonu olup fungal eksternal otit olarak da isimlendirilmektedir. Özellikle yaz aylarında sıklığı artan bu hastalığın literatürde % 5-30 arasında değişen değerlerde insidans oranları belirtilmiştir (4,17-19).

Otomikoz etkenlerinden en sık görülenler, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* olup diğer *Candida* ve *Aspergillus* tipleri de fungal otitis eksterna yapabilir. Nadir görülmekle birlikte dermatofitler, *Mucor* sp. ve *Penicillium* sp.'de otomikoza neden olabilir. Mantarlar DKY'de saprofit olarak bulunurlar. Normalde DKY'nin pH'sı hafif asidik olup, özellikle *Aspergillus niger* kolonizasyonu için uygun bir ortamdır (20-26). Mantarlar, DKY'deki stratum korneum katmanına yerleşerek burada üremeye başlar ve enfeksiyona neden olurlar (1-3).

Fungus spor ve hifleri atmosferde bulunurlar ve kolaylıkla DKY'ye yerleşebilirler. Otomikoz özellikle sıcak ve rutubetli ortamlarda gelişir. Ayrıca yaz aylarında yüzme havuzlarının kullanımının artması nedeniyle otomikoz sıklığı artar. Mantarlar uzun süreli antibiyotik kullanımı ve immün sistem bozukluklarına neden olabilecek sistemik hastalık varlığında (Diabetes mellitus vs.) enfeksiyona neden olabilirler. Bunların dışında radyoterapi alan hastalarda da otomikoz olabileceği belirtilmiştir. Temelde yukarıda sayılan predispozan faktörler, DKY koruyucu bariyerini hasarlayarak mikrotravma oluşturur ve otomikozu

kolaylaştırır (Tablo 1). Açık teknik mastoidektomi kavitelerinde ve işitme cihazı kullanan hastalarda da otomikoz görülme sıklığı artmaktadır. Bakteriyel otitis eksterna enfeksiyonları, bulundukları ortamın fizyolojik özelliklerini değiştirerek fungal enfeksiyon gelişimine zemin hazırlar (1-3,20,27-29).

Yakınma olarak kulakta dolgunluk hissi, kaşıntı, yoğun ve kötü kokulu kulak akıntısı, işitme kaybı ile bazen hafif otalji olabilir. Otoskopide koyu kıvamda, kötü kokulu, kirli beyaz renkte akıntı görülür. Özellikle *Aspergillus niger*'in konidioformları, siyah filamanlar ve noktacıklar halinde görülebilir. Ayrıca *Candida* sp.'leri beyaz renkte hifler halinde gözlemlenebilir. Bunların dışında DKY ödemli ve hiperemik olabilir (1-4,14,16,17,29).

Tablo 1: Otomikoz predispozan faktörler

Travma
Sıcak ve nemli iklim
Yüzme
Dermatit
Sistemik hastalık (Diabetes mellitus, tiroid hastalıkları, anemi, diğer sistemik hastalıklar vs...)
Mastoidektomi
Radyoterapi
Uzun süreli antibiyotik tedavisi

Otomikozun tedavisinde DKY temizliği otolaringologların dikkat etmesi gereken en önemli aşamayı oluşturur. Gerektiğinde günlük tekrarlanan irrigasyon ve aspirasyonlarla DKY temizliği yapılmalıdır. Bunun haricinde topikal ve sistemik antifungal tedaviler uygulanabilir (1-3,14,24).

Topikal antifungaller, DKY temizliği sağlanarak enfeksiyon kontrol altına alınana kadar direkt ya da pamuk aplikatöre damlatılarak DKY'ye yerleştirilir. Topikal antifungaller, spesifik ve nonspesifik olarak ayrılırlar (Tablo 2). Dirençli olgularda ketokonazol, flukonazol ve itraconazol gibi azol grubu antifungaller kullanılabilir (1-3,5,14,30).

2.2. Castellani Solüsyonu

Nonspesifik damlalar arasında bulunan Cs, 1905 yılında tropikal hastalıklar uzmanı Aldo Castellani tarafından intertriginöz alandaki tinea cruris ve moniliasis hastalıklarında

kullanılmak üzere tanımlanmıştır. Sonraki yıllarda otomikozda da kullanılmaya başlanan bu solüsyon, enfekte epidermisin deskuamasyonunu teşvik eder ve asidik ortam oluşturur (3,31).

Cs, birçok maddenin karışımından oluşmaktadır (Tablo 3). Basic fuksin, resorsinol, etil alkol, fenol, borik asit ve distile sudan oluşmuştur (3,14,31,32). Aseton, etil alkol ve borik asit antiseptik olarak etki etmesine rağmen yüksek konsantrasyonlarda toksik etkileri vardır. Fenol, düşük konsantrasyonlarda serbest sinir uçlarına etki ederek antipiruritik etki gösterirken yüksek konsantrasyonlarda nefrotoksiktir. Resorsinol, antipiruritik, antimikotik, antiegzamatöz ve keratolitik etkiye sahiptir. Basic fuksinin antibakteriyal, fungisidal ve lokal anestezik etkileri bulunmaktadır (31).

Tablo 2: Topikal antifungaller

Nonspesifik	Spesifik
Aluminyum asetat	Clotrimazole
Asetik asit	Nystatin
Asit borik (%5)	Miconazole
Gentian violet (%2)	Tolnaftate
Cresylate	
Cs	

Tablo 3: Castellani solüsyonunun içeriği

Basic fuksin	0.3 gr
Resorsinol	10 gr
Aseton	4 ml
Etil alkol %90	10 ml
Fenol	4 gr
Borik asit	1 gr
Distile su	100 ml

Topikal basic fuksin, aseton, fenol ve resorsinol ototoksitesisi hakkında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Öztürkcan ve arkadaşları tarafından % 70 alkol ile % 4'lük borik asit karışımı kullanılarak yapılan bir çalışmada, borik asidin ototoksik etkisinin olduğu fakat % 4'lük borik asitin distile su ile karışımının ototoksik etki oluşturmadığı kobaylar üzerinde gösterilmiştir (33). Morizono ve Sikora, çinçilya orta kulaklarında farklı konsantrasyonlarda yaptıkları bir çalışmada, %50 etil alkolün kritik değer olduğu, bunun üzerindeki konsantrasyonlarda ototoksik etki yaratabileceğini belirtmişlerdir (34). Her ne kadar Cs'da %90 etil alkol kullanılsa da distile su ile konsantrasyonu %10'un altına düşmektedir. Bu

bilgiler ışığında, Cs'nin içeriğinde topikal uygulamada ototoksisitesi çalışılmamış 4 madde bulunmaktadır. Son dönemde Gültekin ve arkadaşlarının Cs'nin ototoksisitesi üzerine bir araştırması yayınlanmış olup tartışma kısmında irdelenecektir (35).

2.3. Ototoksisite

Ototoksisite, kimyasal maddelerin ya da ilaçların kokleada, koklear sinirde ve vestibüler sistemde yapısal hasara veya fonksiyonel bozukluğa neden olmasıdır. Kokleotoksisite ve vestibulotoksisite, ototoksisitenin alt bölümleridir. Ototoksisitenin en sık semptomları, işitme kaybı ve tinnitustur. İşitme kaybı özellikle bilateral tiz frekanslarda sensörinöral (SNİK) tipte olmasına rağmen pes frekanslarda da olabilir. Ayrıca nadiren de olsa unilateral işitme kaybı görülebilir. Tinnitus başlangıçta tiz frekanslı ve şiddetli olabilir. Fakat geç dönemlerde şiddeti azalmakla birlikte devam eder (8, 11, 36, 37).

Ototoksisite geçici ya da kalıcı olabilir. Ek yakınmalar içerisinde baş dönmesi, dengesizlik, bulantı ve kusma görülebilir (8,11,36). Birçok ilacın ototoksisitesi kanıtlanmıştır. Burada, otoksisitesi en fazla araştırılan grup olan aminoglikozidlerden olan (Ag) gentamisin (Gm) ototoksisitesi anlatılacaktır.

İntratimpanik olarak ya da TM perforasyonu bulunan olgularda, orta kulağa uygulanan ototopikal ilaçların iç kulağa erişmesi, yuvarlak pencere membranı aracılığı ile olmaktadır. Yuvarlak pencere membranı albumin, peroksidaz ve birçok maddenin geçişini sağlayan, mikropinositotik vezikülleri bulunan üç katmanlı yapıdan oluşur. Yuvarlak pencere membranındaki madde geçişleri pasif difüzyon, intraepitelyal ve interepitelyal transport ile olur. Akut ve kronik orta kulak enfeksiyonlarında yuvarlak pencere membranı incelenerek geçirgenliği artabilir (6,37,38).

Ototoksisite çalışmalarında kobayların kullanılmasının bazı nedenleri bulunmaktadır. İnsan yuvarlak penceresi, kobaydakine göre daha kalındır ve ototopikal olarak kullanılan ilaçların daha az ototoksik etki göstermesine neden olur. Ayrıca kobaydaki yuvarlak pencere nişi daha yüzeyel yerleşimlidir (39,40). Dolayısıyla ototopikal olarak kullanılan ilaçların kobaylarda ototoksisite oluşturmaları halinde, insanda da aynı maddenin ototoksik etkisi

gözlenmeyebilir. Bununla birlikte, kobaylarda ototoksik olmayan bir ilacın insanda ototoksik etkisinin olma olasılığı düşüktür. Ayrıca kobayların işitme aralığı 54 Hz ile 50 kHz arasında olmakla beraber 1 kHz ile 32 kHz arasında duyarlılığı daha fazladır (41).

2.4. Gentamisin Ototoksisitesi

Streptomisin 1940'lı yıllarda ilk kullanılmaya başlanan ve ototoksik etkisi ilk çalışılan Ag'dir. Neomisin, paramisin, kanamisin, gentamisin, tobramisin, amikasin, sisomisin ve netilmisin bu gruba eklenen diğer ilaçlardır. Ag, gram-negatif aerob bakteri enfeksiyonlarında kullanılan, gastrointestinal emilimi zayıf, oral alınmaları halinde biyoyararlanımı düşük, yüksek polariteye sahip katyonik ilaçlardır. Ribozomların 30s alt ünitelerine bağlanarak bakterilerin protein sentezini durdurarak bakterisidal etki oluştururlar (9, 36-38, 42, 43).

Ag ilaçların her birinin ototoksik etkisi ve etki spektrumu farklıdır. Amikasin, kanamisin ve neomisinin kokleotoksik etkisi daha güçlü iken gentamisin ve streptomisin daha güçlü vestibulotoksik etkisi bulunmaktadır. Ag'in temel ototoksisite mekanizması, koklear ve vestibuler nöroepitelin hasarıdır (9,42-44).

Kokleada öncelikle bazal kıvrımdaki en iç sıradaki DTH etkilenir. Hasarın şiddeti arttıkça diğer sıradaki ve apikale doğru olan DTH ve iç tüylü hücreler (İTH) etkilenmeye başlar. Bu mekanizma, ototoksisitede sensörinöral işitme kaybının öncelikle yüksek frekanslarda ve daha sonra düşük frekanslarda görülmesini açıklamaktadır. DTH'de hasar oluşmadan İTH'ler etkilenmez. Sinir lifleri ise DTH ve İTH işlev yitimi belirdikten sonra hasarlanırlar (42-47).

Gm pozitif yüklü olduğundan dolayı negatif elektrik yüküne sahip olan hücre ve mitokondri membranına kolayca penetrasyon gösterebilir. Bu olay, hücre ve mitokondri yüzeyinde bulunan ve ikincil haberci sistemi olarak bilinen fosfotidilinositol ile birleşme sonucu gerçekleşir. Bunun sonucunda geçirgenliği artan zar ile birlikte hücre içi magnezyum kaybı olur. Sonuçta, magnezyumun görev aldığı oksidatif fosforilasyon mekanizması bozularak hücre ölümüyle sonuçlanan süreç başlar. Hücre zarı geçirgenliğinin artması ile aynı zamanda hücre içine Ag ve diğer ototoksik ilaçların girmesi bu süreci hızlandırabilir

(9,11,45,46). Gm, kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını da geriye dönüşümlü olarak bloke ederek potasyumun hücre içerisindeki konsantrasyonunu artırabilir. Böylece hücre hasarına neden olabilir (48,49). Ayrıca mitokondri ve hücre içindeki serbest radikalleri arttırması sonucu apoptozise neden olarak ototoksisite gelişmesini sağlayabilir (42,47,48).

Gm, stria vaskülaris ve bazal membranda hasar ve atrofi gelişimine neden olabilir. DTH, İTH, stria vaskülaris, bazal membran hasarı sonrasında corti organı kollabe olur ve spiral ganglion ile kemik spiral laminadaki sinir lifleri dejenerasyona uğrar (9,42,48). Tan ve arkadaşları, Gm'nin asidik özellikte olması nedeniyle, ekstrasellüler bölgedeki pH değerini düşürmesiyle potasyum depolarizasyonuna neden olarak kalsiyumun hücre içindeki konsantrasyonunu artmakta olup bu durumdan en fazla bazal kıvrımdaki DTH'nin etkilendiğini göstermişlerdir (43).

Gm'nin ototoksik etkisine neden olan genetik değişikliklerin olduğu bazı çalışmalarda ileri sürülmüştür. Hutchin ve Cortopussi, 12s mitokondrial rRNA'da 1555. noktada mutasyon olması halinde Gm ototoksisine daha yatkın olabileceğini belirtmişlerdir (48,49). Neurotrophin-3, brain-derived neurotrophic factor ve glial cell line-derived neurotrophic factor gibi nörotropik faktörlerin aminoglikozidlere bağlı işitme kayıplarında DTH'lerin fonksiyonlarının düzenlenmesinde koruyucu etki gösterdikleri belirtilmiştir (43,48).

Gm, vestibuler makulaya, utrikul ve sakkul makulasına, ampuller kristaya bağlanarak vestibuler toksisite oluşturabilir. Öncelikle tip I, daha sonra tip II hücre hasarına neden olur (50,51).

Genel olarak ototoksisite mekanizmaları şunlardır (9,11,36,37):

1. Mitokondri ve hücre membranında bulunan fosfotidilinozitle bağlanarak oksidatif fosforilasyonda gerekli olan magnezyumun transportunun engellenerek hücre hasarı ve ölümü (Ag).
2. Kokleada oksidatif metabolizma için gerekli olan çinko, bakır gibi eser elementlerin uzaklaştırılması (Şelat oluşturucular).
3. Spiral ligament, baziler membran ve stria vaskülariste kapiller yatakta

vazokonstriksiyon oluşturarak bazal kıvrımda dejeneratif değişikliklerin gelişimi (Antimalaryal ilaçlar).

