T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Abdullah TAŞ

CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE ASKORBİK ASİDİN KORUYUCU ETKİSİNİN KOBAYLARDA ELEKTROFİZYOLOJİK TESTLER VE ULTRASTRÜKTÜREL ÇALIŞMA İLE ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Safiye GİRAN

EDİRNE-2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük destek, ilgi ve yardımını gördüğüm çok değerli hocam Prof. Dr. Ahmet R. KARASALİHOĞLU'na; asistanlığım süresince her aşamada destek, ilgi ve yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Muhsin KOTEN, Prof. Dr. Mustafa K. ADALI, Prof. Dr. Cem UZUN, Doç. Dr. Recep YAĞIZ, Doç. Dr. Abdullah TAŞ'a; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan çalışma arkadaşlarıma; katkılarından dolayı Doç. Dr. Gülara HÜSEYİNOVA, Uzm. Dr. Turgay TOPÇUOĞLU, Erdoğan BULUT ve Tolga MERCANTEPE'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **KULAK ANATOMİSİ** 3
- **GUINEA PIG'LERİN TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ** 11
- **İŞİTME FİZYOLOJİSİ** 12
- **OTOTOKSİSİTE** 15
- **REAKTİF OKSİJEN RADİKALLERİ** 22
- **OTOAKUSTİK EMİSYONLAR** 25
- **İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI** 29

GEREÇ VE YÖNTEMLER 31

BULGULAR 39

TARTIŞMA 56

SONUÇLAR 63

ÖZET 65

SUMMARY 67

KAYNAKLAR 69

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ABR **:** "Auditory Brainstem Response", İşitsel Beyinsapı Yanıtları

dB **:** Desibel

DPOAE **:** "Distortion Product Otoacoustic Emission", Distortion Product Otoakustik Emisyon

DTH **:** Dış tüylü hücre

İP **:** İntraperitoneal

İTH **:** İç tüylü hücre

OAE **:** Otoakustik Emisyon

S/N **:** "Signal/Noise", Sinyal/Gürültü

TEOAE **:** "Transient Evoked Otoacoustic Emission", Transient Evoked Otoakustik Emisyon

GİRİŞ VE AMAÇ

Ototoksisite, bir ilacın ya da kimyasal ajanın işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak disfonksiyonuna neden olabilme potansiyeline verilen genel bir isimdir (1). İlaçlara bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir (2). Bazı hastalar ototoksisite için daha yüksek risk taşır. Ototoksik etkinin en belirgin olarak ortaya çıktığı hasta grupları; böbrek ya da karaciğer yetmezliği olan olgular, bağışıklık sistemi baskılanmış olgular, yaşlı olgular, daha önce ototoksisite ortaya çıkan olgular, birden fazla ototoksik ilacın bir arada kullanıldığı hastalar, daha önceden sensorinöral işitme kaybı olan olgular, koklear implantlı çocuklar, kollajen damar hastalığı olan olgular olarak sıralanabilir (2,3). Ototoksisiteye neden olduğu bilinen ilaçlar; antibiyotikler, diüretikler, antimalaryal ilaçlar, antineoplastik ajanlar, antienflamatuvarlar, ototopik ilaçlardır (4). Bu tip ilaçların kullanıldığı hallerde ilacın etkilerinin monitorize edilmesi yolu ile hastada meydana gelebilecek toksik etkiler çok erken dönemde tespit edilebilir (3). Günümüzde ototoksisite monitorizasyonu amacıyla konvansiyonel odyometri, yüksek frekans odyometri, elektrokokleografi, Transient Evoked Otoakustik Emisyon (TEOAE), Distortion Product Otoakustik Emisyon (DPOAE), işitsel beyin sapı yanıtları (ABR) kullanılmaktadır (4).

