

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



Yenidoğanlarda orta kulak boşluğu, cochlea hacimlerinin ve ganglion spiralede bulunan nöronların stereolojik olarak tahmin edilmesi.

Proje No:TOA-11-3618

SAĞLIK BİLİMLERİ

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Niyazi ACER
Erciyes Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı

HAZİRAN 2014

KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ	3
2.METOD	4
3. BULGULAR	6
4. SONUÇ	

Niyazi Acer^{1*}, Hakan Kesici², Erdoğan Unur¹, M.Fatih Sönmez³, Tolga Ertekin¹, Ayla Arslan¹, Mehmet Bilgen⁴, Abdulkhakim Çoşkun⁵, Mustafa Erkan⁶

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kayseri

²Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Tokat

³Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

⁴Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Aydın

⁵Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Radyoloji bölümü, Kayseri

⁶Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak, Burun Boğaz Anabilim Dalı, Kayseri

Bu çalışmanın amacı temporal kemikten elde edilen bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleri üzerinde manuel yöntem ile cavitas tympani (CT) ve cochlea hacimleri MATLAB platformunda geliştirilen bir yazılım ile hesaplanmasıdır. 5 adet yenidoğan kadavrasına ait kafataslarından alınan 0.25 mm'lik kesit kalınlığında BT görüntüleri konusunda uzman iki ayrı değerlendirici tarafından yazılım kullanılarak bağımsız olarak analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Cavitas tympani ve cochlea'nın sınırları önce görüntü kesitleri üzerinde manuel olarak çizilmiş ve alan ölçümleri elde edilen maske görüntüler üzerinden yapılmıştır. Sonra tüm kesitlerden alınan ölçümler birleştirilerek toplam hacim değeri hesaplanmıştır. Aynı zamanda biz ganglion cochlearede bulunan nöronların sayısını tahmin etmek için optik disektör tekniği kullandık. Bunun için sayım alanları örneklendi ve tahminleme yapıldı. Yenidoğanlarda iç kulakta bulunan ganglion spirale de bulunan toplam nöron sayısı örneklemlerdeki toplamların tersi ile çarpılarak elde edildi. Buna göre ortalama nöron sayısı 38715 ± 1200 olarak tespit edildi ve varyasyon katsayı (VK) değeri ise 0.19 olarak bulundu. Manuel ölçüm performansını değerlendirmek için istatistiksel geçerliliği olan Dice benzerlik katsayısı (DBK), Jaccard, özgüllük ve hassasiyet testleri kullanılmıştır. Analizlerden elde edilen cavitas tympaninin ortalama hacmi $0.28 \pm 0.04 \text{ cm}^3$, $0.26 \pm 0.03 \text{ cm}^3$ olarak bulunmuştur. DBK indeksinin 1 değerine yakın bulunması geliştirilen yazılımla bağımsız olarak yapılan CT hacim ölçümlerinin örtüştüğünü ve güvenilirliği yüksek sonuçlar verdiğini göstermektedir. Bu yazılımın, radyolojik görüntülerden yapılabilecek diğer anatomik hacim ölçümlerinde kullanılmasının mümkün olacağı görülmektedir.

Anahtar kelimeler: os temporale, cavitas tympani, cochlea, hacim, ganglion spirale, stereoloji

****Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TOA-11-3618 kodlu proje kapsamında desteklenmiştir.**

Estimation of the Volume of the tympanic cavity, cochlea and spiral ganglion neurons using stereological methods in the human newborn cadavers.

The aim of this study is to calculate the tympanic cavity (TC) and cochlea volume with manual tracing technique on computed tomography images of temporal bone with a software developed in house using MATLAB platform. Images with slice thickness of 0.25 mm were obtained from 5 newborn cadavers and analyzed independently by two expert researchers using the software and the results were compared. The borders of TC and cochlea were delineated manually and measurement of interested area was calculated on masked images. To confirm the agreement of the histological and computed tomography (CT) data were compared. Then, the area measurements from all sections were added for the calculation of total volume. Also, we estimated neuron number of spiral ganglion using optical fractitoner method. The neurons within the counting areas sampled were counted with the optical disector technique. The total number of the newborns spiral ganglion neurons was estimated by multiplying the number of neurons counted by the reciprocal of the aggregate sampling fraction. We found an average of 38715 ± 1200 neurons with a coefficient of variation of 0.19. Dice similarity coefficient, Jaccard, sensitivity and specificity measures were used as a statistical validation metric to evaluate the performance of manual volume measurement. Good agreement was observed between MATLAB and ImageJ on TC volume results. Validation results showed that the average Dice values being above 0.8 indicating the software which allows consistent and reliable volume measurements. In conclusion, these softwares are accurate and robust in TC volume, providing an objective tool for quantitative assessment related to tympanic membrane perforations. These approach is a great benefit for image-based analysis and planning in the field of computer-assisted surgery as well as volume calculation. This software can potentially be applied to measure other anatomical volumes from radiological images.

Key words: temporal bone, tympanic cavity, cochlea, volume, hacim, spiral ganglion, stereology.

**This study was supported by the Department of Scientific Research Projects of Erciyes University. (project number: TOA-11-3618).

GİRİŞ

Orta kulak (cavum tympani) timpanik membran ile kemik labirent arasında, yüzeyi mukoza ile örtülü boluktur. Bu boşluğun ön-arka çapı yaklaşık 15 mm'dir. Mediolateral çapı ise üstte 6 mm, umbo hizasında 2 mm kadardır. Orta kulak boşluğu, östaki borusu aracılığı ile nazofarenks le, aditus aracılığı ile mastoidin havalı bölükleriyle, oval ve yuvarlak pencereler aracılığı ile iç kulakla bağlantılıdır. Orta kulak boşluğunda dış kulaktan iç kulağa ses dalgalarının iletimini sağlayan malleus, inkus ve stapes denilen üç adet kemikçik vardır. Bu kemikçikler orta kulak boşluğunda kulak zarı ile iç kulağın fonksiyonel girişi olan oval pencere arasında bir köprü oluturur. Kemikçikleri orta kulak duvarlarına bağlayan iki kas (m. tensor tympani, m. stapedius) ve dört ligament bulunur (Arıncı K, Elhan A, **Williams ve ark**).