4. DTH hasarı oluşturarak reseptör akımında azalma (Antineoplastik ilaçlar).

2.5. Ototoksisitenin Monitörizasyonu

Ototoksisitenin tanısında ve izleminde odyolojik tetkikler kullanılır. Özellikle tiz frekanslarda SNİK görülürken, ilerlemiş olgularda pes frekanslarda da işitme kaybı görülebilir. Genel olarak ototoksisite ile ilgili çalışmalarda kullanılan işitme testleri şunlardır (11-13,37,52,53):

1. Saf ses odyometri
2. Yüksek frekans odyometri
3. İşitsel uyarılmış potansiyeller
 - I. Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyeller (BİUP)
 - II. Elektrokokleografi
4. Uyarılmış otoakustik emisyon
 - I. Transient uyarılmış otoakustik emisyon (TEOAE)
 - II. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE)

Ototoksisite monitorizasyonda bu testler kullanılırken ototoksisite için anlamlı değişiklikler ise şunlardır (52):

1. Herhangi bir frekansta 20 dB üzerinde işitme kaybı
2. Komşu iki frekansta 10 dB üzerinde işitme kaybı
3. Ardışık üç frekansta öncekine göre işitme kaybı

2.6. Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller

Beyinde elektriksel olayların varlığının farkına varılması 1800'lü yılların sonlarında gerçekleşmesine karşın, kayıtlar 1934'te Adrian ve Mathews tarafından gerçekleştirilmiştir.

BIUP ilk olarak Sohmer ve Feinmesser tarafından 1967 yılında kaydedilmiş olmasına rağmen 1971’de Jewett ve Williston tarafından günümüzde de kabul gören şekli tanımlanmıştır (54).

BIUP, işitsel uyarıya yanıt olarak periferik ve santral işitsel sinir yollarında ortaya çıkan düşük voltajlı elektriksel potansiyellerdir. İşitsel uyaranların ardışık olarak verilmesiyle birlikte ortaya çıkan yanıtlar averajlanır. Ortaya çıkan elektriksel potansiyeller bilgisayar yardımıyla averajlandıktan sonra kaydedilir. Averajlanan yanıtlardaki dalgaların tepe noktası ile uyaranın tetiklenmesi arasındaki süre, dalgaların kaynaklandığı sinirsel bölgeleri işaret etmektedir. BIUP, işitsel uyarının verilmesinden sonraki ilk 15 ms’lik süre içinde ortaya çıkan elektriksel dalgalardır (54,55).

Uluslararası 10-20 Elektrod Standardı’na uygun olarak bir elektrot nasion-union arası mesafeye referans olarak, birer elektrot kulak lobülüne ya da mastoid apekse aktif elektrod olarak, bir elektrod ise topraklama elektrodu olarak yerleştirilir. Kulaklıklardan verilen işitsel uyarı sonrasında oluşan yanıtlar elektrodlar aracılığıyla alınarak bir preamplifikatör ve bir amplifikatörden oluşan amplifikasyon sistemine iletilir. Bu sistemde potansiyeller güçlendirilerek averajlama için gerekli olan düzeye getirilir ve daha sonra averajlama işlemini yapan bilgisayara iletilir. Bilgisayar, kulağa her uyaran verilmesiyle birlikte analiz işlemini başlatır. Ayrıca nonfizyolojik sinyaller ve kas hareketleri gibi aktiviteler de çeşitli yollardan uyarılmış potansiyellerden ayıklanır. Averajlamaya rağmen elektrofizyolojik sinyallere karışabilecek büyük voltajların temizlenmesi amacı ile otomatik artefakt engelleyici sistem de bulunmaktadır. BIUP sistemlerinde, organizmadan aldığı dalga latansları ve pik amplütüdları gibi veri parametrelerini averajlama sırasında monitörden izlenebilmektedir (55).

BIUP genel olarak Romen rakamı ile belirtilen yedi dalga formu içerir. Genellikle ilk beş dalga formu kaydı alınabilmekle beraber VI. ve VII. dalgalar nadiren görülür. BIUP değerlendirilmesinde latans, dalgalararası latans farkları, amplitüd, dalgalar arası amplitüd oranı ve dalga formu morfolojisi dikkate alınır. BIUP dalgaları, içinde ileti kapasitesi birbirinden farklı fizyolojik dokulardan kaynaklanmaktadır (55,56). Dalgaların, akustik uyarının afferent işitsel yollarda ortaya çıkardığı aksiyon potansiyellerden oluştuğu kabul edilir. BIUP dalgalarının sinirsel kaynakları şu şekildedir (56):

- I. Dalga:** Koklear sinir distali
- II. Dalga:** Koklear sinir proksimali
- III. Dalga:** Ventral koklear nükleus
- IV. Dalga:** Süperior olivar kompleks
- V. Dalga**
 - Pozitif Dalga:** Lateral lemniscus
 - Negatif Dalga:** İnferior colliculus
- VI. Dalga:** Corpus geniculatum mediale (Thalamus)
- VII. Dalga:** Talamokortikal bölge

İşitsel uyarılar, klik ve ton burst olarak iki şekilde verilir. Klik uyarıda rarefaction (sesin negatif basınçta verilmesi), condensation (sesin pozitif basınçta verilmesi) ve alternating (sesin ardı sıra hem negatif, hem de pozitif olarak verilmesi) tipleri bulunmaktadır. Klik uyarının geniş bir frekans bandı vardır ve kokleanın bütün frekans alanlarını aynı anda uyarır. Ton burst uyarı ise sadece belli bir frekans bölgesinde enerji taşımaktadır ve klik uyarıya kıyasla daha fazla frekansı sınırlandırılmıştır (55,56).

2.7. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon

1948 yılında Gold tarafından, bazal membran hareketliliğinden dolayı kokleada aktif bir enerjinin varlığı belirtilmişse de, David Kemp 1978 yılında otoakustik emisyonları kaydederek bu görüşü kanıtlamıştır. Genel olarak DTH'nin titreşimi sonucunda ortaya çıkan otoakustik emisyonlar, sesin kokleaya geliş yönünün tam tersine bir yol izleyerek DKY'den kayıtlanabilirler (10).

DTH'nin prestin adı verilen bir molekülün oluşturduğu enerjiyle birlikte hareketlenmesi sonucunda tektoriyal membran titreşimi, dolayısıyla Corti organında vibrasyon ve koklea içerisinde pozitif bir ses kaynağı ortaya çıkmaktadır. Buna 'koklear amplifikasyon' denir (57,58). Bu nedenle ototoksistide OAE alınmaması temelde DTH hasarına bağlıdır.

DPOAE, farklı seviyede ve frekansta iki saf ses uyarının (f_1 ve f_2) simultane olarak verilmesiyle birlikte ortaya çıkan emisyonlardır. Testin yapılabilmesi için iki minyatür hoparlör ve bir minyatür mikrofon kullanılır. Ayrıca sağlıklı koklea, iki farklı stimülasyon ile intermodülasyon ürünleri olarak isimlendirilen ek frekansları ortaya çıkararak çok farklı distorsiyon ürünlerine neden olmaktadır. Bu emisyonlar arasında en belirgin olarak $2f_1$ - f_2 frekansında ortaya çıkar. f_1 ve f_2 sırasıyla 65-55, 75-65 ya da 80-70 dB SPL olarak verilebilir. Değerlendirmede kullanılan DP1 (L1) ve DP2 (L2) ölçütleri $2f_1$ - f_2 değerden oluşmaktadır ve sabittir. Saf ses seviyesi sabitken $2f_1$ - f_2 formülüne uygun geometrik ortalamalarda farklı frekanslardaki lokalizasyonları ile 0.5 ile 8 kHz aralığında geniş bir alanda DPOAE'ler elde edilir (52,57,58).

Özellikle 30-40 dB HL üzerinde SNİK olan hastalarda DPOAE'ler alınamayabilir (52,57).

OAE kaydı alabilmek için gerekli olan özellikler şunlardır:

1. Sağlıklı bir orta kulak yapısı olmalıdır. Orta kulak basınç değişikliklerinde bile OAE kayıtlarında bozulma olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, OAE testi yapılmadan önce mutlaka DKY ve TM muayenesi yapılmalıdır.
2. DTH hasarı ve bağlantılı olarak Corti organ bozukluklarında OAE elde edilemez. Ototoksisite ve akustik travma gibi durumlarda DTH hasarı olması nedeniyle OAE yanıtı elde edilemez.
3. Afferent sinirsel uyarıdan bağımsız olduğundan dolayı koklear sinir hasarında OAE kayıtları alınabilir.

DPOAE'de özellikle 3000 Hz üzerinde, TEOAE'de ise 1000 Hz'in altında daha güvenilir yanıtlar elde edilmektedir. Özellikle kobaylarda ototoksisitenin saptanmasında daha fazla yüksek frekanslardaki ölçümler önem taşımaktadır. Bundan dolayı, ototoksisitenin belirlenmesinde DPOAE testi, TEOAE'den daha uygun bir test yöntemidir. Bununla birlikte, özellikle 20 dB SPL ve üzerinde DPOAE yüksek spesifite ve düşük sensivite, TEOAE ise yüksek sensivite ve düşük spesifiteye sahiptir. Her iki yöntem de birlikte değerlendirildiğinde, OAE testleri, işitme işlevinin ve özellikle dış tüylü hücrelerin işlevinin değerlendirilmesinde pratik ve invaziv olmayan bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (52,58-60).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı İşitme-Konuşma-Denge Ünitesi (DEÜİKDÜ) ve Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında (DEUDHÜAL), Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni alınarak (protokol numarası: 04/2010) gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, ağırlıkları 500 ile 650 gram arasında olan, 14 adet, albino, dişi ve erişkin kobay kullanılmıştır.

Denekler, çalışma boyunca DEUDHÜAL’de, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta, 24 - 26 °C’de, serbest olarak alabilecekleri su ve yem ile birlikte lahana yiyebilecekleri, arka fondaki sesin 50 dB’in altında olduğu ortamda barındılar.

Araştırmada toplam 14 kobayın 28 kulağı çalışmaya alındı. Tüm deneklerin uygulamalar öncesinde otomikroskopik bakısı (Opmi 1, Zeiss, Germany) yapılarak DKY ve TM’leri değerlendirildi. DKY temiz ve TM normal bulunan kobaylar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan deneklerin hiçbirinde otitis media bulguları gözlenmedi. İzlem sırasında ölen bir denek çalışma dışı bırakıldı. Tüm kobaylara işlemler öncesinde anestezi altında DPOAE ve BİUP testleri uygulandı. DPOAE testinde yanıt elde edilen ve BİUP testinde klik eşiği 30 dB’nin altında bulunan kobaylar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmadaki kobayların kulakları 3 grup altında incelendi:

Grup 1 (Pozitif Kontrol Grubu): Yedi kobayın sol kulaklarına dental iğne ile timpan membran ön-üst kadrandan intratimpanik olarak 0.2 ml (40 mg/ml) Gm (Genta 40 mg amp, İE Ulagay-Menarini Group) uygulandı. İşlem, her gün aynı saatte (15:00 ile 17:00 arasında) olmak şartı ile 7 kez tekrarlandı. İşlemin başlangıcından itibaren 10. ve 21. günlerde DPOAE ve BİUP testleri tekrarlandı.

Grup 2 (Çalışma Grubu): Diğer 7 kobayın sol kulaklarına dental iğne ile timpan membran ön-üst kadrandan intratimpanik olarak 0.1 ml Cs (steril koşullarda özel olarak hazırlanmıştır) uygulandı. İşlem, her gün aynı saatte (15:00 ile 17:00 arasında) 7 kez

tekrarlandı. İşlemin başlangıcından itibaren 10. ve 21. günlerde DPOAE ve BİUP testleri tekrarlandı.

Grup 3 (Negatif Kontrol Grubu): Ondört kobayın gentamisin ve Cs uygulanmayan sağ kulaklarına dental iğne ile timpan membran ön-üst kadrandan, intratimpanik olarak 0.2 ml serum fizyolojik (Sf) uygulandı. İşlem, her gün aynı saatte (15:00 ile 17:00 arasında) olmak şartı ile 7 kez tekrarlandı. İşlemin başlangıcından itibaren 10. ve 21. günlerde DPOAE ve BİUP testleri tekrarlandı.



Resim 1: Çalışmada kullanılan ilaçlar.

3.1. Anestezi Yöntemi:

Intratimpanik uygulamalar öncesinde yapılan testlerde, günlük yapılan enjeksiyonlar sırasında, uygulamalar sonrasındaki 10. ve 21. günlerde yapılan testler sırasında anestezi uygulandı. Öncelikle tüm kobaylara işlem öncesinde 100 mg/kg Ketamin (Ketalar flk, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin (Basilazin %2, Bavet İlaç San. Ve Tic. A.Ş.) intraperitoneal yolla verilerek anestezileri sağlandı (Resim 2). Deneklerin refleksleri ve hareketleri takip edilerek idame anestezi olarak eter sülfirik %99 (Dietil Eter, Aktif Kimya ve Tıbbi Cihazlar San. Paz. İç ve Dış Tic. Ltd. Şti.) solunum yoluyla verildi. Kobayların 21. gün DPOAE ve BİUP testlerinden sonra yüksek doz eter solutularak sakrifikasyonları gerçekleştirildi (Resim 3).