Cisplatin olarak bilinen Cis-amminodikloroplatinum II, ovaryum, testis, mesane, akciğer, baş ve boyun kanserleri gibi değişik malign tümörlerde tedavi amaçlı kullanılan güçlü bir antineoplastik ajandır. Yan etkileri bulantı, kusma, nörotoksisite, nefrotoksisite, ve ototoksisiteyi kapsar (5). Cisplatin ototoksisitesi klinikte, tinnitus, baş dönmesi ve işitme

kaybı olarak karşımıza çıkar. Bu işitme kaybı, kalıcı, ilerleyici, başlangıçta yüksek frekansları kapsarken zamanla düşük frekanslara doğru ilerleyen sensörinöral tip işitme kaybıdır (5). Cisplatin ototoksisitesinin düzeyindeki farklılıkları, ilacın alım biçimi, kümülatif dozu, diğer ototoksik ilaçlarla birlikte kullanımı, tümörün yeri, hastanın yaşı, renal fonksiyonları, daha önceden mevcut olan sensörinöral işitme kaybı varlığı gibi pek çok faktör etkilemektedir. (6)

İç kulak tripeptid glutatyon ve onunla ilişkili glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimler içeren bir korunma sistemine sahiptir (1). Cisplatin, kokleada antioksidan enzim aktivitesini azaltarak, reaktif oksijen türleri olan süperoksit, hidrojen peroksit ve toksik lipid peroksit enzimlerinin artmasına neden olmaktadır (7).

Cisplatin ototoksisitesinin birincil hedef hücreleri kokleanın bazal kıvrımındakiler daha belirgin olmak üzere dış tüylü hücrelerdir (DTH). Bunun nedeni glutatyon depolarının bu hücrelerde, iç tüylü hücreler (İTH) ve daha apikal kıvrımlardaki DTH'lerdekine oranla daha düşük olması sonucu olabilir (1).

Askorbik asit (C vitamini), ekstrasellüler sıvıda bulunan en önemli antioksidan maddedir. Hücre içinde de antioksidan etkinlik gösterir. Süperoksit anyonunu, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikalleri ve singlet oksijeni güçlü bir şekilde bağlayarak inaktive eder. Peroksil radikali oluşmasını indükleyen maddelerin yaptığı lipid peroksidasyonunu inhibe eden en önemli plazma komponentinin askorbik asit olduğu gösterilmiştir (8).

Bu çalışmada, deneysel olarak cisplatin ototoksisitesi oluşturulan kobaylarda (Guinea pig) antioksidan etkili askorbik asit'in olası koruyuculuğunun, elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel düzeyde araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

KULAK ANATOMİSİ

İşitme ve dengenin periferik organı olan kulak, önemli kısmı temporal kemik içine yerleşmiş, görevleri ve yapıları birbirinden farklı üç kısımdan oluşur: a- Dış kulak, b- Orta kulak, c- İç kulak (9).

Dış Kulak (*Auris Externa*)

Kulak kepçesi (*Auricula*) ve dış kulak yolu (*Meatus acusticus externus*) olmak üzere iki kısımdan oluşur (10).

Kulak kepçesi; deri ve perikondrium ile örtülü ince elastik bir kıkırdaktan meydana gelmiştir.

Dış kulak yolu; konkadan kulak zarına kadar olan uzunluğu içine alır (9). Hafif "S" şeklinde oblik yerleşim gösteren dış kulak yolunun arka-üst duvar uzunluğu yaklaşık 25 mm iken, ön-alt duvar yaklaşık 31 mm'dir (9,11). Dış kulak yolunun 1/3 dış kısmını, arka üst kısmı açık bir boru şeklindeki fibroelastik bir yapı (kıkırdak) oluşturur; 2/3 iç kısmı ise kemiksel yapıdadır. Dış kulak yolu kıkırdak kısmını örten deride ter, yağ ve serumen bezleri vardır. Kemik kısmı örten deri ise oldukça ince olup hemen periostun üzerini örter; kıl, yağ ve serumen bezleri içermez (9,11).

Orta Kulak (*Auris Media*)

Kulak zarı ile kemik labirent arasında bulunan ve müköz membranla örtülü bir alandır.

Vertikal ve anteroposterior çapları 15 mm, mediolateral derinliği üstte 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm'ye iner (11).