Koklea duktus koklearis denilen bir boşluktur. Ductus reuniens ile sakkulusa bağlanır. Modiolus adı verilen koni şeklinde bir yapı ve etrafında arkadan öne, içten dışa doğru 2.5 defa dolanan bir kanaldır. Modiolus kokleanın eksenini oluşturur. İçindeki kanallardan koklear damarlar ve 8. kranial sinirin lifleri geçer. Duktus koklearis üçgen biçimindedir. Bu nedenle her duvar ayrı ayrı incelenir. Kemik spiral lamina koklear kanalın içinde spiral şekilde dolanır ve onu ikiye ayırır üstte kalan kısma skala vestibüli adı verilir ve bu kısım vestibulum a açılır. Altta kalan kısma skala tympani denir ve fenestra koklea vasıtasıyla orta kulakla ilişkidir. Skala tympani ve skala vestibüli kokleanın apeksinde helikotrema denilen yerde birbiriyle bağlantılıdır (Arıncı K, Elhan A 2005; Odar 1972).

Cavitas tympani (CT) kulak zarı ile iç kulak arasında bulunan dar bir aralıktır (1). Orta kulak ve temporal kemik incelenmesinde radyolojik olarak direkt röntgenogramlar, konvansiyonel tomografiler, Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve anjiyografi kullanılmaktadır (2).

Orta kulak ve iç kulak ile ilgili yapılar CT üzerinde net bir şekilde gösterilmektedir. Literatürde CT

üzerinde orta kulak boşluğunun hacim ölçümleri ve cochlea, vestibulum, semisirküler kanallar ve meatus acusticus internus gibi iç kulak ile ilgili yapıların CT üzerinde değişik ölçümlerin yapıldığını bildiren araştırmalar bulunmaktadır (Ikui ve ark 2000; Krombach G ve ark 2005; Kürkçüoğlu ve ark 2010). Bu çalışmaların çoğu morfometrik çalışmalardır. Bu çalışmalarda orta kulak boşluğu hacim ölçümleri yapılırken vestibulum, cochlea hacmi ile ilgili hesaplama yapılmamıştır. Bunun yanı sıra Ishiyama ve arkadaşları (2007) yaptıkları çalışmada spiral liagement hacimlerini ölçmüşler ve Meniere hastalığı olanlar ile olmayanlar arasında bu ligamentin Meniere hastalarında bu ligament hacminin azaldığı tespit edilmiştir.

İç kulak ile ilgili diğer çalışmalar histolojik çalışmalardır. Bu çalışmalarda genellikle kadavralardan elde edilen temporal kemikler EDTA ile dekalsifiye edilmiş ve celloidine gömülmüş ve sonuçta hematoksilen eosin ile boyanarak inceleme yapılmıştır. Bu incelemeler sonucunda ganglion spirale'deki nöron sayımı yapılmıştır. İnsan ganglion spiralesinde yaklaşık 41.700 nöron bulunduğu bildirilmektedir (Ishiyama et al 2011). Yine konu ile ilgili çalışmalarda Meniere hastalığında ganglion spirale'de bulunan nöronların sayıca azaldığı bildirilmektedir. İnsan ganglion spirale ve vestibularedeki nöron sayısını stereolojik olarak tahmin eden başka çalışmalarda bulunmaktadır (Tank 2002; Park ve ark. 2000)

Bu çalışmanın amacı temporal kemikten elde edilen bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleri üzerinde manuel yöntem ile cavitas tympani (CT) hacminin MATLAB platformunda geliştirilen bir yazılım ile

hesaplanmasıdır. Bunun yanısıra temporal kemiklerden elde edilen histolojik kesitlerden ganglion cochleare (spirale) içerisindeki nöronların optik parçalama yöntemi ile tarafsız olarak tahmin edilmesidir.

MATERYAL ve METOT

Çalışmamız Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Laboratuvarında bulunan 5 adet yenidoğan kadavrasına ait kafataslarından alınan 0.25 mm'lik kesit kalınlığında BT görüntüleri üzerinde yapılmış ve konusunda uzman iki ayrı değerlendirici (NA, TE) tarafından yazılım kullanılarak bağımsız olarak analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Sonra tüm kesitlerden alınan ölçümler birleştirilerek toplam hacim değeri hesaplanmıştır. Tablo 1 de yenidoğan kadavralarına ait boy, kilo, baş ölçüleri ve ölçülen hacim değerleri verilmiştir.

Tablo 1. Yenidoğan kadavralarına ait vücut antropometrik bilgilerinin aritmetik ortalama, standart sapma ve korelasyon değerleri.