Resim 2: Anestezi için kullanılan ilaçlar



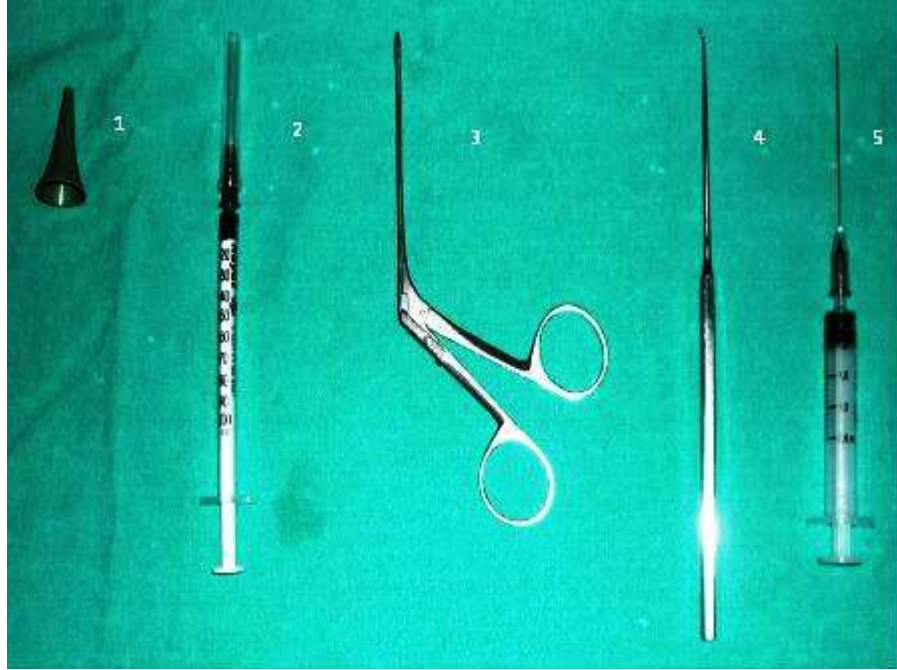
Resim 3: Yüksek doz eter solutularak uygulanan sakrifikasyon

3.2. İntrativimpanik Enjeksiyon

Kobayların işlemler öncesinde DPOAE ve BİUP testleri yapıldıktan sonraki 7 gün boyunca intrativimpanik enjeksiyonları yapıldı. Anestezi uygulandıktan sonra kobayların kulakları otomikroskopide değerlendirildi. Buşonu olan kulaklar küret yardımıyla temizlenerek her uygulama öncesinde otit ekartasyonu amaçlı TM muayenesi tekrarlandı (Resim 4). Ardından grubun kulağına uygun ilaç, dental enjektöre (27 gauge, 2 cc'lik enjektör) çekilerek TM ön-üst kadran belirlenip orta kulak kavitesine enjeksiyonu yapıldı (Resim 5).



Resim 4: Otomikroskopik bakı ve intratimpanik enjeksiyon



Resim 5: İntratimpanik enjeksiyonda kullanılan aletler. 1- Otoskopik spekulum 2- İntraperitoneal enjeksiyon için enjektör 3- Alligator forseps 4- Küret 5- Dental enjektör (27 gauge).

3.3. DPOAE ve BİUP Testlerinin Uygulanması

İntratimpanik uygulamalar öncesinde, uygulamaya başlandıktan sonraki 10. ve 21. günde olmak üzere üç kez anestezi altında DPOAE ve BİUP testleri uygulandı. Testler, DEÜİKDÜ’de sestten yalıtılmış ve sıcaklığı 24-26 °C aralığında bulunan bir odada gerçekleştirildi.

BİUP kayıtlamaları için ICS CHARTR EP Software V5.2 (GN Otometrics A/S, Denmark) sistemi kullanılarak işitme eşikleri tayin edildi. Kayıt elektrodu olarak standart altın kaplama kubbe elektrodla 22 gauge enjektör ucunun lehimlenmesiyle hazırlanan dört adet subkutan elektrot kullanıldı (Resim 6). Her iki retroaurikuler bölgeye iki adet referans, orta hat vertekse bir adet aktif, orta hat sırtı ise topraklama olarak bir adet elektrod yerleştirildi (61).

BİUP testinde klik ile 6 kHz ve 8 kHz ton burst uyaranlar kullanılarak, her kulak için aynı uyaran şiddetinde en az iki kayıtlama yapıldı. Eşik değeri, uyarı şiddeti 90 dB’den başlayarak eşik üstü değerlerde 10 dB, eşığe yakın değerlerde 5 dB azaltılarak bulundu. BİUP testinde kullanılan kayıt ve uyarı parametreleri Tablo 4 ve Tablo 5’da belirtildi. BİUP traseleri ise Şekil 2-10’da gösterildi.

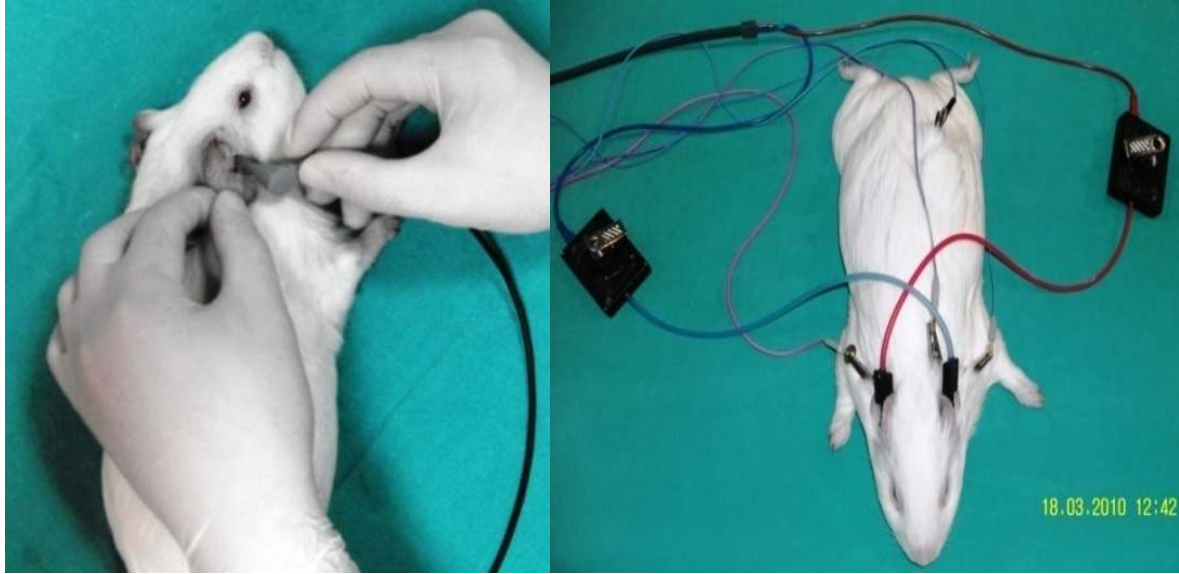
Tablo 4: BİUP testinde kullanılan klik uyaran ve kayıt parametreleri

Uyarı – Kayıt Parametreleri / Klik
Polarite: Alterne
Uyaran: Klik
Kulaklık: Insert earphone
Uyaran sıklığı: 21.1/sn
Uyaran yönü: Monoaural
Kayıtlama penceresi: 15 msn
Amplifikasyon: 0.5 μ V
Kayıtlama filtresi: 100 – 3000 Hz

Tablo 5: BİUP testinde kullanılan 6 kHz ve 8 kHz ton burst uyaran ve kayıt parametreleri

Uyarı Kayıt Parametreleri / 6 – 8 kHz Ton burst
Polarite: Alterne
Uyaran: 6 – 8 kHz Ton burst
Kulaklık: Insert earphone
Uyaran sıklığı: 31.1/sn
Uyaran yönü: Monoaural
Kayıtlama penceresi: 25 msn
Amplifikasyon: 0.5 μ V
Kayıtlama filtresi: 50 – 1500 Hz

DPOAE için ILOv6 Otoakustik emisyon cihazı (Otodynamics Ltd, London, UK) kullanıldı (Şekil 6). İşlem öncesinde, işlem sonrası 10 ve 21. günlerde yapılan testlerde, f2 ve f1 frekansları arasındaki oran ($f2/f1$) 1.22 olacak şekilde tutuldu. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1 = 75 dB SPL, L2 = 65dB SPL) düzeyinde tutuldu. DPOAE'lar, 2f1-f2 frekansında ölçüldü. DPOAE, f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz'deki sinyal-gürültü oranları kaydedildi. Test süresi, farklılık göstermesine rağmen ortalama her bir kulak için 60 sn idi.

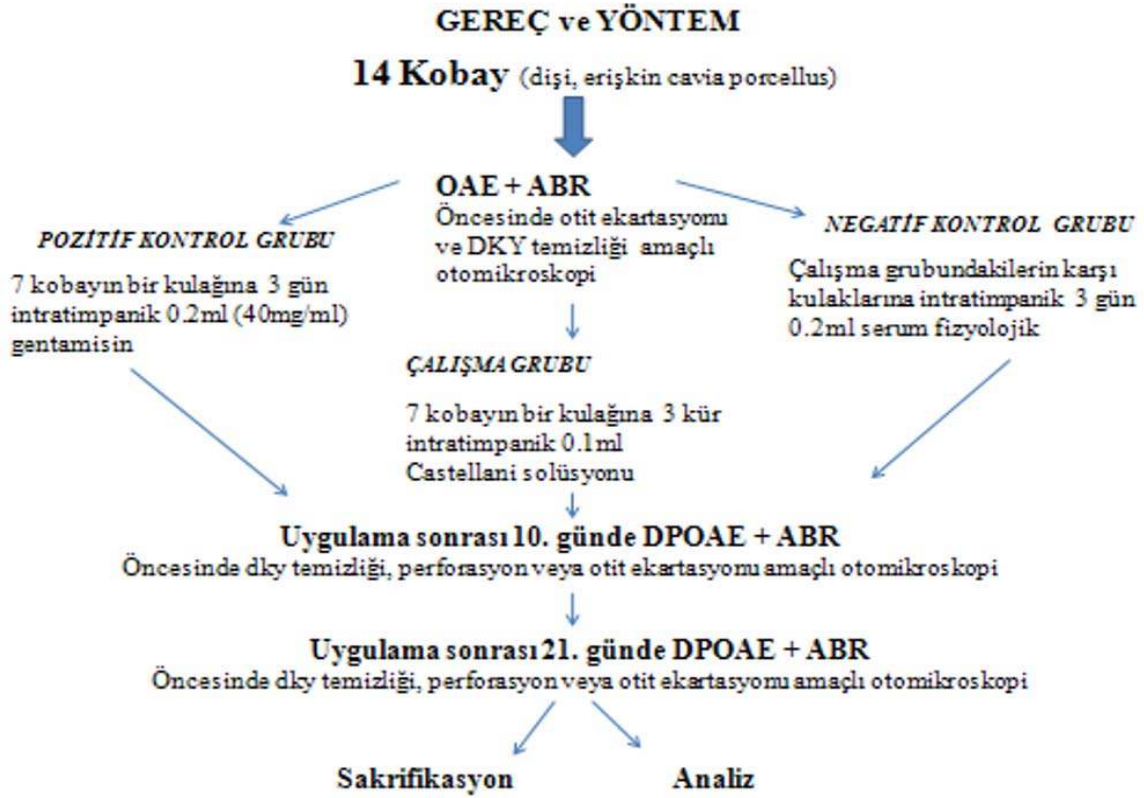


Resim 6: Çalışmada kullanılan DPOAE ve BİUP testi düzenekleri

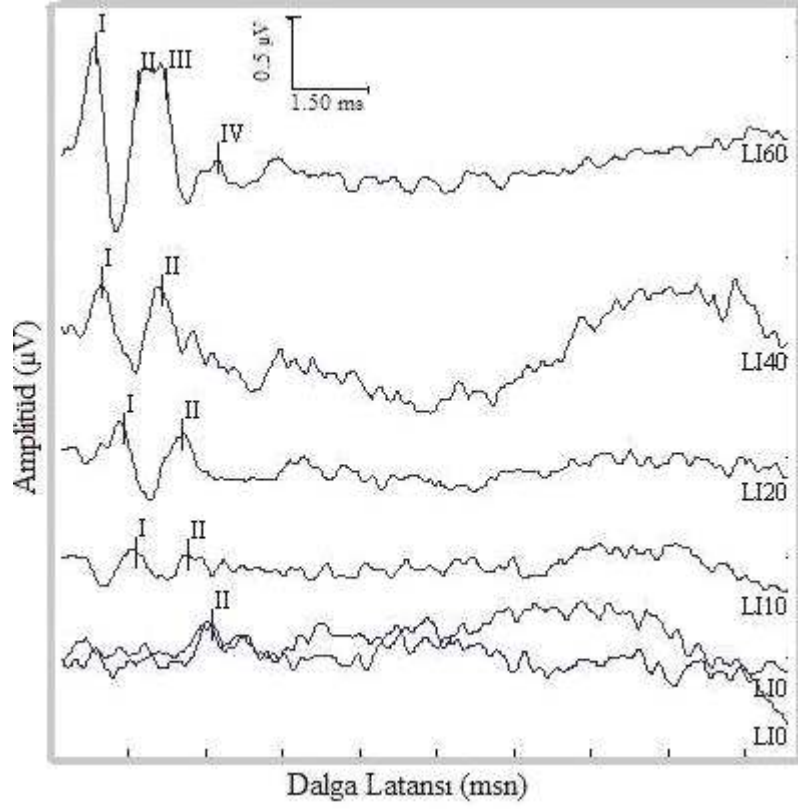
Gereç ve Yöntem, şematik olarak Şekil 1'de gösterilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

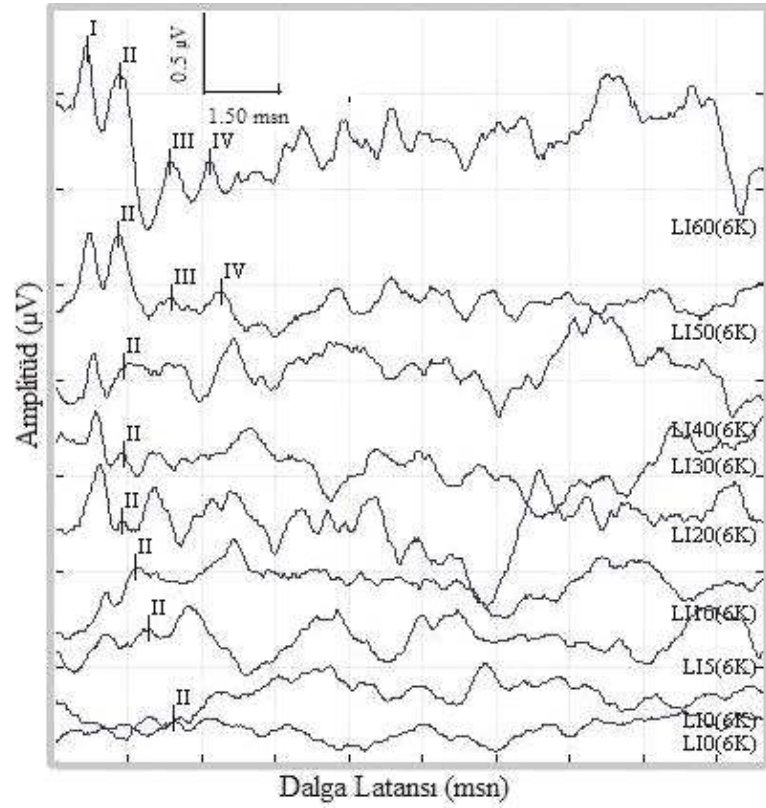
İstatistiksel analiz için SPSS (Version 15.0 for Windows, SPSS Inc.) programı kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen kulak sayısının 30'un altında olması, normal dağılımın olmaması ve sürekli değişkenlerin kullanılması nedeniyle istatistiksel analizde nonparametrik testlerden yararlanıldı. Her grubun kendi içinde intratimpanik enjeksiyon öncesi, 10. gün ve 21. günlere ait test sonuçlarının değerlendirilmesi için Wilcoxon Signed Ranks Test kullanıldı. Değerlerin gruplar arası karşılaştırılmasında Mann - Whitney U testi, tüm grupların birbirleriyle karşılaştırılmasında ise Kruskal – Wallis testi kullanıldı.