Orta kulak boşluğu, önde *tuba auditiva* (Eustachi Borusu) ile nazofarenkse açılmakta, arkada *aditus ad antrum* yolu ile mastoid antrum ve hücreleriyle devam etmektedir (10). Orta kulak boşluğu topografik olarak kulak zarına göre üç kısma ayrılır. Mezotimpanum kulak zarı düzeyine rastlayan, epitimpanum kulak zarının üstünde kalan ve hipotimpanum ise kulak zarının altında kalan orta kulak boşluğu bölümüdür (9).

Orta kulak boşluğunun 6 duvarı vardır:

1. Üst duvar (*Tegmen tympani*): Bu duvar epitimpanumun tavanını oluşturur. Orta kulak boşluğunu orta kranial fossadan ayırır (9-13).

2. Alt duvar: Hipotimpanumun döşemesini oluşturur. Bulbus vena juguli ve a. carotis interna ile komşudur (9-13).

3- Ön duvar: Ön duvarın en alt bölümü *canalis caroticus*'un dikine parçası ile komşuluk gösterir. Üstte tensör timpani kasını içinde barındıran yarım kemik kanal ve hemen altında ise Eustachi borusunun timpanik orifisi bulunur (9-13).

4- Arka duvar: Orta kulak ile mastoid arasındaki duvardır. Üst parçasını *aditus ad antrum* yapar. *Eminentia pyramidalis* burada yer alır. *Eminentia pyramidalis* içinde m. stapedius bulunur. Bu fasyal sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösterir. *Eminentia pyramidalis* lateralinden *chorda tympani* orta kulak boşluğuna girer. *Eminentia pyramidalis* ile *chorda tympani* arasında *recessus facialis* vardır. *Eminentia pyramidalis* medialinde sinüs timpani bulunur (9-13).

5- Dış duvar: Bu duvarı kulak zarı ile skutum yapar. Skutum epitimpanumda insusura timpanikusu üstten kapatan skuamöz kemiğin uzantısıdır. Kulak zarı timpanik kemiğin sulkus timpanikusu içine Gerlach halkası adı verilen fibröz anulus ile tespit edilmiştir (9,11,12,14). Anulus üstte tam değildir. Anterior ve posterior malleolar ligamentlerle devam eder. Kulak zarının bu ligamentler üzerinde kalan gevşek kısmına *pars flaccida* (Shrapnell zarı), alttaki gergin kısmada *pars tensa* adı verilir. Kulak zarı oval, yarı geçirgen ve sedef renklidir. Vertikal uzunluğu 9-10 mm, horizontal uzunluğu 8-9 mm, kalınlığı 0,1 mm'dir (10,14-17).

Kulak zarının *pars tensa* parçasında ortada yukardan aşağı doğru uzanan malleusun kulak zarı içerisinde yer alan parçası olan *manubrium mallei* bulunur. *Manubrium mallei*'nin bitimindeki nokta şeklindeki görüntüye umbo denir (10-12). Umbodan başlayarak öne ve aşağıya doğru kulak zarının kenarına kadar ilerleyen üçgen görünüşündeki aydınlık alana Politzer ışık üçgeni adı verilir (13). Kulak zarının *pars tensa* bölümü üç tabakadan yapılmıştır. Dışta dış kulak yolu derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve bunların arasında fibröz tabaka vardır (9-12). Kulak zarının *pars flaccida* bölümünde fibröz tabaka yoktur (10).

6- İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayırır. Epitimpanum kısmında horizontal, anterior ve posterior vertikal semisirküler kanallar ile fasyal sinirin geçtiği Fallop kanalı vardır. Mezotimpanumdaki iç duvarda ise fasyal sinirin hemen altından başlayan ve kokleanın birinci turuna rastlayan promontoryum ve labirent pencereleri bulunur. Promontoryumun arka-üst tarafındaki çukurluk, oval pencere (*fossula fenestra vestibüli*) adını alır ve stapes tabanının yerleştiği yerdir. Promontoryumun arka alt tarafında yuvarlak pencere (*fossula fenestra cochlea*) bulunur ve *membrana secundaria* denilen fibröz bir doku ile kaplıdır (9-13). Timpanik kaviteye uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına ana geçiş yeri olan yuvarlak pencere yaklaşık 1.5 mm genişliğinde ve 2-3 mm uzunluğundadır (18). Yuvarlak pencere nişinin şekli, orta kulaktaki değişik maddelerin ve orta kulak efüzyonlarının bu bölgede birikmesine neden olur (19). Böylece orta kulak sıvılarının iç kulağa difüzyonlarının artmasına neden olabilir. Yuvarlak pencere membranı ayrıca ses iletiminde de rol alır. Promontoryumun orta kısmının yüzeyinde damar ve sinirden oluşmuş bir ağ (*plexus tympanicus*) bulunur (9-13).

Orta kulak boşluğunda malleus, inkus ve stapes olmak üzere üç tane hareketli kemikçik yer almaktadır (10-12,15). Kemikçikler manubrium mallei aracılığıyla kulak zarına ve anuler ligament ile oval pencereye bağlanmışlardır. Kemikçikler arasında inkudo-malleolar ve inkudo-stapedial olmak üzere iki eklem vardır. Ayrıca kemikçikleri orta kulak duvarına bağlayan iki kas ve dört ligament bulunur. Dört ligamentin üçü malleusa, biri inkusa aittir. Kemikçiklere yapışan kaslar *m. tensor tympani* ve *m. stapedius*'dur (9,12,16).

İç Kulak (*Auris İnterna*)

İç kulak, işitme ve denge ile ilgili reseptörlerin bulunduğu kısımdır ve temporal kemiğin petröz bölümüne yerleşmiştir (9-11). Yuvarlak ve oval pencereler yolu ile orta

kulakla, koklear ve vestibüler aquaduktus yolu ile kafa içine bağlantılıdır (9,10). İç kulak kemik (periotik) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki kısımdan oluşur (10-13).

Kemik labirent: Otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik dokusu tarafından oluşturulur. Zar labirent bunun içinde yer almaktadır. Aralarında perilenf denen sıvı bulunur (20). Kemik labirenti oluşturan yapılar; vestibulum, kemik semisirküler kanallar, koklea, aquaduktus vestibuli, aquaduktus koklea'dır.

1- Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid bir kavitedir. Dış yan duvarı yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla timpanik kaviteye; ön duvar kokleaya komşudur.
Üst ve arka duvarda semisirküler kanallarla birleşir. İç yan duvarda ise ön altta sakkulusun yerleştiği sferik reses, arka üstte ise utrikulusun yerleştiği eliptik reses bulunur (20,21).

2- Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior, lateral olmak üzere üç semisirküler kanal uzayın üç düzlemine yerleşmiştir. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadar olan bu kanallar vestibuluma açılır (11,20,21).

3- Koklea: İç kulağın ön kısmında bulunan ve şekli salyangoza benzeyen kemik bir tüptür. Modiolus, *canalis spiralis cochlea* ve *lamina spiralis ossea*'dan oluşur.
Modiolus, kokleanın eksenini oluşturur. Modiolus içindeki ince kanallardan koklear damarlar, sekizinci kranial sinirin lifleri geçer. Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral bir şekilde olmasından dolayı modiolusun spiral kanalı adı da verilen Rosenthal kanalına açılırlar (Şekil 1) (22). Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen Corti ganglionu bulunur.