Parameterler	Minimum-Maksimum	Aritmetik ortalama, standart sapma ±Standart sapma	Korelasyon katsayısı Cavitastympani ile (r)
Vücut ağırlığı (g)	1100-3400	2220±1056.88	0.975* , 0.410**, 0.821***
Boy (cm)	37-57.8	46.68±8.78	0.200*, 0.600**, 0.200***
Baş çevresi (cm, HC)	27-34	31±3.17	0.900* , 0.900** , 0.975***
Head width (cm, HW)	6.9-8.9	7.78±0.87	0.300*, 0.100**, 0.300***
Baş uzunluğu (cm, HH)	5.4-10.5	7.78±1.86	0.200*, 0.100**, 0.200***
Baş genişliği (cm, HL)	8.9-13.60	11.22±1.75	0.900* , 0.975** , 0.975***
Matlab:V1(cm ³)sağ	260-416	307.2±62.75	
sol	156-440	310.0±109	
Matlab:V2(cm ³)sağ	177-404	283.6±80.56	
sol	183-372	289.4±80.81	
ImageJ:V3(cm ³)sağ	155-340	256.8±77.97	
sol	185-380	266.8±77.97	

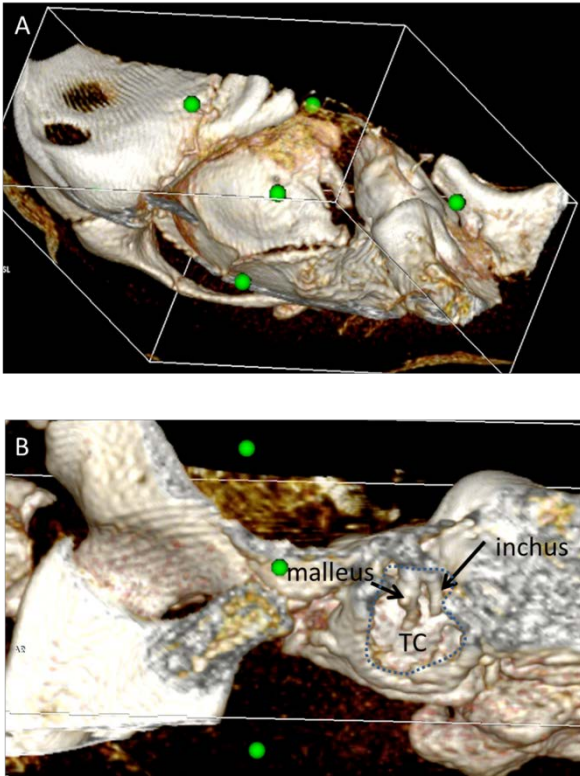
*Cavitas tympani hacmi V1 gözlemci1, Cavitas tympani hacmi V2, Cavitas tympani hacmi V3, *indicates correlation between V1 and other parameters, ** between V2 and other parameters, *** between V3 and other parameters. Bold indicates significant correlations.*

CT protokolü

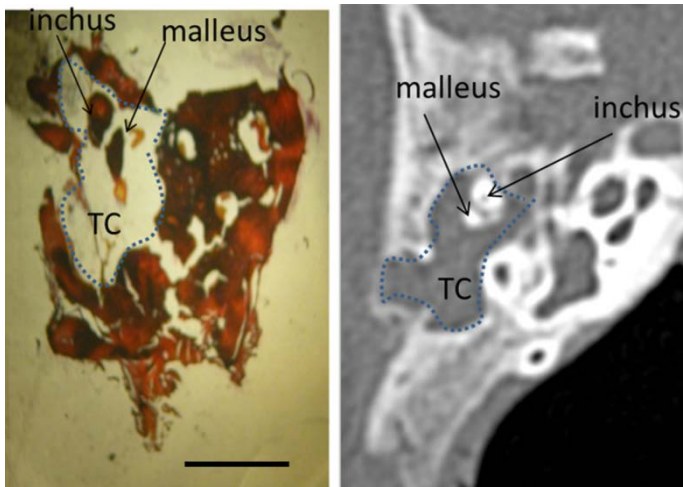
Çalışmada yeni doğan kadavraları multi scan bilgisayarlı tomografi ile (Toshiba Aquilion One) çekimler yapıldı. Bütün çekimler aksiyal planda yapıldı. Görüntü parametreleri: FOV 18 cm, pitch

0.562, a rotation time 1 saniye, kesit kalınlığı 0.25 mm ve matrisi 512x512, piksel ebatı 0.12, kVp 120, mA 200. Rekonstrüksiyon 180 LI kemik algoritması ile 1.25 mm kesit kalınlığı kullanılarak yapıldı. Kadavralar supin pozisyonunda orbitomeatal çizgiye paralel yerleştirildi.

Bütün data DICOM kullanılarak PACS sistemine aktarıldı. Bütün data hem stereolojik analiz içerisinde planimetrik olarak değerlendirilen yöntemlerde kullanılan ImageJ yazılımı ile hemde MATLAB yazılımı ile hacim hesaplamaları yapıldı. DICOM görüntüleri üzerinde Osirix kullanılarak üç boyutlu görüntüleri elde edildi (Şekil 1). Biz timpanik kavite, koklea ve vestibulum hacimlerini bu yapıların etrafını elle çizerek hesapladık. Aynı zamanda timpanik kavite hacim hesaplamalarında histolojik kesitleride kullanarak hacim hesaplamaları yaptık (Şekil 2).



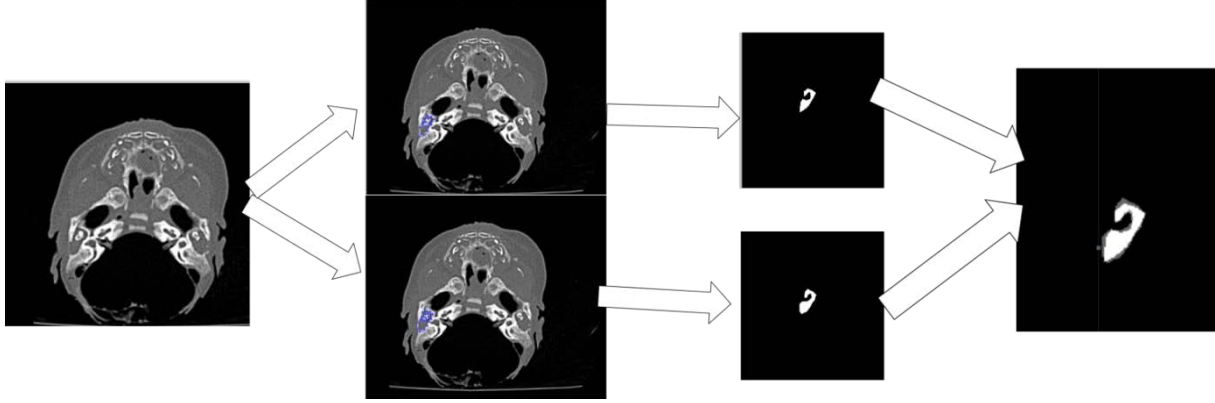
Şekil 1. Temporal kemiğin Osirix kullanılarak 3 boyutlu gösterimi.