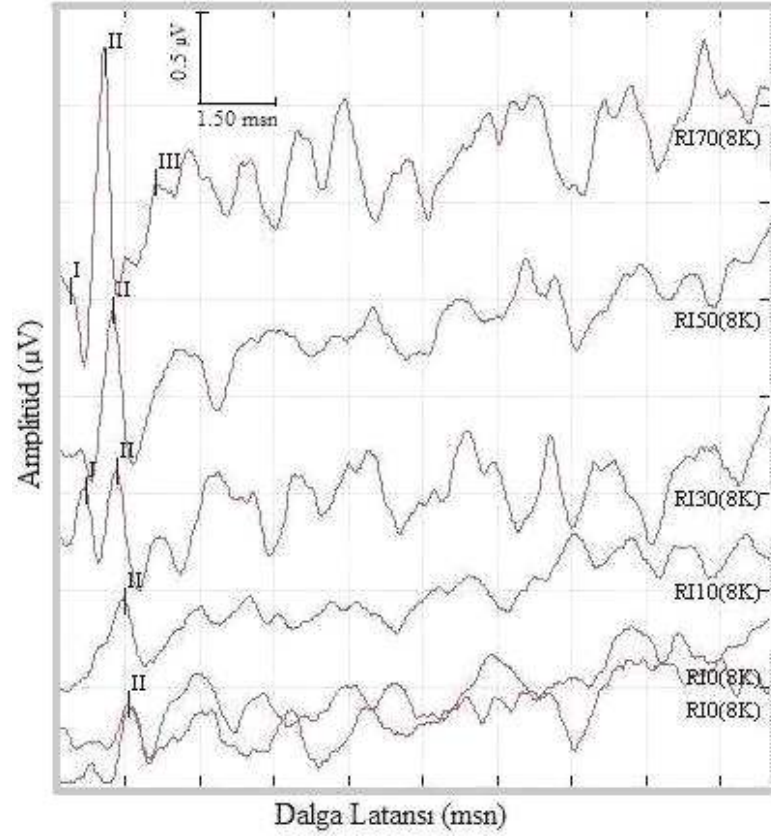
Şekil 1: Gereç ve yöntem akış şeması



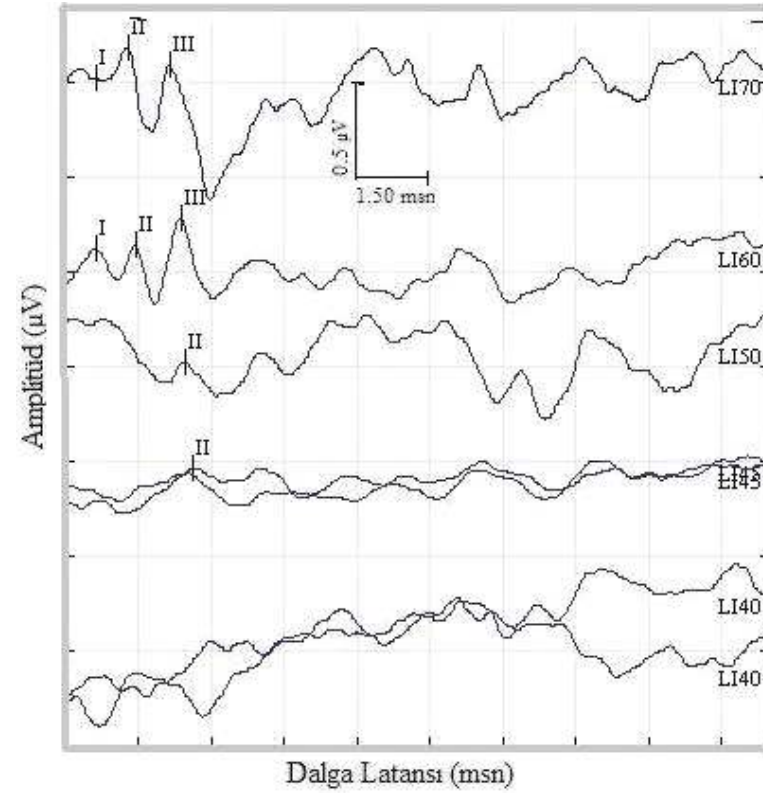
Şekil 2: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce klik uyararı ile elde edilen işitme eşikü traseleri



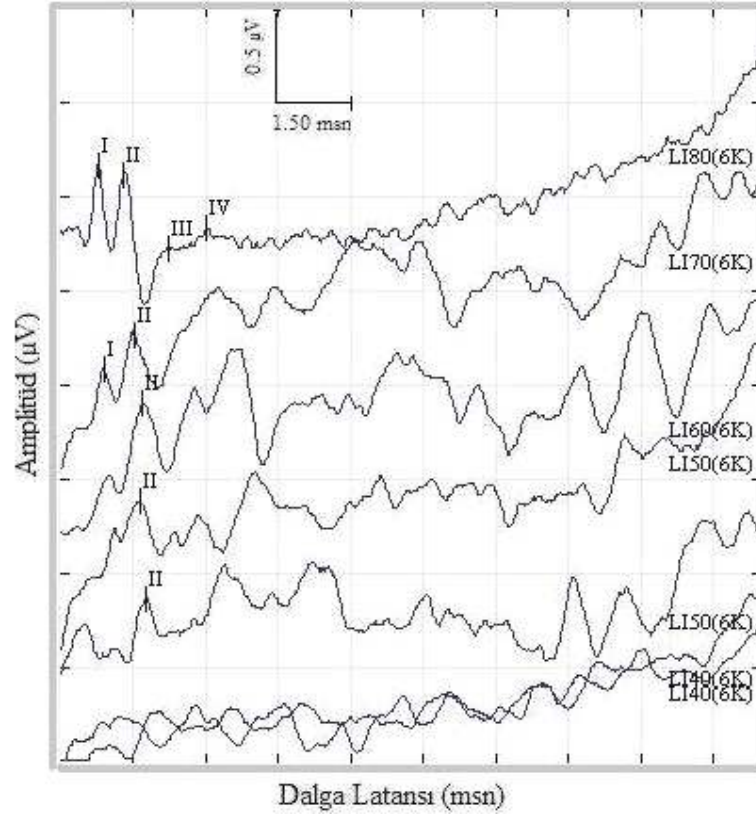
Şekil 3: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce 6 kHz ton burst uyararı ile elde edilen işitme eşikü traseleri



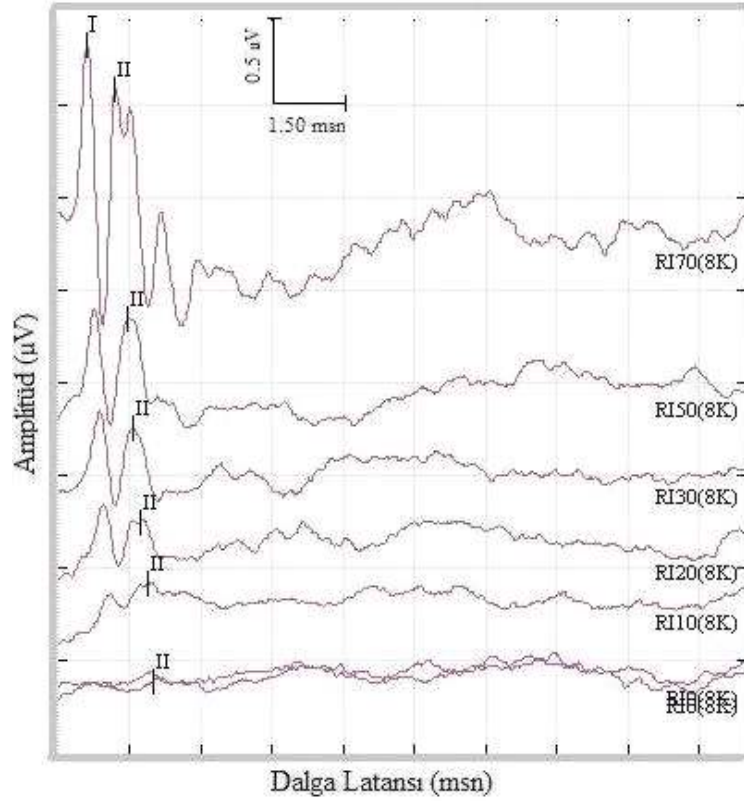
Şekil 4: İntratimpanik enjeksiyonlardan önce 8 kHz ton burst uyarı ile elde edilen işitme eşiği traseleri



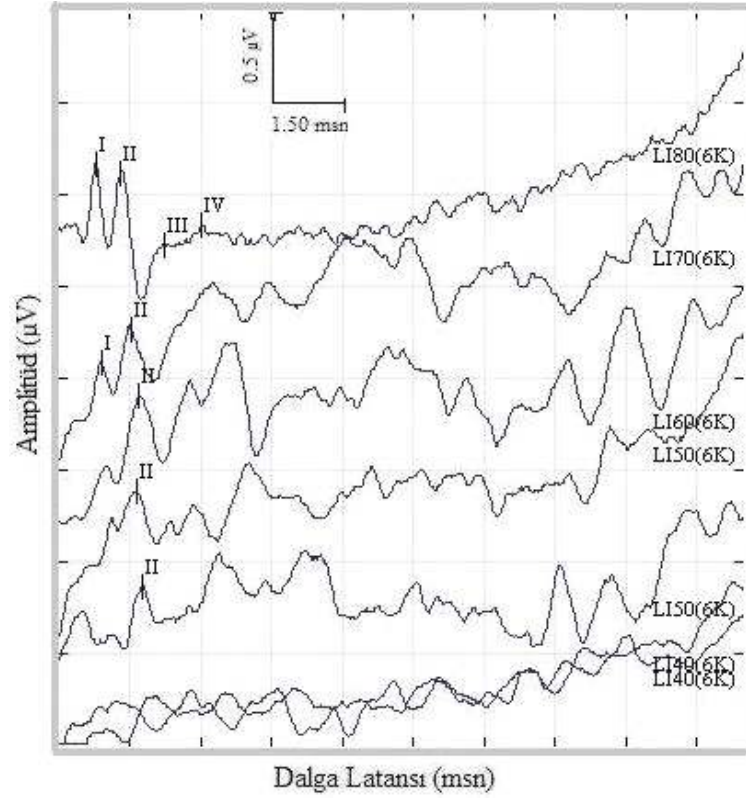
Şekil 5: İntratimpanik Gm uygulanan koblarda 10. gün klik uyarı ile elde edilen işitme eşiği traseleri



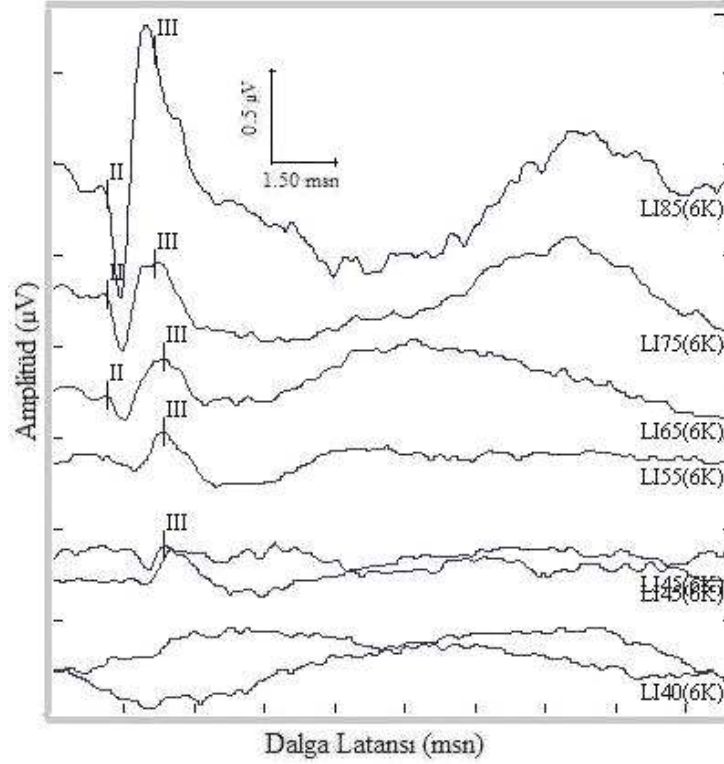
Şekil 6: İntratifimpanik Cs uygulanan kobaylarda 10. gün 6 kHz ton burst uyararı ile elde edilen işitme eşikü traseleri



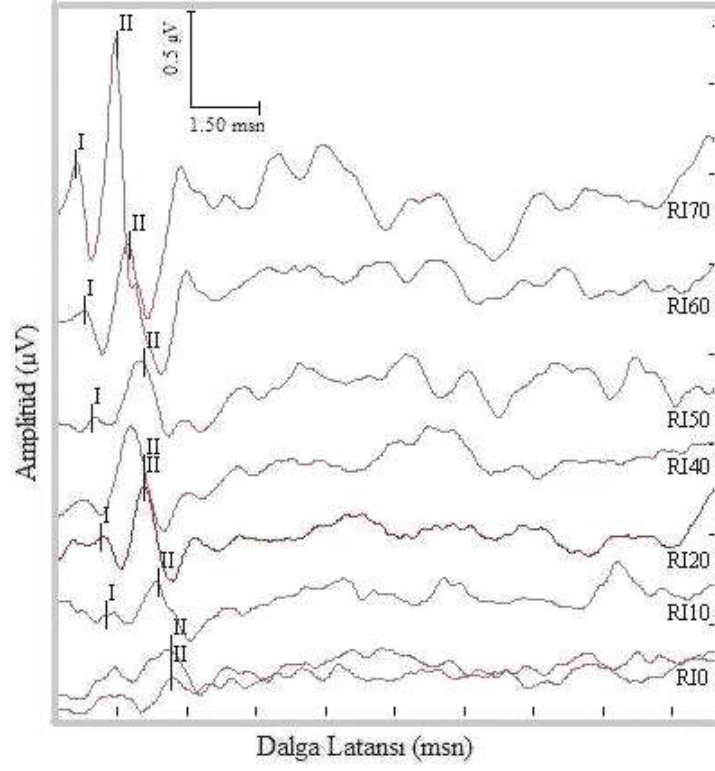
Şekil 7: İntratifimpanik Sf uygulanan kobaylarda, 10.günde 8 kHz ton burst uyararı ile elde edilen işitme eşikü traseleri



Şekil 8: İntratifimpanik Gm uygulanan kobaylarda, 21. günde 6 kHz ton burst uyararı ile elde edilen işitme eşikü traseleri



Şekil 9: İntratifimpanik Cs uygulanan kobaylarda, 21. günde 8 kHz ton burst uyararı ile elde edilen işitme eşikü traseleri



Şekil 10: İntrativpanik Sf uygulanan kobaylarda, 21. günde klik uyararı ile elde edilen işitme eşığı traseleri

4. BULGULAR

İstatistiksel analize öncelikle ortalama ve ortanca değerler bulunarak başlandı. Kobayların DPOAE ve BİUP verilerinin normal dağılım göstermemesi nedeniyle ortalama değere ek olarak ortanca değerler de analiz için kullanıldı. İntratifimpanik uygulamalardan sonra yapılan 10. gün testi sırasında Grup 1’den bir kobay, anestezi sırasında exitus olması nedeniyle istatistiksel analize alınmadı. Tanımlayıcı bulguları değerlendirirken, ortalama, standart deviasyon, ortanca, % 25 ve % 75 çeyreklik dilimler (Q1, Q3) kullanıldı.