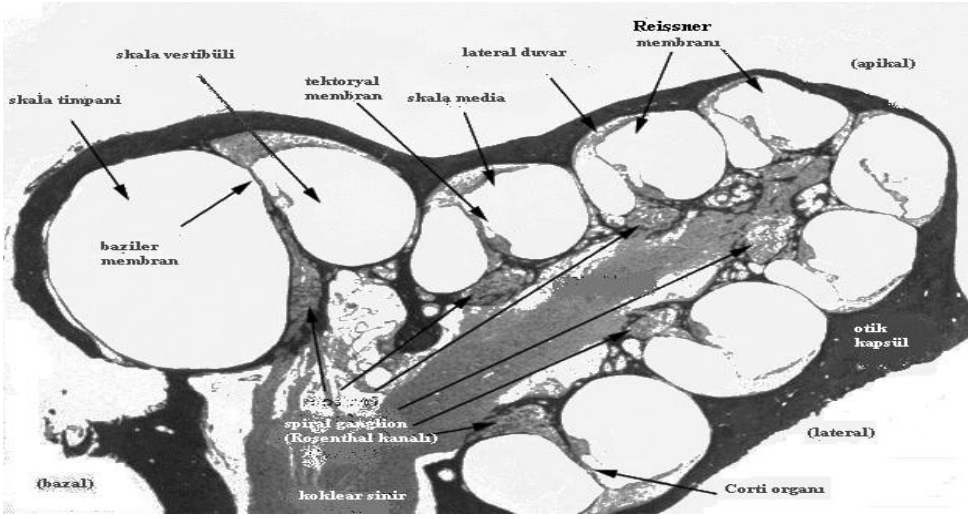
Canalis spiralis cochlea, modiolusun çevresini iki buçuk defa spiral olarak dolanan kemik bir yoldur. Bu yol, vestibulun ön alt kısmından başlar ve zirve veya kupula adı verilen kapalı bir uçla sonlanır.

Lamina spiralis ossea, modiolustan uzanan kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak *canalis spiralis cochlea'*yı ikiye böler. Vestibuluma açılan üst parçaya skala vestibuli, fenestra koklea aracılığıyla kavum timpaniye açılan alt parçaya skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema denilen delikle birleşir.

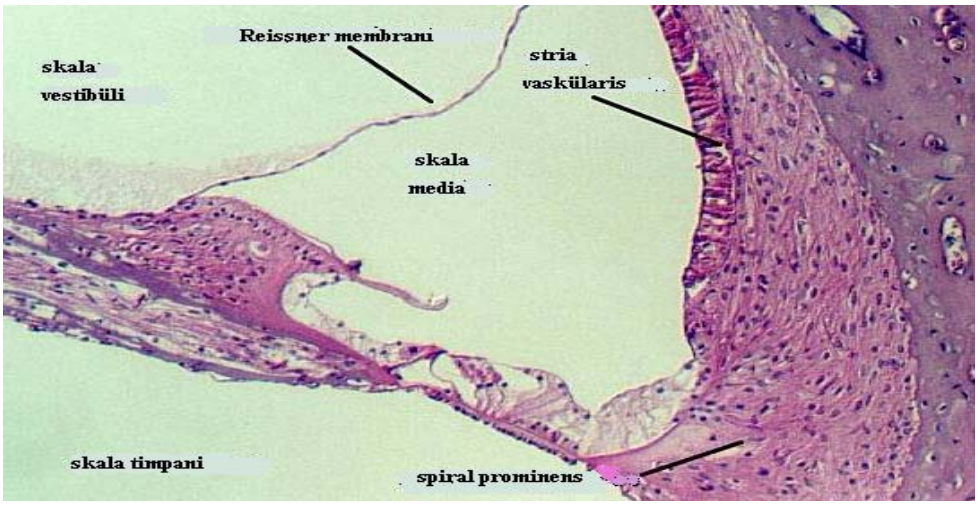
Lamina osseanın serbest kenarı ile *canalis spiralis cochlea*'nın dış yan duvarı arasındaki baziler membranın üzerinde, Corti organı (Şekil 2) adı verilen işitme organı bulunur (20,22).

4- Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlayıp petröz kemiğin fossa subarkuata denilen çukurunda sonlanır. Bu kanalın içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus vardır (20,21,23).

5- Aquaduktus koklea: Skala timpaniden başlayıp petröz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. Periotik doku ile doludur ve gerçek bir kanal niteliği taşımaz (9).



Şekil 1. Kokleanın radyal kesiti (bazal→apeks) (22)



Şekil 2. Koklear skalalar ve Corti organı (22)

Zar labirent: Zar labirenti oluşturan bölümler; utrikulus, sakkulus, duktus semisirkülaris, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis'dir.