Şekil 2. Orta kulağın histolojik kesiti ve CT görüntüsü.

1. Hacim hesaplaması

Cavitas tympaninin sınırları önce görüntü kesitleri üzerinde manuel olarak çizilmiş ve alan ölçümleri elde edilen maske görüntüler üzerinden yapılmıştır (Şekil 3abc). Bu maske görüntüleri üzerinde beyaz alanlara bulunan pikseller Matlab'e girilen kodlar tarafından hesaplanmış ve tüm kesitte bulunan toplam piksel sayısı ile kesit kalınlığı çarpılarak toplam piksel değeri bulunmuştur. Yine program yardımı ile piksel cm³ olarak dönüştürülerek hacim hesabı yapılmıştır.



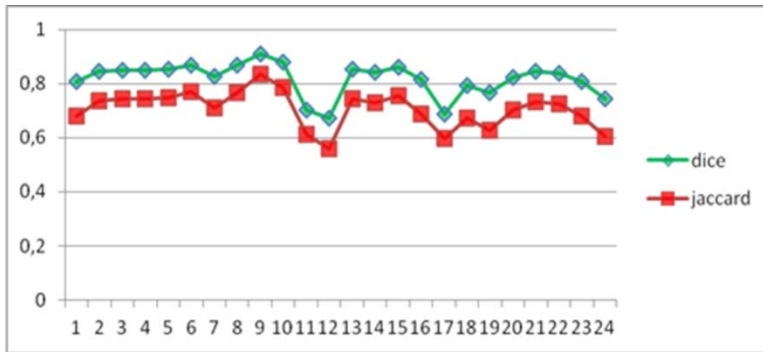
Şekil 3aOrjinal görüntü, b:iki farklı kişi tarafından matlab yardımı ile çizilen cavitas tympani sınırları, c:görüntülerim mask yapılması, d:görüntülerin overlap yapılması.

Dice ve Jaccard indeksi hesaplanması

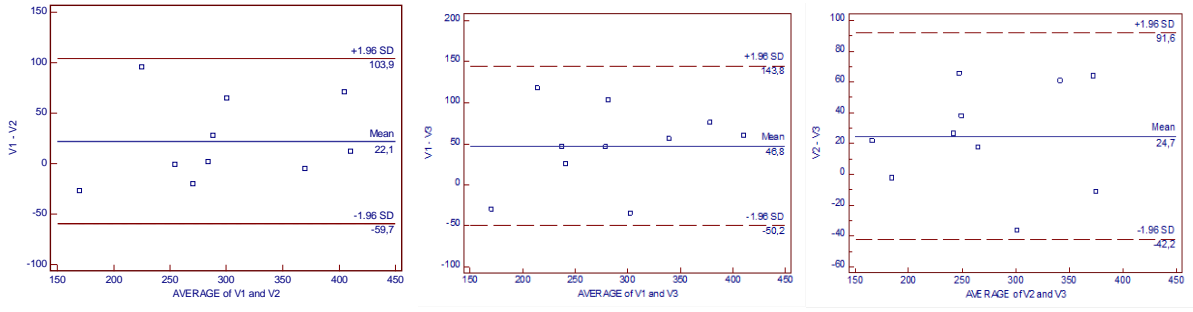
Manuel ölçüm performansını değerlendirmek için istatistiksel geçerliliği olan Dice benzerlik katsayısı (DBK) kullanılmıştır. Dice indeksi kesişim alanının her bir ayrı alanın ortalama toplamına bölünmesi ile elde edilir. Şekil 4 te bu değerler grafize edilmiştir.

$$Dice = 2 \frac{|A \cap B|}{|A| + |B|} = \frac{2 \times TP}{(2 \times TP) + FP + FN}$$

$$Jaccard = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} = \frac{TP}{FN + FP + TP}$$



Şekil 4. Her kesit için ortalama elde edilen Dice ve Jaccard değerleri.



Şekil 5. Her 3 yöntem ile elde edilen hacim sonuçlarının Bland Altman ile analizi. V1 ve V2 with Matlab, V3 with ImageJ.

Şekil 5'te elde edilen üç hacim yöntemlerinin Bland altman analizi ile karşılaştırılması verilmiştir.

2. Ganglion cochleare (spiral ganglion)de kesit örnekleme ve stereolojik analiz ile nöron sayımı

Daha önceki yapılan çalışmalar da kullanılarak ganglion spiralede bulunan bipolar sinir hüresel yapı özellikleri belirlendi (Ishiyama ve ark. 2001). Sistematik olarak yapılan örneklemede (ssf:1/20) her 20 kesitten bir tanesi alındı ve bu şekilde her hayvandan ortalama 14-16 temporal kemik kesiti elde edildi. Spiral gangliondaki toplam bipolar hücre sayıları ve analizleri bilgisayar destekli stereolojik görüntü analiz cihazında optik parçalama metodu kullanılarak hesaplandı. Hücre sayım alanlarının belirlenmesi ve sınırlarının çizilmesi Stereoinvestigator stereolojik analiz yazılımı (Macrobrightfield, Denmark) kullanılarak yapıldı. Randomize olarak seçilen Spiral ganglion kesitinde x-y basamaklarında 100X100µm adımlarla örnekleme yapıldı ve bu seçilen alanlar 100x'lük objektifde optik disektör probuda kullanılarak analiz edildi. Optik disektör sayımında tarafsız olarak ayarlanmış olan %20'lik sayım çerçevesi kullanıldı. Böylece, örnekleme yapılan alanının fraksiyonu (asf) 90/10.000µm² olarak hesaplandı. Tüm bu işlemler literatürde kullanılan değerler alınarak hesaplandı (Ishiyama ve ark. 2001, 2011; Tang ve ark 2012).