İnatratimpanik enjeksiyonlar öncesinde (0. gün), intratifimpanik enjeksiyonlardan üç gün sonra (10. gün) ve intratifimpanik enjeksiyonlardan iki hafta sonra (21. gün) yapılan klik ve ton burst uyaran ile elde edilen işitme eşikleri sırasıyla Tablo 7 ve Tablo 8’de verilmiştir.

Tüm grupların BİUP verilerini içerecek şekilde 0. gün işitme eşikleri, Kruskal-Wallis Testi ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Tüm grupların 10. gün ve 21. gün klik, 6 kHz ve 8 kHz uyaranla elde edilen işitme eşikleri yine Kruskal-Wallis Testi ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.001$). Her üç BİUP testinin ortalamaları, ortanca değerleri ve Kruskal-Wallis Testi sonuçları Tablo 9, Tablo 10 ve Tablo 11’de verilmiştir. Ayrıca BİUP testlerinin ortalamaları Şekil 2 ve Şekil 3’te gösterilmiştir.

İnatratimpanik enjeksiyonlar öncesi, 10. ve 21. gün DPOAE testlerinin tüm frekansları için ortalamaları, ortanca değerleri ve Kruskal-Wallis Testi sonuçları, sırasıyla, Tablo 12, Tablo 13 ve Tablo 14’te verilmiştir. Ayrıca DPOAE yanıtlarının ortalamaları Şekil 4 ve Şekil 5’te gösterilmiştir.

Tablo 6: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce, intratifimpanik enjeksiyonlardan 10 ve 21 gün sonra, klik uyararı ile yapılan BIUP sonuçları

Grup	Kulak	0. Gün (dB)	10. gün (dB)	21. gün (dB)
G1	Sol	5	30	40
	Sağ	10	10	10
G2	Sol	0	55	70
	Sağ	5	5	5
G3	Sol	0	EX	EX
	Sağ	0	EX	EX
G4	Sol	5	45	55
	Sağ	0	0	0
G5	Sol	5	30	55
	Sağ	0	5	5
G6	Sol	0	65	90
	Sağ	0	5	5
G7	Sol	0	50	65
	Sağ	0	5	5
C1	Sol	0	50	55
	Sağ	0	0	0
C2	Sol	0	75	70
	Sağ	0	0	5
C3	Sol	0	55	65
	Sağ	0	0	0
C4	Sol	0	45	45
	Sağ	0	0	5
C5	Sol	0	55	60
	Sağ	0	0	0
C6	Sol	0	25	55
	Sağ	20	20	20
C7	Sol	0	70	70
	Sağ	0	0	5

G: Sol kulaklarına intratifimpanik Gm uygulanan kobaylar.

C: Sol kulağına intratifimpanik Cs uygulanan kobaylar.

Her kobayın sağ kulağına intratifimpanik Sf uygulanmıştır.

Tablo 7: İntratifimpanik enjeksiyonlardan önce, intratifimpanik enjeksiyonlardan 10 ve 21 gün sonra, 6 kHz ve 8 kHz ton burst uyarana karşı elde edilen BİUP eşik sonuçları

Grup	Kulak	6 kHz Ton burst (dB)			8 kHz Ton burst (dB)		
		0.gün	10.gün	21.gün	0.gün	10.gün	21.gün
G1	Sol	0	25	40	0	20	30
	Sağ	5	0	5	0	0	5
G2	Sol	0	35	70	0	60	75
	Sağ	0	0	0	0	0	5
G3	Sol	0	EX	EX	0	EX	EX
	Sağ	0	EX	EX	0	EX	EX
G4	Sol	0	45	65	0	50	60
	Sağ	0	0	5	0	0	5
G5	Sol	0	40	75	0	35	75
	Sağ	0	0	5	0	5	5
G6	Sol	0	90	90	0	70	90
	Sağ	0	5	5	0	5	5
G7	Sol	0	50	50	0	50	40
	Sağ	0	5	0	0	0	0
C1	Sol	0	50	40	0	55	40
	Sağ	0	0	0	0	0	0
C2	Sol	0	75	55	0	70	55
	Sağ	0	5	0	0	5	0
C3	Sol	0	50	50	0	45	50
	Sağ	0	5	5	0	0	5
C4	Sol	0	50	30	0	50	35
	Sağ	0	5	5	0	0	0
C5	Sol	0	50	40	0	45	45
	Sağ	0	0	0	0	0	0
C6	Sol	0	5	40	0	0	45
	Sağ	20	20	20	20	20	20
C7	Sol	0	70	65	0	60	55
	Sağ	0	0	0	0	0	5

G: Sol kulaklarına intratifimpanik Gm uygulanan kobaylar.

C: Sol kulağına intratifimpanik Cs uygulanan kobaylar.

Her kobayın sağ kulağına intratifimpanik Sf uygulanmıştır.

Tablo 8: İntratifimpanik enjeksiyonlar öncesinde alınan BIUP eşiklerinin ortalama, ortanca değeri ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri)

Grup		Klik	6 kHz Ton burst	8 kHz Ton burst
Grup 1 0. Gün	Ortalama +/- SD	1.67 +/- 2.58	0	0
	OD (Q1-Q3)	0.00 (0.00-5.00)	0	0
Grup 2 0. Gün	Ortalama +/- SD	0	0	0
	OD (Q1-Q3)	0	0	0
Grup 3 0. Gün	Ortalama +/- SD	2.69 +/- 5.99	1.92 +/- 5.60	1.54 +/- 5.54
	OD (Q1-Q3)	0.00 (0.00-2.50)	0	0.00 (0.00-5.00)
Kruskal-Wallis Testi (p)		0.321	0.353	0.607

Grup 1: İntratifimpanik Gm uygulanan grup

Grup 2: İntratifimpanik Cs uygulanan grup

Grup 3: İntratifimpanik Sf uygulanan grup

OD: Ortanca değeri **SD:** Standart deviasyon **Q1-Q3:** %25 çeyrek - %75 çeyrek

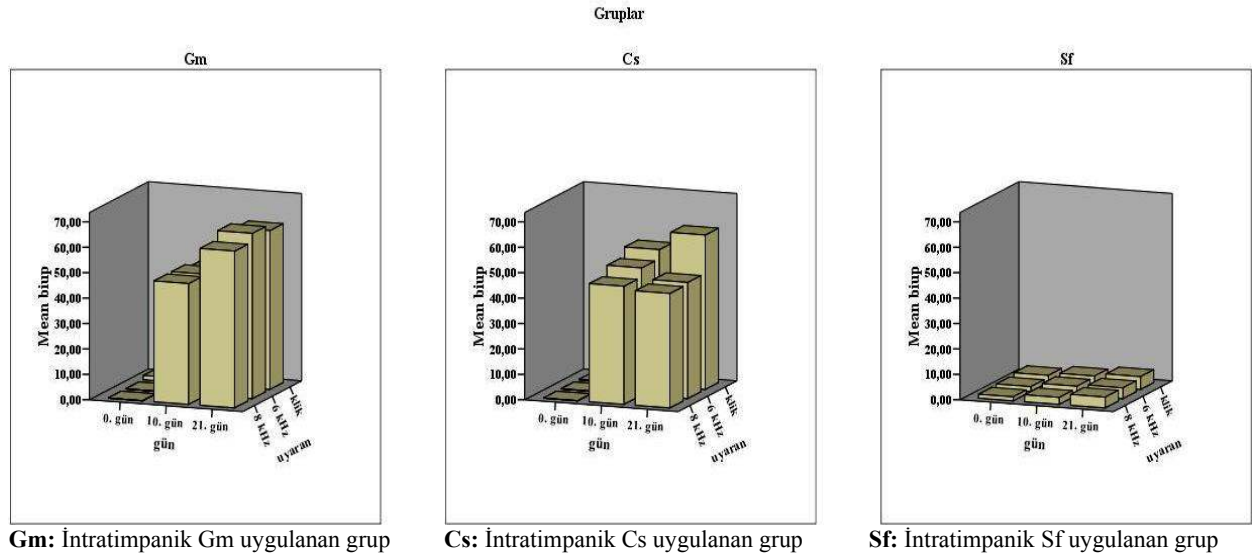
Tablo 9: İntratifimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 10. günde BIUP eşiklerinin ortalama, ortanca değeri ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri)

Grup		Klik	6 kHz Ton burst	8 kHz Ton burst
Grup 1 10. Gün	Ortalama +/- SD	45.83 +/- 13.93	47.50 +/- 22.52	47.50 +/- 17.81
	OD (Q1-Q3)	47.50 (30.00-57.50)	42.50 (32.50-60.00)	50.00 (31.25-62.50)
Grup 2 10. Gün	Ortalama +/- SD	53.57 +/- 16.51	50.00 +/- 22.54	46.43 +/- 22.30
	OD (Q1-Q3)	55.00 (45.00-70.00)	50.00 (50.00-70.00)	50.00 (45.00-60.00)
Grup 3 10. Gün	Ortalama +/- SD	3.85 +/- 5.82	3.46 +/- 5.54	2.69 +/- 5.63
	OD (Q1-Q3)	0.00 (0.00-5.00)	0.00 (0.00-5.00)	0.00 (0.00-5.00)
Kruskal-Wallis Testi (p)		<0.001	<0.001	<0.001

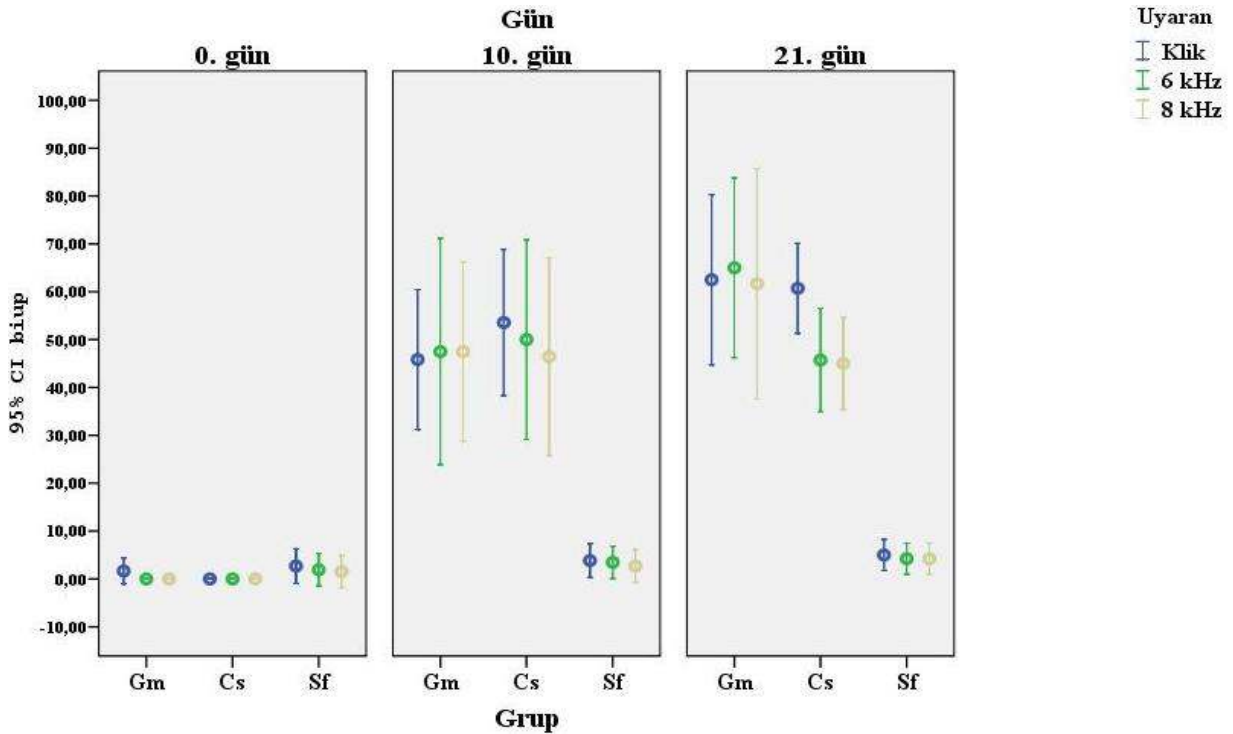
Tablo 10: İntratifimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 21. günde BIUP eşiklerinin ortalama, ortanca değeri ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri)

Grup		Klik	6 kHz Ton burst	8 kHz Ton burst
Grup 1 21. Gün	Ortalama +/- SD	62.50 +/- 16.95	65.00 +/- 17.88	61.67 +/- 22.94
	OD (Q1-Q3)	60.00 (51.25-75.00)	67.50 (47.50-78.75)	67.50 (37.50-78.75)
Grup 2 21. Gün	Ortalama +/- SD	60.71 +/- 10.17	45.71 +/- 11.70	45.00 +/- 10.40
	OD (Q1-Q3)	60.00 (55.00-70.00)	40.00 (40.00-55.00)	45.00 (40.00-55.00)
Grup 3 21. Gün	Ortalama +/- SD	5.00 +/- 5.40	4.23 +/- 5.34	4.23 +/- 5.34
	OD (Q1-Q3)	5.00 (0.00-5.00)	5.00 (0.00-5.00)	0.00 (0.00-5.00)
Kruskal-Wallis Testi (p)		<0.001	<0.001	<0.001

Şekil 11: Grupların BİUP eşik sonuçlarının, 3-D Bar Charts yöntem ile günlere göre ortalamaları



Şekil 12: Grupların BİUP eşik sonuçlarının Error Bar yöntemi ile günlere göre ortalamaları



İntratifimpanik enjeksiyonlar öncesinde, gruplar arasında DPOAE'nin tüm frekansları birbirleriyle kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p < 0.05$). Fakat 10. gün ve 21. gün DPOAE yanıtları karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak

anlamlı farklılıklar gözlemlendi ($p < 0.001$). Sonuçlar Tablo 11, Tablo 12 ve Tablo 13'te görülmektedir.