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

2- Sakkulus**:** Sakkul de oval biçimlidir fakat utrikulustan küçüktür. Yapı bakımından utrikulusun aynısı olmasına rağmen, makulası utrikulustaki gibi yatay değil, düşey konumda yerleşmiştir. Makulalar yer çekimi ve lineer hareketlerden etkilenirler (9).

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

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

5- Duktus perilenfatikus: Aquaduktus koklea içerisinde bulunur ve skala timpani ile subaraknoidal boşluğu birleştirir. İçinde perilenf bulunur (20,21).

6- Duktus koklearis: Membranöz labirentin bu parçası kemik kokleanın spiral kanalını tüm uzunluğunca takip eder (11). Üçgen şeklindeki koklear duktus üç bölgeye ayrılabilir.

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

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

Spiral ligaman; Koklear duktusun lateral duvarının en büyük kısmını oluşturur. Gevşek bağ dokusu ve iyon transportunda görevli enzimleri içeren hücrelerden oluşur. Lateral

sınırını otik kapsülün iç yüzü, medial sınırını ise stria vaskülaris ve spiral prominens oluşturur. Spiral ligaman skala vestibüli ve skala timpani içlerine kadar uzanarak bu iki perilenfatik kanal arasındaki ilişkinin lateral yolunu oluşturur. Spiral ligaman matriksi fibroblast benzeri hücreler ve çok sayıda ekstraselüler filaman içerir. Spiral ligamanda tip I fibroblast benzeri hücreler baskındır. Bununla birlikte diğer 4 tip fibroblast benzeri hücre (II,III,IV,V) ve dış sulkus hücreleri spiral prominens yakınlarında bulunabilir.

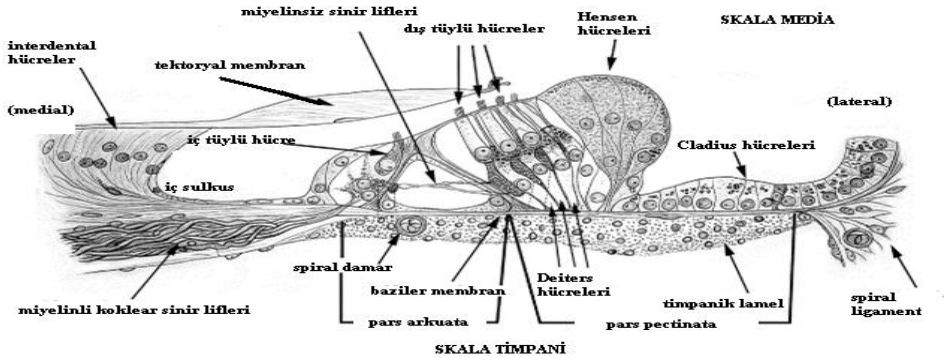
Stria vaskülaris; Reissner membranının yapışma yerinden spiral prominense kadar uzanır. Stria vaskülaris bazal membranı olmayan özel bir epiteldir. Temel olarak üç hücre tipi (marjinal, intermediate ve bazal hücreler) içeren stratifiye epitelyum ve intraepitelyal kapillerlerden oluşur. Marjinal hücreler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

Spiral prominens; Stria vaskülaris ve baziler membran arasında uzanan bir doku kenarıdır. Spiral prominensin konnektif doku matriksi omega şeklinde kapillerler ve çok sayıda tip II fibroblast hücreleri içerir. İyon transportunda görev alır.

Dış sulkus; Spiral ligaman ve baziler membranın *Claudius* hücreleri tarafından oluşturulan açık kanala denir (20).

Baziler membran; Kemik spiral laminanın lateral kenarından spiral ligaman içine kadar uzanır. İnsanda ortalama uzunluğu 31.5 mm'dir. Genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru artar. Baziler membranın uzunluğu boyunca, kalınlığı ve genişliğindeki değişiklikler membranın frekans spesifik maksimum vibrasyonlar ve "travelling wave" oluşumundan sorumludur (9,20).