Önce her bir yenidoğana ait temporal kemikler diseksiyonla çıkartıldı. Rutin dekalsifikasyon işlemi yapıldı ve sonra temporal kemikler celloiden'e gömülme işleminden sonra histolojik kesitler alındı ve hematoksilin-eosin ile boyandı. Boyama işlemi rutin histokimyasal süreçler ile tamamlandı. İlgilendiğimiz kesitlerde ganglion spiraleye denk gelen yerler stereolojik yazılım sayesinde işaretlendi (Şekil 6).

Yapılacak olan sayımda çalışılan yapının kesitlerde ortaya çıkan izdüşüm sınırlarının iyi belirlenmesi, sayımın doğruluğu açısından kritik öneme sahiptir. Bunun için kesit alma doğrultusu Ishiyama (2001) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada belirtildiği gibi aksial olarak düzenlendi. Belirlediğimiz sistematik tekdüze rastgele örnekleme aralığımızı uygun olarak elde edeceğimiz kesitler arasında bir seri örnek kesit edeceğimizi belirtmiştik. Bunun için parçalama oranımız 1/20. Bu şekilde elde ettiğimiz kesitler üzerinde optik disektör kurallarına göre sayımlar yapıldı. Bunun için yazılım bize çok geniş imkanlar sundu.

Ön çalışmamızda aldığımız kalın kesitler üzerinde (20 mikrometre) ilgilendiğimiz alının sınırları belirlendikten sonra hangi adım aralıklarla ilerlememiz gerektiği ve bu adımlardan kaçta kaçını sayım yapmak üzere örnekleyeceğimizi belirledik (Şekil 7). Optik disektör metodunda kalın kesit içerisinde yazılımın derinlik özelliği sayesinde derinlik ayarlarını (z eksenini) ayarladık. Yani kesit içerisinde bir

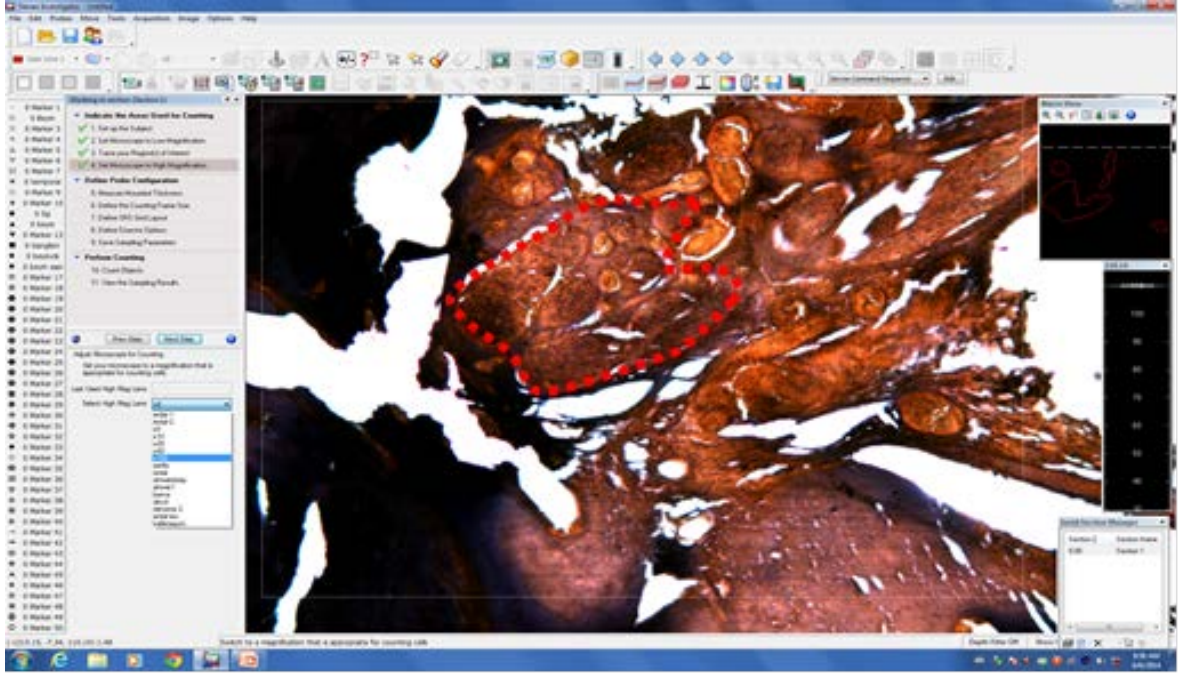
sondaj yaparak derinliğine bir üç boyutluluk oluşturularak nöron sayımı yaptık. Bu işlem yapılırken bir takım kurallara dikkat etmek gerekir. Bu kurallardan en önemlisi kesitin üst ve alt yüzlerinin bir kısmının dışarı çıkarılacağı bir güvenlik kuşağı oluşturmaktır. Bu aralık Yazılım sayesinde gerektiği kadar uzatılabiliriz. basitçe kesit içersine optik olarak belirli bir miktar girene kadar karşılaşılan ve kesitin karşı yüzeyine belirli bir mesafede yakında olan nöronlar sayılmayarak gerçekleştirilir. Bu alt ve üst güvenlik aralıkları çıkarıldığında geriye kesitin ortasında sayım yapılan bir hacim kalır. Bu bölgenin kesit kalınlığına oranı bize örnekleme kalınlık örnekleme payını verir (Canan ve ark. 2002; Baş ve Ark. 2009).