Tablo 11: İntratifimpanik enjeksiyonlar öncesinde DPOAE yanıtlarının ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri)

Grup		1 kHz	1.5 kHz	2 kHz	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
Grup 1 0. Gün	Ortalama +/- SD	12.96+/- 10.96	17.31+/- 10.32	15.35+/- 9.77	23.95+/- 5.66	21.58+/- 8.87	15.56+/- 10.98	23.70+/- 6.29
	OD (Q1-Q3)	15.45(0.00-21.47)	21.70(5.32-25.25)	16.35(4.87-25.17)	24.40(19.20-29.47)	21.95(16.42-28.17)	18.30(3.75-24.45)	24.05(17.82-29.45)
Grup2 0. Gün	Ortalama +/- SD	20.72 +/- 9.58	24.68+/- 11.48	26.28+/- 10.41	26.05+/- 5.86	27.38+/- 6.83	27.80+/- 10.71	30.27+/- 5.35
	OD (Q1-Q3)	16.60(11.40-31.20)	23.20(16.90-37.60)	26.00(17.70-31.90)	27.60(21.70-31.10)	27.50(19.90-35.70)	29.80(20.10-37.20)	28.00(26.90-36.00)
Grup 3 0. Gün	Ortalama +/- SD	13.33+/- 9.79	15.19+/- 7.63	16.97+/- 8.44	20.55+/- 8.92	17.77+/- 9.96	22.43+/- 6.11	26.12+/- 6.43
	OD (Q1-Q3)	12.30(6.65-17.70)	17.30(8.50-22.20)	18.00(7.95-22.30)	20.00(15.05-22.05)	17.20(7.00-28.65)	24.00(16.30-27.00)	27.00(20.20-32.25)
Kruskal-Wallis Testi(p)		0.190	0.213	0.132	0.97	0.148	0.111	0.270

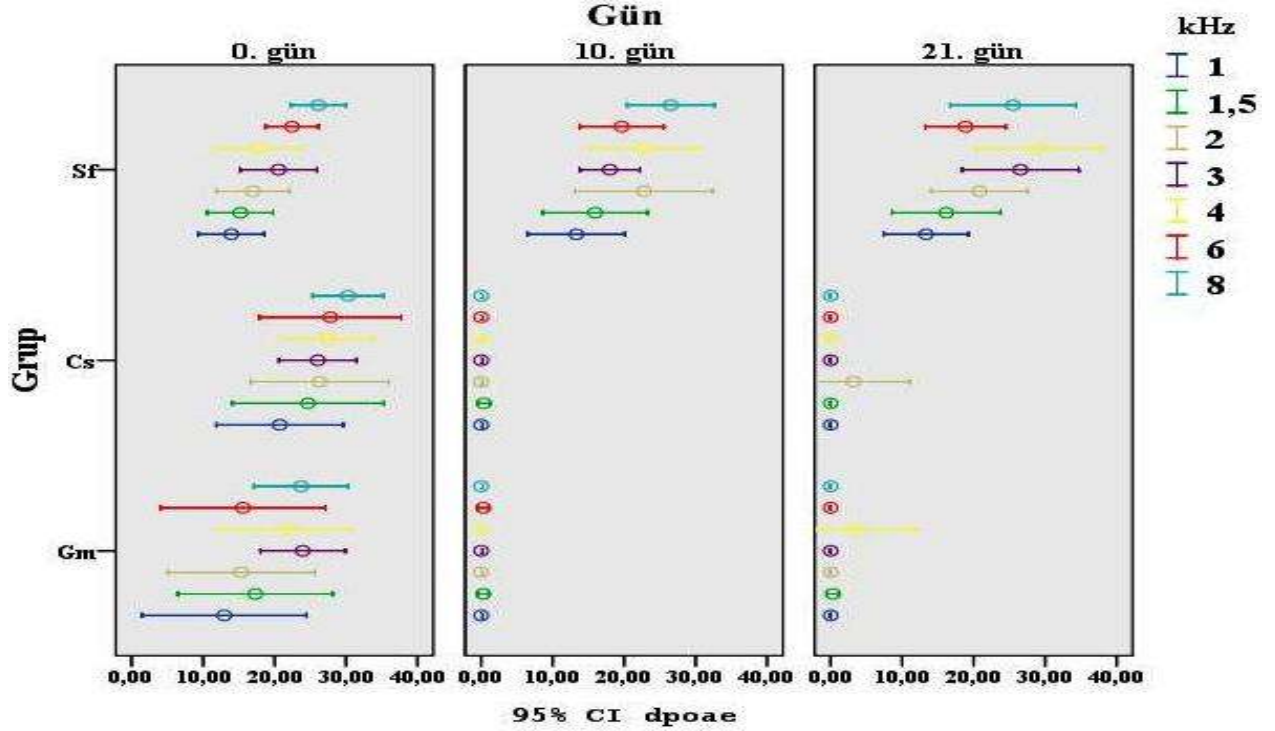
Tablo 12: İntratifimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 10. günde alınan DPOAE yanıtlarının ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri)

Grup		1 kHz	1.5 kHz	2 kHz	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
Grup 1 10. Gün	Ortalama +/- SD	0	0.30+/-0.73	0	0	0	0.30+/-0.73	0
	OD (Q1-Q3)	0	0(0.00-0.45)	0	0	0	0(0.00-0.45)	0
Grup2 10. Gün	Ortalama +/- SD	0	0.35+/-0.94	0	0	0	0	0
	OD (Q1-Q3)	0	0	0	0	0	0	0
Grup 3 10. Gün	Ortalama +/- SD	13.32+/- 11.27	15.95+/- 12.12	22.80+/- 15.93	18.00+/- 6.98	22.83+/- 13.10	19.65+/- 9.68	26.51+/- 10.10
	OD (Q1-Q3)	13.70(4.50-18.65)	13.30(6.75-22.55)	19.90(7.25-39.15)	17.10(14.20-20.45)	20.40(11.25-29.50)	18.70(14.20-27.70)	25.40(18.65-36.20)
Kruskal-Wallis Testi (p)		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

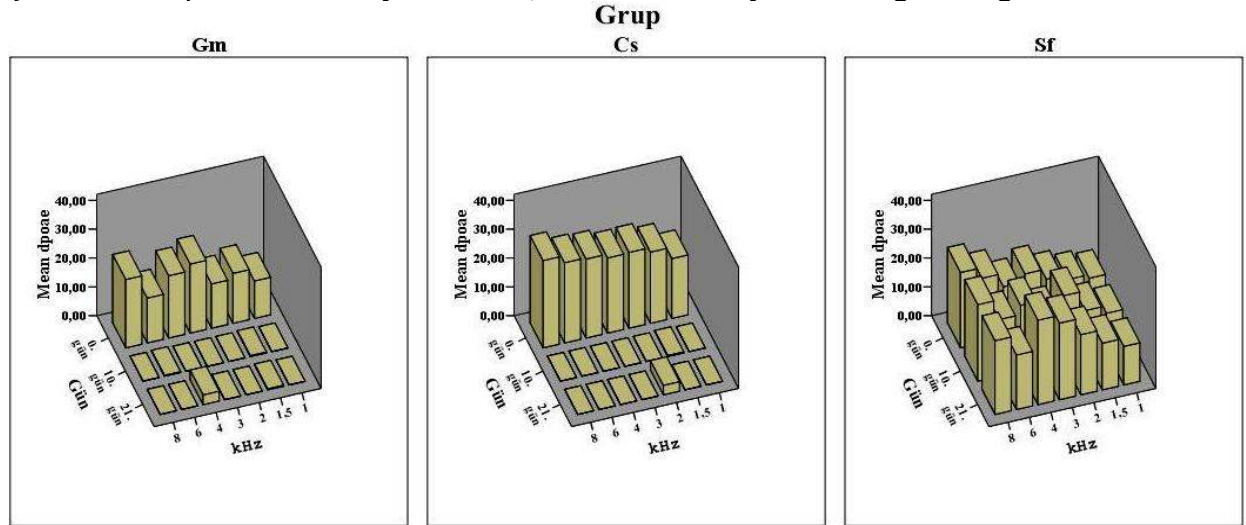
Tablo 13: İntratifimpanik enjeksiyonların başlangıcından itibaren 10. günde alınan DPOAE yanıtlarının ortalama, ortanca değer ve Kruskal-Wallis Testi ile grupların kendi aralarında değerlendirilmesi (p değerleri)

Grup		1 kHz	1.5 kHz	2 kHz	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
Grup 1 21. Gün	Ortalama +/- SD	0	0.31+/-0.77	0	0	3.31 /- 0.12	0	0
	OD (Q1-Q3)	0	0(0.00-0.47)	0	0	0(0.00-4.97)	0	0
Grup2 21. Gün	Ortalama +/- SD	0	0	7.11+/- 18.82	0	0	0	0
	OD (Q1-Q3)	0	0	0	0	0	0	0
Grup 3 21. Gün	Ortalama +/- SD	13.33+/- 9.79	16.16+/- 12.59	20.82+/- 11.16	26.54+/- 13.51	29.23+/- 14.69	18.86+/- 9.28	25.53+/- 14.57
	OD (Q1-Q3)	12.30(6.65-17.70)	10.20(7.50-28.60)	19.70(10.90-28.80)	22.10(17.10-39.70)	23.80(19.20-42.00)	19.50(17.80-24.95)	31.00(15.45-35.55)
Kruskal-Wallis Testi (p)		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Şekil 13: Grupların DPOAE yanıtlarının, Error Bar yöntemi ile günlere göre ortalamaları



Şekil 14: Grupların DPOAE yanıtlarının, 3-D Bar Charts yöntem ile günlere göre ortalamaları



Tüm gruplar, kendi içinde Wilcoxon Signed Ranks Testi ile analiz edildi. Analiz sonuçları Tablo 15, Tablo 16, Tablo 17’de verilmiştir. Buna göre, 0. gün ile 10. gün, 0. gün ile 21. gün ve 10. gün ile 21. gün verileri karşılaştırılarak grup içindeki sonuçlar belirlendi. İntratimpanik Gm uygulanan kobaylarda DPOAE testinin 1 kHz frekansta yapılan analizde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0.05$), diğer tüm DPOAE frekansları ve

BIUP uyaranlarının yanıtlarında 0. gün ile 10. gün, 0. gün ile 21. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.05$). 10 ile 21. gün arasında ise BIUP klik uyarana alınan yanıtların analizi hariç ($p=0.026$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

İntratimpanik Cs uygulanan grupta tüm DPOAE frekansları ve BIUP yanıtlarında, 0. gün ile 10. gün, 0. gün ile 21. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.05$). Ancak 10 ve 21. gün DPOAE ve BIUP yanıtları birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 14: İntratimpanik Gm uygulanan grubun (Grup 1), DPOAE yanıtlarının ve BIUP eşiklerinin, testler arasında Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılması (p değerleri)

Grup 1	0. Gün–10. Gün	0. Gün–21. Gün	10. Gün–21. Gün
1 kHz DPOAE	0.068	0.068	1.000
1.5 kHz DPOAE	0.028	0.280	0.655
2 kHz DPOAE	0.028	0.028	1.000
3 kHz DPOAE	0.028	0.028	1.000
4 kHz DPOAE	0.028	0.046	0.317
6 kHz DPOAE	0.043	0.043	0.317
8 kHz DPOAE	0.028	0.028	1.000
BIUP Klik	0.027	0.028	0.026
BIUP 6 kHz Ton burst	0.028	0.028	0.066
BIUP 8 kHz Ton burst	0.027	0.027	0.072

Tablo 15: İntratimpanik Cs uygulanan grubun (Grup 2), DPOAE yanıtlarının ve BIUP eşiklerinin, testler arasında Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılması (p değerleri)

Grup 2	0. Gün–10. Gün	0. Gün–21. Gün	10. Gün–21. Gün
1 kHz DPOAE	0.018	0.018	1.000
1.5 kHz DPOAE	0.018	0.018	1.000
2 kHz DPOAE	0.018	0.018	0.317
3 kHz DPOAE	0.018	0.018	1.000
4 kHz DPOAE	0.018	0.018	1.000
6 kHz DPOAE	0.018	0.018	1.000
8 kHz DPOAE	0.018	0.018	1.000
BIUP Klik	0.018	0.018	0.084
BIUP 6 kHz Ton burst	0.016	0.017	0.343
BIUP 8 kHz Ton burst	0.027	0.018	0.527

İntratimpanik Sf verilen kontrol grubunun kendi içinde yapılan değerlendirmede, DPOAE testinin tüm frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmedi. BIUP

testi yanıtlarında ise 0. gün ile 21. gün verilerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0.014$). BİUP testinin 0. gün ile 10. gün ve 1. gün ile 21. gün yanıtları analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$).