Yapılacak nöron sayımlarında kesit kalınlığına optik olarak ilerleyerek bu seyir esnasında karşımıza çıkacak olan nöronların sayımı söz konusu olduğundan bu nöronların hangileri sayılacak ve hangileri sayılmayacak sorunu karşımıza çıkar. Dolayısıyla sayımlarımıza dahil edeceğimiz nöronların çekirdekleri odaklama anında ilk göründükleri andan tarafsız sayım çerçevesi içerisinde düşen hücreleri belirledik (Şekil 9). Sayım çerçevesinin boyutları, adımlama ve derinlik ile ilgili bilgiler yazılıma girilen veriler tarafından kolayca adapte edilecektir (Tablo 2).

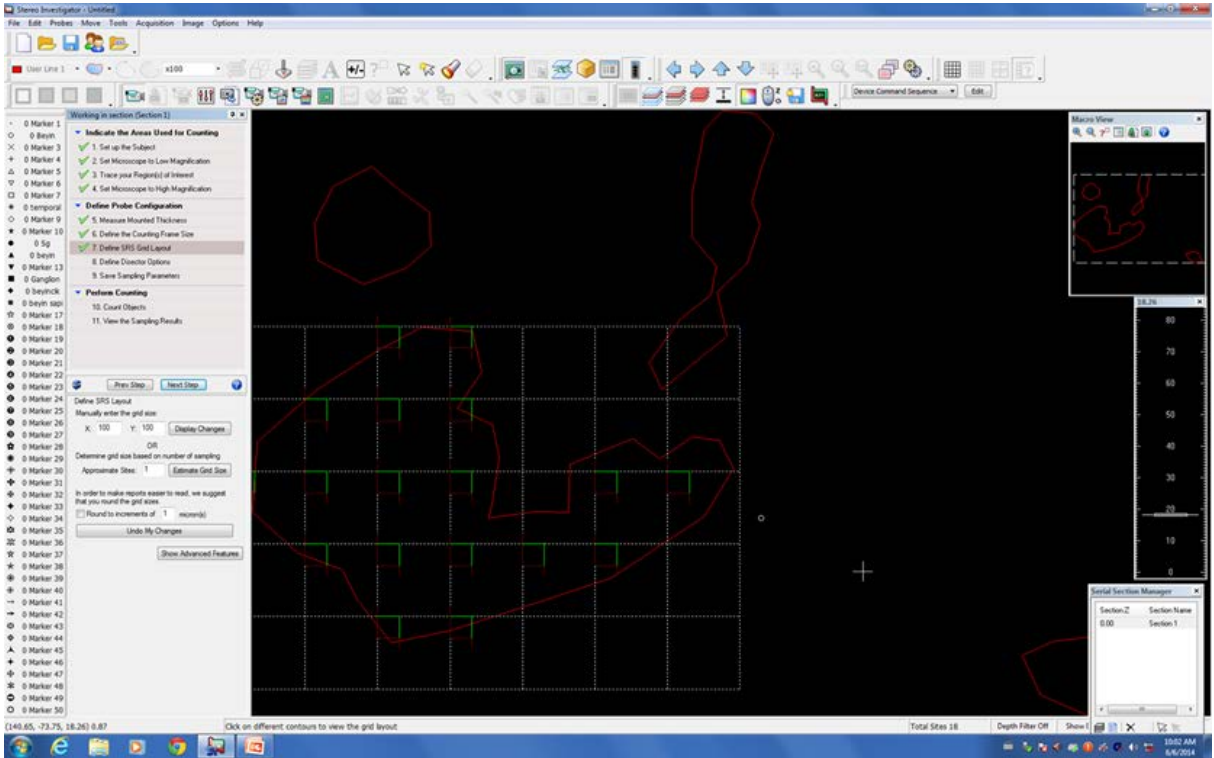
Optik parçalama metodunun son basamağında ise örnekleme yapılan yerin kesit kalınlığı belirlenmektedir. Kesitin üst kısmında 2µm üst güvenlik zonu bırakıldıktan sonra 15µm'lik disektör yüksekliği ayarlanan bölgede sayım yapılmaktadır. Bütün bu tip ölçümler stereoloji sistemine uyumu sağlanmış dijital bir mikrokator ile yapıldı. Bundan dolayı, en son örnekleme basamağı genellikle kalınlık örnekleme fraksiyonu olarak (tsf) olarak adlandırılır ve [Disektör yüksekliği]/[ortalama kesit kalınlığı] ile hesaplanır. Toplam kesitlerin ortalama kalınlığı 23.75±2.06µm olarak hesaplandı. Bütün kesitlerdeki örnekleme tamamlandıktan sonra örneklenen ganglion hücreleri disektör partikülleri (Q-) olarak hesaplandı. Toplam nöron sayısı (N) olarak kabul edilerek aşağıdaki formül ile hesaplandı;

$$\text{Toplam Nöron sayısı } (N) = \frac{1}{ssf} \times \frac{1}{asf} \times \frac{1}{tsf} \times \sum Q$$

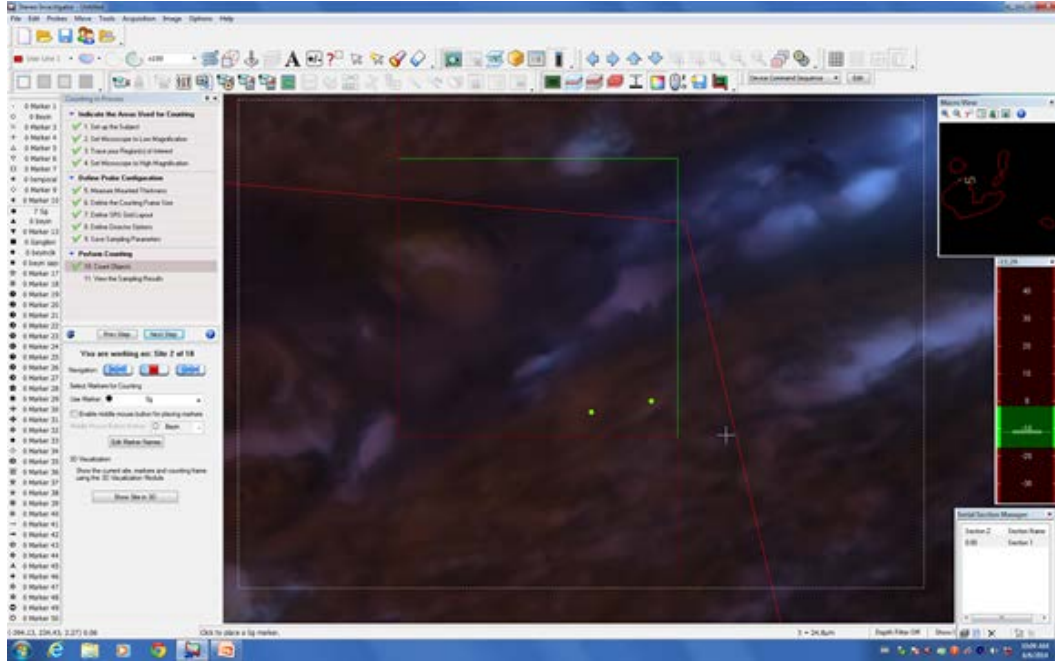
$$N = \frac{1}{1/20} \times \frac{1}{0.09} \times \frac{1}{0.63} \times 36 = 41.01266$$



Şekil 6. Ganglion spirale etrafının stereoinvestigator de işaretlenmesi.



Şekil 7. Ganglion üzerine tarafsız sayım çerçevesi atılması.



Şekil 9. Tarafsız alan içerisinde denk gelen nöronların sayılması.

Tablo 2. Noron sayısı ile ilgili elde edilen basamaklar ve değişkenleri.

Region	User Line 1	Sayılan nöron sayısı	Kesit kalınlığı (Ssf)	(30x30)/100x100 (asf)	h/t 15/23.7 (tsf)	Toplam nöron sayısı
Sampling Parameter Set	[Undefined Set 2]	36	40	0.09	0,632911	41,01266
Number Of Sampling Sites	68					
Counting Frame Area (XY) (μm^2)	900,0					
Disector Height (Z) (μm)	15,0					
Disector Volume (XYZ) (μm^3)	13500,0					
Guard Zone Distance (μm)	2,0					
Shape Factor	7,36					
Counting Frame Width (X) (μm)	30,0					
Counting Frame Height (Y) (μm)	30,0					
Sampling Grid (X) (μm)	100,0					
Sampling Grid (Y) (μm)	100,0					
Sampling Grid Area (XY) (μm^2)	10000,0					
User Defined Section Thickness (μm) [1]	0,0					
Mean Measured Section Thickness (μm)	23,7					
Mean Measured Section	23,6					

Thickness with Counts(μm)						
Number Weighted Mean Section Thickness (μm)	23,1					
Section Evaluation Interval	20					

BULGULAR

Her iki uzman tarafından elde edilen cavitas tympaninin ortalama hacmi $0.28\pm 0.04 \text{ cm}^3$, $0.26\pm 0.03 \text{ cm}^3$ olarak bulunmuştur. Kohlea hacmi ise $0.0351\pm 0.009 \text{ cm}^3$ ve $0.0285\pm 0.003 \text{ cm}^3$ olarak bulunmuştur. Tablo 3, 4 ve 5 de elde edilen hacim değerleri sağ ve sol olarak, korelasyon ve benzerlik testleri yapılmış ve verilmiştir.

DBK indeksinin 1 değerine yakın bulunması geliştirilen yazılımla bağımsız olarak yapılan CT hacim ölçümlerinin örtüşüğünü ve güvenilirliği yüksek sonuçlar verdiğini göstermektedir. Ganglion cochlearede bulunan nöroanların sayısını tahmin etmek için optik disektör tekniği kullandık. Bunun için sayım alanları örneklendi ve tahminleme yapıldı. Yenidoğanlarda iç kulakta bulunan ganglion spirale de bulunan toplam nöron sayısı örneklemlerdeki toplamların tersi ile çarpılarak elde edildi. Buna göre ortalama nöron sayısı 38.715 ± 1200 olarak tespit edildi ve Cv değeri ise 0.19 olarak bulundu.

Miura ve ark. toplam ganglionda bulunan hücreleri 33.702 olarak bulmuşlardır. Ishiyama ve ark (2001) ise ganglion spiralede bulunan hücre sayısını 41.700 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir. Başka bir çalışmada vestibular ganglionda bulunan hücreleri stereolojik olarak tahmin etmişler ve gençlerde 28,952 olan hücrelerin 30 ve 60 yaşlarında 23,349 kadar azaldığını tespit etmişlerdir (Park ve ark. 2001).