Tablo 16: İntratifimpanik Sf uygulanan grubun (Grup 3), DPOAE yanıtlarının ve BİUP eşiklerinin, testler arasında kendi içerisinde Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılması (p değerleri)

Grup 3	0. Gün–10. Gün	0. Gün–21. Gün	10. Gün–21. Gün
1 kHz DPOAE	0.485	0.600	0.780
1.5 kHz DPOAE	0.972	0.972	0.650
2 kHz DPOAE	0.221	0.422	0.753
3 kHz DPOAE	0.173	0.221	0.075
4 kHz DPOAE	0.152	0.055	0.173
6 kHz DPOAE	0.422	0.422	0.917
8 kHz DPOAE	0.807	0.944	0.807
BİUP Klık	0.083	0.014	0.083
BİUP 6 kHz Ton burst	0.102	0.014	0.414
BİUP 8 kHz Ton burst	0.083	0.008	0.102

DPOAE ve BİUP verileri, grupların iki bağımsız değişken olarak birbirleriyle karşılaştırılması şeklinde Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. Buna göre, Grup 1 ile Grup 3, Grup 2 ile Grup 3 ve Grup 1 ile Grup 2 karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 18, Tablo 19 ve Tablo 20’de verilmiştir.

Grup 1 ile Grup 3 ve Grup 2 ile Grup 3’ün verileri analiz edildiğinde 0. gün DPOAE ve BİUP sonuçlarında farklılık gözlenmezken ($p>0.05$) 10. gün ve 21. günün tüm sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Grup 1 ile Grup 3 verileri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 17: İntratifimpanik Gm uygulanan grubun (Grup 1) intratifimpanik Sf verilen gruba (Grup 3) göre DPOAE ve BİUP değışiklikleri değerdendirme amaçlı yapılan Mann-Whitney U testinin ‘p’ değerdeleri

Test (Grup1-Grup3)	0. Gün	10. gün	21. gün
1 kHz DPOAE	0.930	0.003	0.001
1.5 kHz DPOAE	0.599	0.001	0.002
2 kHz DPOAE	0.726	0.001	0.001
3 kHz DPOAE	0.114	0.001	0.001
4 kHz DPOAE	0.599	0.001	0.002
6 kHz DPOAE	0.293	0.002	0.001
8 kHz DPOAE	0.456	0.001	0.003
BİUP Klık	0.820	<0.001	<0.001
BİUP 6 kHz Ton burst	0.324	<0.001	<0.001
BİUP 8 kHz Ton burst	0.497	<0.001	<0.001

Tablo 18: İntratifimpanik Cs uygulanan grubun (Grup 2) intratifimpanik Sf verilen gruba (Grup 3) göre DPOAE ve BİUP değışiklikleri değerdendirme amaçlı yapılan Mann-Whitney U testinin ‘p’ değerdeleri.

Test (Grup2-Grup3)	0. Gün	10. gün	21. gün
1 kHz DPOAE	0.630	0.001	<0.001
1.5 kHz DPOAE	0.810	<0.001	0.001
2 kHz DPOAE	0.630	<0.001	0.003
3 kHz DPOAE	0.630	<0.001	<0.001
4 kHz DPOAE	0.520	<0.001	<0.001
6 kHz DPOAE	0.166	0.001	0.001
8 kHz DPOAE	0.178	<0.001	0.001
BİUP Klık	0.181	<0.001	<0.001
BİUP 6 kHz Ton burst	0.287	0.001	<0.001
BİUP 8 kHz Ton burst	0.463	0.002	<0.001

Tablo 19: İntratifimpanik Gm uygulanan grubun (Grup 1) intratifimpanik Cs verilen gruba (Grup 2) göre DPOAE ve BİUP değışiklikleri değerdendirme amaçlı yapılan Mann-Whitney U testinin ‘p’ değerdeleri

Test (Grup1-Grup2)	0. Gün	10. gün	21. gün
1 kHz DPOAE	0.252	1.000	1.000
1.5 kHz DPOAE	0.317	1.000	0.280
2 kHz DPOAE	0.116	1.000	0.355
3 kHz DPOAE	0.568	1.000	1.000
4 kHz DPOAE	0.253	1.000	0.280
6 kHz DPOAE	0.460	0.280	1.000
8 kHz DPOAE	0.199	1.000	1.000
BİUP Klık	0.111	0.387	1.000
BİUP 6 kHz Ton burst	1.000	0.304	0.050
BİUP 8 kHz Ton burst	1.000	1.000	0.172

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, nonspesifik ototopikal antifungal ilaçlardan Cs'nin, sağlıklı erişkin dişi albino kobaylarda, tekrarlayan intratimpanik enjeksiyonlar sonrasında, DPOAE ve BİUP testleriyle ölçüm yapılarak ototoksik etkisi değerlendirildi.

Ototoksisite çalışmalarında birçok araştırma modeli uygulanmaktadır. Bunlar, intratimpanik enjeksiyon, timpan membran perforasyonu, transbullar enjeksiyon ve ek olarak sistemik enjeksiyondur. Topikal ajanların ototoksisite çalışmalarında genellikle tercih edilen yöntemler, intratimpanik enjeksiyon, perforasyon modeli ve transbullar enjeksiyondur. Fakat bu sayılan modellerin birbirine göre üstünlüklerini araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışılan hayvan modeli hangisi olursa olsun, özellikle OAE yanıtları alınırken ortak sorun, genellikle hayvanların DKY'nin dar olması ve DKY içerisine yerleştirilen probun her zaman uygun şekilde yerleştirilememesidir. Probun yerleştirilmesinin ardından yanıtları alabilmek için birkaç defa probun pozisyonunun değiştirilmesi gerekebilir. Özellikle hayvanların DKY'ye yapılan girişimler sonrasında ödem, enfeksiyon gibi problemler görülebilir. Ayrıca ilk uygulama sonrasında buşon, kanamaya sekonder pıhtı ve serümen artışı gibi problemler gözlenebilir. Tüm bu sayılanlar ise probun yerleştirilmesinde ve OAE yanıtlarının alınmasında sorunlara neden olabilir. İntratimpanik enjeksiyon modeli hariç transbullar enjeksiyon ve timpan membran perforasyonu oluşturulan modellerde ek cerrahi girişimler gerekmektedir ve işlemler sırasında deney hayvanında enfeksiyon, DKY stenozu ve exitus gelişebilir. Kanımızca, timpan membran perforasyonu oluşturulan çalışmalarda perforasyonun boyutu kontrol edilemeyecek ölçülere ulaşarak OAE yanıtlarının azalmasına ya da kaybolmasına neden olabilir. Bu nedenle çalışmamızda TM perforasyonu yerine intratimpanik enjeksiyon tercih edilmiştir.

Fungal otitis eksterna tedavisinde kullanılan birçok nonspesifik antifungal ilaç bulunmaktadır (Tablo 1). Bu ilaçlar içerisinde alüminyum asetatın ototoksik etkisinin olmadığı kanıtlanmıştır (24,62). Jinn ve arkadaşlarının çinçilya üzerinde yaptıkları çalışmada, asetik asitin oldukça ototoksik etkili olduğu belirtilmiş, aynı çalışmada polimiksin B ve

neomisin karışımının da aynı etkiyi gösterdiği kanıtlanmıştır (47). Marsh ve Tom, kobaylarda ototopikal olarak uygulanan cresylate ve asetik asitin ototoksik etkileri olduğunu göstermişlerdir (63). Öztürkcan ve arkadaşları tarafından kobaylarda % 70 alkol ile % 4 borik asit karışımı kullanılarak yapılan bir çalışmada, borik asitin ototoksik etkisinin olduğu fakat distile su ile karışımının ototoksik etki oluşturmadığı belirtilmiştir (33). Spadow ve arkadaşları, ratların yuvarlak pencere nişi üzerine gentian violet verilmesi sonrasında, BİUP değişiklikleri saptamışlardır (64). Tom, kobaylarda topikal olarak uyguladığı spesifik antifungal ilaçlardan olan clotrimazole, miconazole, tolinaftate ve nystatinin ultrastrüktürel incelemesinde koklear hasarın görülmediğini belirtmiştir (7).

Cs, ilk olarak tinea cruris ve moniliasis için kullanılıyor olsa da, Türkiye’de otomikoz tedavisinde tercih edilen ve birçok maddenin birleşiminden oluşan topikal antifungaldir. İçeriğinde bulunan basic fuksin, aseton, fenol ve resorsinolun ototoksitesisi hakkında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece borik asit ile ilgili çalışmada ototoksitesiteye rastlandığı belirtilmiştir.

Morizono ve Sikora, çinçilya orta kulaklarında farklı konsantrasyonlarda etil alkol ile yaptıkları bir çalışmada, etil alkolün dehidratasyon ve hücrel hasarla mukozal irritasyona neden olduğu, yuvarlak pencereden diffüzyon ile geçerek iç kulak hasarı oluşturduğunu belirtmişlerdir. % 50 etil alkolün, koklear mikrofoniclerde azalmaya neden olduğu ve bunun üzerindeki konsantrasyonlarda ototoksik etki yaratabileceğini belirtmişlerdir (34). Ayrıca alkolün diğer ilaçların ototoksik etkisini potansiyelize edebileceği unutulmamalıdır (33,34,65). Cs içerisinde, % 90 etil alkol kullanılsa da distile su ile konsantrasyonu % 10'un altına düşmektedir. Cs’nda her ne kadar ototoksik konsantrasyonlarda olmayan iki madde bulunsada basic fuksin, aseton, fenol ve resorsinolün ototoksik etkisinin bilinmemesi nedeniyle bu çalışma yapılmıştır.

Çalışmamızda, DPOAE ve BİUP sonuçlarını değerlendirirken, ortalama, standart sapma, ortanca, % 25 ve % 75 çeyreklik dilimler (Q1, Q3) kullanıldı. Bunun nedeni, çalışmaya dahil edilen kulak sayısının 30’un altında olması, normal dağılımın olmaması ve sürekli değişkenlerin kullanılmasıdır.

İntratimpanik Sf uyguladığımız grupta, 0, 10 ve 21. günlerde elde edilen DPOAE yanıtları, Wilcoxon Signed Ranks Testi kullanılarak birbirleri ile karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. BİUP testlerinin yanıtlarında, 0 ve 21. gün arasındaki verilerin karşılaştırılmasında, anlamlı bir farklılık gözlenmesine rağmen kobaylarda 10 dB'den fazla bir kayıp saptanmadı. Bu bağlamda, negatif kontrol grubunda sadece bir tek test tekniğinde anlamlı sonuç elde edildiğinden dolayı ototoksisitenin gelişmediği sonucuna varıldı.

Cs uygulanan kobaylarda, enjeksiyonlar öncesinde tüm frekanslarda yanıt alınırken, 10. günde DPOAE testinin hiçbir frekansında yanıt alınamadı. Yirmibirinci günde yapılan DPOAE'de, sadece bir kobayda 2 kHz'de sınırlı yanıt elde edildi. Cs uygulanan grubun 0 ile 10. gün, 0 ile 21. gün DPOAE ve BİUP değerleri, Wilcoxon Signed Ranks Testi kullanılarak analiz edildi ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.05$). Onuncu gün ile yirmibirinci gün değerleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Bu sonuca göre, ototoksisitenin gelişmesinin 10. günden önce ortaya çıktığı söylenebilir.

İntratimpanik enjeksiyonlar öncesinde, Cs uygulanan grup ile negatif kontrol grubunun DPOAE ve BİUP yanıtları Mann-Whitney U Testi kullanılarak karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Bu iki grubun 10. gün ve 21. gün verileri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p<0.05$). Cs uygulanan grup ile Gm uygulanan grubun 0, 10 ve 21. gün sonuçları aynı testle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Tüm grupların intratimpanik enjeksiyonlardan önceki BİUP ve DPOAE yanıtları bir bütün halinde Kruskal-Wallis Testi ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken, 10 ve 21. gün verileri aynı test ile değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). Cs uygulanan grup ile Gm uygulanan grubun istatistiksel analizleri birbirinden farklı olmadığı sonucuna varıldı. Bu nedenle, kobaylarda Cs'nin intratimpanik olarak orta kulak kavitesine enjekte edildiğinde ototoksiksisitenin gelişebileceği düşünüldü.

Ototoksisitede şart olmamakla birlikte, özellikle ve öncelikle tiz frekansların etkilenmesi nedeniyle çalışmamızda, BİUP testinde klik uyarana ek olarak 6 kHz ve 8 kHz ton

burst uyarılar kullanıldı. İntratimpanik Gm uyguladığımız kobaylarda 10 ve 21. gün BİUP testlerinde, eşiklerde belirgin farklılıklar gözlenmedi. Benzer durum, intratimpanik Cs uygulanan grup için de geçerli idi. Bu sonuca göre, her iki ajanın uygulandığı kulaklardaki ototoksisitenin 10. günden önce belirttiği ve 21. günde de devam ettiği gözlenmektedir.

Çalışmamızın etik kurul onayı alınıp enjeksiyonların tamamlanmasından sonra Gültekin ve arkadaşlarının Cs'nin ototoksisitesi üzerine bir araştırması yayınlanmıştır (35). Bu çalışma, ratlarda timpan membran perforasyon modeli ile topikal Cs kullanılarak yapılmıştır. Tedavi öncesinde timpan membran perforasyonu oluşturulmuş, tedavi öncesinde ve sonrasında DPOAE testinin sonuçları değerlendirilmiştir. 65 dB / 55 dB şiddetlerinde yanıt alınamaması üzerine 80 dB/70 dB şiddetlerinin yanıtları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. DPOAE yanıtları tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre bir miktar azalmış olsa da Cs uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiş ve ototoksik etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Belirtilen çalışmada BİUP eşikleri değerlendirilmemiştir.

Ueda ve arkadaşlarının kobaylarda timpan membran perforasyonu oluşturarak yaptıkları çalışmada, bulla % 50'nin altında sıvı ile dolu olduğunda DPOAE yanıtları alınabilirken tam dolu olduğunda bu yanıtlar alınamamıştır. Aynı çalışmada, timpan membran perforasyonunun çapı arttıkça DPOAE yanıtlarının da azaldığı gösterilmiştir (66). LeBourgeois III ve arkadaşları, kobayların timpan membranlarına miringotomi, % 25 perforasyon, % 50 perforasyon, % 75 perforasyon ve tam perforasyon oluşturarak DPOAE yanıtlarını karşılaştırmışlardır. Buna göre, miringotomi ve % 25 timpan membran perforasyonu olan kulaklarda DPOAE yanıtları bir miktar azalmakla beraber alınabilirken, özellikle % 50 ve üzeri perforasyonu olan kulaklarda yanıtların oldukça düşük olduğunu belirtmişlerdir (67). Zhao ve arkadaşları, farklı orta kulak patolojileri olan hastalarda yaptıkları çalışmada orta kulak effüzyonlarında TEOAE yanıtlarının alınabildiğini, TM perforasyonu olan hastalarda ise perforasyonun boyutu büyük olduğunda ve 20 dB'in üzerindeki işitme kayıplarında yanıtların alınamayabileceğini belirtmişlerdir (68). Çalışmamızda, testler öncesinde yapılan otomikroskopik bakıda, kobayların hiçbirinde TM perforasyonu ve otitis media bulguları gözlenmedi.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Negatif kontrol grubunu oluşturan intratimpanik Sf enjeksiyonu uygulanan kulaklarda, DPOAE yanıtlarında azalma gözlenmemiş olup, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Aynı grubun ilk yapılan BİUP testlerinin eşiklerinin sonuçları ile 10. gün testi ve 10. gün ile 21. gün verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmamıştır. Ancak enjeksiyonlardan önce uygulanan BİUP test sonuçları ile 21. günde elde edilen BİUP testi sonuçları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olmasına karşın, BİUP eşiklerinde 10 dB'den fazla artış gözlenmemesi nedeniyle bu etkilenmenin ototoksosite dışındaki etkenlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Kobaylarda gözlenen ototoksosite 6-8 kHz ve daha yüksek frekansların değerlendirilmesiyle anlaşılabilir. Burada elde edilen eşik yükselmesi 5 dB düzeyindedir (Tablo 6 ve 7). Ayrıca bu eşik değişikliği, diğer ototoksosite olarak kabul edilen gentamisin ve Castellani enjeksiyonları sonrasındaki gibi distorsiyon oto-akustik emisyon yanıtlarının kaybolmasıyla desteklenmemektedir. Bu çalışmada kullanılan BİUP kayıtlama sisteminde 8 kHz'den daha yüksek frekansları değerlendirmek mümkün olamamıştır.

Intratimpanik Cs enjeksiyonu uygulandıktan sonra, uygulama öncesinde mevcut olan DPOAE yanıtları alınamamış olup klik, 6 kHz ve 8 kHz uyarılarla BİUP eşikleri oldukça düşük bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. Bu durum, pozitif kontrol grubu olarak intratimpanik Gm uygulanan kobaylarda da gözlenmiştir. Bu nedenle, Cs'nin kobaylarda ototoksik olduğu sonucuna varılmıştır.

Cs her ne kadar kobaylarda ototoksik etkili olduğu düşünülse de insan kokleasının anatomisinin farklılığı nedeniyle insanda bu etki görülmeyebilir. Bu durumu açıklamak amacıyla ayrıca insanlarda Cs ototoksitesi çalışılmalıdır. İnsandaki ototoksik etkisi incelenene kadar, TM perforasyonu olan otomikoz tanılı hastalarda Cs'nin kullanılmasında dikkatli olunmalı ve mümkün olduğunca kullanımından kaçınılmalıdır.

Cs'nin bileşenlerinden basic fuksin, aseton, fenol ve resorsinolün ototoksik etkisi bilinmemektedir. Ayrıca bu ajanların da ototoksik etkilerinin araştırılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Lucente FE. Fungal infections of the external ear. *Otolaryngol Clin North Am* 1993;26:995-1006.
2. Stern JC, Lucente FE. Otomycosis. *Ear Nose Throat J* 1988;67:804-810.
3. Özgirgin ON. Dış kulak enfeksiyonları. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*, Çelik O (ed), 2nd edn, Asya Tıp Kitabevi, 2007, sfy 119-126.
4. Yassin A, Mostapha MA, Moawad MK. Fungus infection of the ear. *J Laryngol Otol* 1964;78:591-602.
5. Munguia R, Daniel SJ. Ototopical antifungals and otomycosis: A review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2008;72:453-459.
6. Haynes DS, Rutka J, Hawke M, Roland PS. Ototoxicity of Ototopical Drops – An Update. *Otolaryngol Clin N Am* 2007;40:669-683.
7. Tom LW. Ototoxicity of common topical antimycotic preparations. *Laryngoscope* 2000;110:509-516.
8. Moller AR. Hearing Impairment. In: *Hearing: anatomy, physiology and disorders of the auditory system*. 2nd ed, Elsevier Inc, 2006, pp 227-229.
9. Akyıldız AN. Ototoksik ilaçlar. *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi II. Bilimsel Tıp Yayınevi*. 2002:415-445.
10. Çelik O, Şerbetçioğlu B, Göktan C. Otoloji ve Nöro-otolojide öykü, muayene ve değerlendirme. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*, Çelik O (ed), 2nd edn, Asya Tıp Kitabevi, 2007:1-35.
11. Mutlu C. Ototoksosite. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*, Çelik O (ed), 2nd edn, Asya Tıp Kitabevi, 2007:269-282.
12. Dağlı AŞ. Distorsiyon product otoakustik emisyonlar (Uyarı/Cevap Eğrileri). *K.B.B. ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi* 1996;4:140-142.
13. Polak M, Eshraghi AA, Nehme O, Ahsan S, et al. Evaluation of hearing and auditory nerve function by combining ABR, DPOAE and eABR tests into a single recording session. *J Neurosci Methods* 2004;134:141-149.
14. Saraç S. Aurikula ve dış kulak yolu enfeksiyonları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004;35:92-95.

15. Osguthorpe JD, Nielsen DR. Otitis externa: review and clinical update. *Am Fam Physician* 2006;74:1510-1516.
16. Ong YK, Chee G. Infections of the external ear. *Ann Acad Med Singapore* 2005;34:330-334.
17. Kurnatowski P, Filipiak A. Otomycosis: prevalence, clinical symptoms, therapeutic procedure. *Mycoses* 2001;44:472-479.
18. Ozcan KM, Ozcan M, Karaarslan A, Karaarslan F. Otomycosis in Turkey: predisposing factors, aetiology and therapy. *J Laryngol Otol* 2003;117:39-42.
19. Sood VP, Sinha A, Mohapatra LN. Otomycosis: A clinical entity - Clinical and experimental study. *J Laryngol Otol* 1967;81:999-1004.
20. Selesnick SH. Otitis Externa: Management of the recalcitrant case. *Am J Otol* 1994;15:408-412.
21. Paulose KO, Al Khalifa S, Shenoy P, Sharma RK. Mycotic infection of the ear (otomycosis): A prospective study. *J Laryngol Otol* 1989;103:30-35.
22. Vennwald I, Schönlebe J, Klemm E. Mycological and histological investigations in humans with middle ear infections. *Mycoses* 2003;46:12-18.
23. Degerli K, Akcali S, Sezgin S, Unlu H, Ozbakkaloglu B. Agents of otomycosis in Manisa and its environment. *Turkish Journal of Infection* 2002;16:211-213.
24. Ho T, Vrabec JT, Yoo D, Coker NJ. Otomycosis: Clinical features and treatment implications. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;135:787-791.
25. Gregson AEW, La Touche CJ. Otomycosis: A neglected disease. *J Laryngol Otol* 1961;75:45-69.
26. Bassiouny A, Kamel T, Moawad MK, Hindawy DS. Broad spectrum antifungal agents in otomycosis. *J Laryngol Otol* 1986;100:867-873.
27. Russel JD, Donnelly M, MsShane DP, Alun-Jones T, Walsh M. What causes acute otitis externa? *J Laryngol Otol* 1993;107:898-901.
28. Robinson AC. Management of radiation-induced otitis externa. *J Laryngol Otol* 1990;104:458-459.
29. Jadhav VJ, Pal M, Mishra GS. Etiological significance of *Candida albicans* in otitis externa. *Mycopathologia* 2003;156:313-315.
30. Stern JC, Shah MK, Lucente FE. In vitro effectiveness of 13 agents in otomycosis and review of the literature. *Laryngoscope* 1988;98:1173-1177.

31. Shah MK. Castellani's paint. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2003;69:357-358.
32. Rubin AI, LaNatra N, Stiller MJ. Other topical medications. In *Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine*. Sixth ed. USA, The McGraw-Hill Companies, pp 2363.
33. Ozturkcan S, Dundar R, Katilmis H, Ilknur AE, et al. The ototoxic effect of boric acid solutions applied into the middle ear of guinea pigs. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009;266:663-667.
34. Morizono T, Sikora MA. Ototoxicity of ethanol in the tympanic cleft in animals. *Acta Otolaryngol* 1981;92:33-40.
35. Gültekin E, Yener M, Özdemir İ. The effect of topical Castellani solution on outer hair cell function of rats. *Laryngoscope* 2010;120:808-812.
36. Ballantyne J. Ototoxicity: A clinical review. *Audiology* 1973;12:325-336.
37. Rybak LB, Toulaitos J. Ototoxicity. In *Ballenger's Otolaryngology Head and Neck Surgery*, Snow Jr JB, Ballenger JJ (edr), 16th ed, 2003, BC Decker Inc, pp 374-380.
38. Goycoolea MV, Muchow D, Schachern P. Experimental studies on round window structure: function and permeability. *Laryngoscope* 1988;(Suppl 44):1-20.
39. Okuda T, Sugahara K, Shimogori H, Yamashita H. Inner Ear Changes With Intracochlear Gentamicin Administration in Guinea Pigs. *Laryngoscope* 2004;114:694-697.
40. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. *Hear Res* 2005;199:103-110.
41. Heffner R, Heffner H, Masterton B. Behavioral Measurements of Absolute and Frequency Difference Thresholds in Guinea Pig. *J Acoust Soc Am* 1971;49:1888-1895.
42. Schacht J. Mechanism for aminoglycoside ototoxicity: Basic science research. In: *Ototoxicity*, Roland PS, Rutka JA (eds), BC Decker Inc, Canada, 2004, pp 93-100.
43. Tan CT, Hsu CJ, Lee SY, Liu SH, Lin-Shiau SY. Potentiation of noise induced hearing loss by amikacin in guinea pigs. *Hear Res* 2001;161:72-80.
44. Govaerts PJ, Claes J, Van de Heyning PH, Jorens GP, et al. Aminoglycoside-induced ototoxicity. *Toxicology Letters* 1990;52:227-251.
45. Wright CG, Roland PS. Middle ear effect of ototopical agents. In: *Ototoxicity*, Roland PS, Rutka JA (eds), BC Decker Inc, Canada, 2004, pp 107-113.

46. Roland PS, Wright CG. Topical aminoglycoside cochlear toxicity. In: Ototoxicity, Roland PS, Rutka JA (eds), BC Decker Inc, Canada, 2004, pp 114-120.
47. Jinn TH, Kim PD, Russell PT, Church CA, et al. Determination of Ototoxicity of Common Otic Drops Using Isolated Cochlear Outer Hair Cells. *Laryngoscope* 2001;111:2105-2108.
48. Hutchin T, Cortopassi G. Proposed Molecular and Cellular Mechanism for Aminoglycoside Ototoxicity. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2517-2520.
49. Fischel-Ghodsian N. Genetic Factors in Aminoglycoside Ototoxicity. In: Ototoxicity, Roland PS, Rutka JA (eds), BC Decker Inc, Canada, 2004, pp 144-152.
50. Assimakopoulos D, Patrikakos G. Treatment of Meniere's disease by intratympanic gentamicin application. *J Laryngol Otol* 2003;117:10-16.
51. Prepagaran N, Kisilevsky V, Rutka JA. Topical Aminoglycoside Vestibular Toxicity. In: Ototoxicity, Roland PS, Rutka JA (eds), BC Decker Inc, Canada, 2004, pp 121-127.
52. Campbell KCM. Audiologic Monitoring for Ototoxicity. In: Ototoxicity, Roland PS, Rutka JA (eds), BC Decker Inc, Canada, 2004, pp 153-160.
53. Güneri EA, Şerbetçioğlu B, İkiz AÖ, Güneri A, Ceryan K. TEOAE monitoring of Cisplatin induced ototoxicity in guinea pigs: the protective effect of vitamin B treatment. *Auris Nasus Larynx* 2001;28:9-14.
54. Hall III JW. Overview of auditory neurophysiology. In: New handbook of auditory evoked responses, Hall III JW, Perason Education Inc. USA, 2007, 1-34.
55. Hall III JW. ABR parameters, protocols and procedures. In: New handbook of auditory evoked responses, Hall III JW, Perason Education Inc. USA, 2007, 171-211.
56. Hall III JW. ABR analysis and interpretation. In: New handbook of auditory evoked responses, Hall III JW, Pearson Education Inc. USA, 2007, 212-255.
57. Lieberman MC, Zuo J, Guinan Jr JJ. Otoacoustic emissions without somatic motility: Can stereocilia mechanics drive the mammalian cochlea? *J Acoust Soc Am* 2004;116:1649-1655.
58. Dallos P. Cochlear amplification, outer hair cells and prestin. *Curr Opin Neurobiol* 2008;18:370-376.
59. Probst R, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. A review of otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 1991;89:2027-2067.

60. Lonsbury-Martin BL, Martin GK. The clinical utility of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1990;11:144-154.
61. İkiz AÖ, Şerbetçioğlu B, Güneri EA, Sütay S, Ceryan K. Investigation of Topical Ciprofloxacin Ototoxicity in Guinea Pigs. *Acta Otolaryng* 1998;118:808-812.
62. Serin GM, Çiprut A, Baylanççek S, Sari M, et al. Ototoxic Effect of Burrow Solution Applied to the Guinea Pig Middle Ear. *Otol Neurotol* 2007;28:605-608.
63. Marsh RR, Tom LWC. Ototoxicity of antimycotics. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;100:134-136.
64. Spandow O, Anniko M, Moller AR. The round window as access route for agents injurious to the inner ear. *Am J Otolaryngol* 1988;9:327-335.
65. Madnani D, Li G, Frenz CM, Frenz DA. Oral ethanol potentiates the loss of outer hair cells in cisplatin-exposed rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;137:327-331.
66. Ueda H, Nakata S, Hoshino M. Effects of effusion in the middle ear and perforation of the tympanic membrane on otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear Res* 1998;122: 41-46.
67. LeBourgeois HW 3rd, Anand VK, McAurley JR, Dickman JD, Malphurs O Jr. Effect of tympanic perforations on the detection of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Nose Throat J* 2000;79:610-612, 614-616, 618.
68. Zhao F, Wada H, Koike T, Ohyama K, et al. Transient evoked otoacoustic emissions in patients with middle ear disorders. *Int J Audiol* 2003;42:117-131.