Sonuç:

Cochlea hacmi koklear implantlarda, cavitas tympani hacmide orta kulak ile ilgili patolojilerde ve bu bölgeye yapılan cerrahi uygulamalarda önemlidir. Dolayısıyla çalışmamız sonucu bu bölgelerin hacimlerinin kolayca hesaplanabileceği görülmektedir. Aynı zamanda CT kesitleri sonucu elde edilen hacim değerleri ile histolojik kesitlerden elde edilen hacim değerleri oldukça bir birlerine yakın bulunmuştur. Bunun yanısıra spiral ganglionda bulunan nöroanlarda yenidoğan kadavralarında ilk kez tahmin edilmiş ve literatürde yetişkinlerden elde edilen değerler ile karşılaştırılmıştır.

Konu ile ilgili 2 poster, 1 sözlü sunum ve şu an bir yayın hazırlanmış ve Anat rec isimli etki değeri yüksek olan bir dergiye gönderilmiştir. Daha sonra nöron sayımı yaptığımız bulgularda ilerde başka bir dergiye gönderilecektir.

Tablo 3. sağ ve sol tarafa ait elde edilen cavitas typmani hacimlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması (paired t test).

Çift	ortalama	Std.hata Mean	Std.dev	%95 güven aralığı		p
				Alt	Üst	
V1(right)-V1(left)	-2.800	33.12	74.07	-94.77	89.17	0.937
V2(right)-V2(left)	-5.80	21.99	49.18	-66.86	55.26	0.805
V3(right)-V3(left)	10.00	12.11	27.09	-23.63	43.66	0.456

Table 4. Benzerlik testleri (dice, jaccard, sensivite, spesifite ve pozitif ve negatif tahmin değerleri).

	<i>Dice</i>	<i>Jaccard</i>	<i>Sensivity</i>	<i>Specifity</i>	<i>fpr</i>	<i>fnr</i>
Art.Ort	0.801	0.73	0.81	0.82	0.17	0.18
S. S	0.043	0.160	0.029	0.04	0.041	0.02
Min-Max	0.74-0.85	0.58-0.99	0.77-0.85	0.79-0.87	0.13-0.21	0.15-0.23

Table 5. ICC, CCC ve PCC değerleri.

Statistics	V1-V2	V1-V3	V2-V3	All
ICC	0.957(0.915-0.978)	0.905(0.820-0.950)	0.929(0.860-0.963)	0.953(0.921-0.974)
CCC	0.916(0.851-0.954)	0.822(0.689-0.902)	0.865(0.763-0.924)	-
PCC	0.929(0.870-0.962)	0.823(0.688-0.903)	0.883(0.788-0.937)	-

ICC: Intra-class correlation coefficient, CCC: Concordance correlation coefficient, PCC: Pearson's correlation coefficient

Kaynaklar

Arıncı K, Elhan A. *Anatomi Cilt II. Güneş Kitabevi, Ankara. 2005, pp 370-385*

Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. *Gray's Anatomy. Churchill Livingstone, London. 1989, pp 347-375*

Ödar İV. *Anatomi Ders Kitabı. İstanbul, 1978, ss 290-295*

Gundersen HJ (). Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimator and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J. Microsc* 1986; 143: 3-45.

Ishiyama G, Geiger C, Lopez IA, Ishiyama A. Spiral and vestibular ganglion estimates in archival temporal bones obtained by design based stereology and Abercrombie methods. *J Neurosci Methods*. 2011 Mar 15;196(1):76-80.

Tang Y, Lopez I, Ishiyama A. Application of unbiased stereology on archival human temporal bone. *Laryngoscope*. 2002 Mar;112(3):526-33.

Ishiyama A, Agha J, Lopez I, Tang Y. Unbiased stereological quantification of neurons in the human spiral ganglion. *Neurosci Lett*. 2001 May 18;304(1-2):93-6.

Bibas A, Hornigold R, Liang J, Michaels L, Anagnostopoulou S, Wright A. The development of the spiral ganglion in the human foetus. *Folia Morphol (Warsz)*. 2006 May;65(2):140-4.

Miura M, Sando I, Hirsch BE, Orita Y. Analysis of spiral ganglion cell populations in children with normal and pathological ears. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2002 Dec;111(12 Pt 1):1059-65

Park JJ, Tang Y, Lopez I, Ishiyama A. Age-related change in the number of neurons in the human vestibular ganglion. *J Comp Neurol*. 2001 Mar 19;431(4):437-43.

Kürkçüoğlu A, Kürkçüoğlu SS, Inançlı HM, Enöz M, Pelin C, Zagyapan R. Measurement of tympanic cavity volume by the Cavalieri principle in Turkish population. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 20(3):137-41, (2010).

Howard, C.V., Reed, M.G., *Unbiased Stereology. Three-Dimensional Measurement in Microscopy*. Bios, Oxford, pp. 39–54. (1998)

Ishiyama G, Geiger C, Lopez IA, Ishiyama A. Spiral and vestibular ganglion estimates in archival temporal bones obtained by design based stereology and Abercrombie methods. *J Neurosci Methods*. (2011)

García-Fiñana M, Keller SS, Roberts N. Confidence intervals for the volume of brain structures in Cavalieri sampling with local errors. *J Neurosci Methods*. 30;179(1):71-7. (2009).

Schmitz C, Rhodes ME, Bludau M, Kaplan S, Ong P, Ueffing I, Vehoff J, Korr H, Frye CA. Depression: reduced number of granule cells in the hippocampus of female, but not male, rats due to prenatal restraint stress. *Mol Psychiatry*. 2002;7(7):810-3.

Canan S, şahin B, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S. Parçacıkların toplam sayısının hesaplanması için bir metot: Parçalama. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 22: 7–14. (2002).

Bas O, Odaci E, Kaplan S, Acer N, Uçok K, Colakoglu S. 900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cells in the adult female rat. *Brain Res*. 2009 Apr 10;1265:178-85