Baziler membranın dış tarafında *Claudius* ve *Boettcher* hücreleri bulunur. Bundan sonra Corti organı başlar (Şekil 3) (9,22).



Şekil 3. Baziler membran bölgeleri ve Corti organı (22)

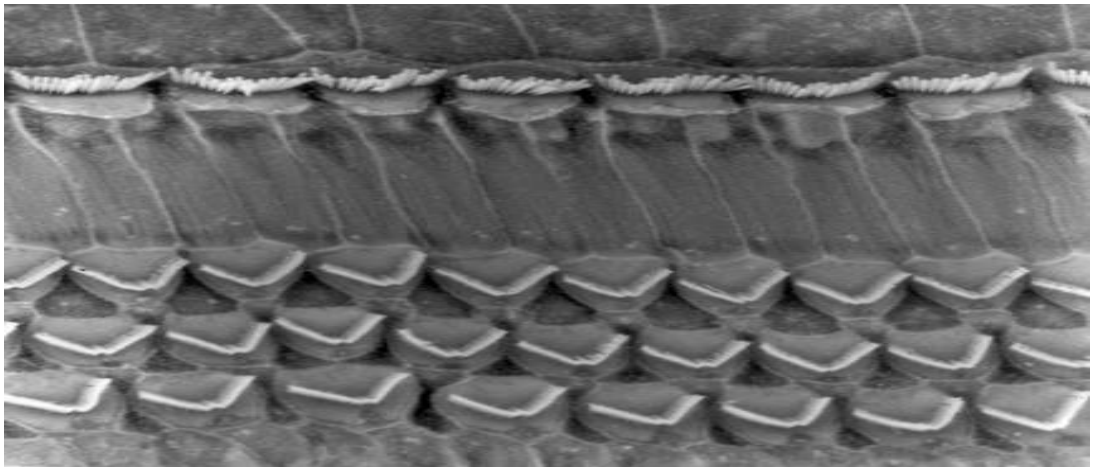
Corti organı: Baziler membranın iç kenarında dizilmiş nöroepiteliyal yapıları içerir. İnsanda koklea içerisindeki toplam uzunluğu yaklaşık 35 mm civarındadır. Genişliği bazalden apekse giderek artar. İç ve DTH'ler olmak üzere 2 farklı duyusal hücre ve destek hücrelerini içerir. DTH'lerin etrafını saran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

Corti organı yapısında destek hücreler olarak; Hensen hücreleri, Deiters hücreleri, sütun hücreleri (pillar hücreler) ile falangeal (parmaksı) hücreler bulunmaktadır (Şekil 3) (20,22).

Corti organı yapısındaki DTH'ler ve İTH'ler mekanik (akustik) enerjinin, elektriksel (nöral) enerjiye transdüksiyonunda majör rol oynar. Her iki hücre morfolojik olarak ve nöral innervasyon yönünden belirgin farklılık gösterir (9,24).

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

İç tüylü hücreler; basık ve silindirik yapıdadır. Genelde tek sıra halinde yerleşirler. Bu hücrelerin tüycükleri düz bir hat veya geniş bir "U" şeklinde dizilirler. Stereosilyalar tektoryal membran ile temas etmez. Her hücrenin tüyleri, apeksleri modiolustan uzakta yerleşmiş, 2 sıralı ve çift "V" şeklinde (Şekil 4) düzenlenmiş 120 stereosilya içerir (20,22).



Şekil 4. İç ve dış tüylü hücre stereosilya diziliminin Scanning Elektron Mikroskop görüntüsü (22)

Afferent sinir liflerinin %90-95'i İTH'ler ile sinaps yapar. Bunlar Tip I nöron olarak adlandırılır. Her bir İTH yaklaşık 15-20 Tip I nöron tarafından innerve edilir. DTH'ler geri kalan %5-10'u tarafından innerve edilir. Bunlara Tip II nöron denir. Her bir Tip II nöron yaklaşık 10 DTH'i innerve eder. Tip I'ler miyelinli liflerdir. Tip II nöronlar ise miyelinsizdirler. İç ve DTH'leri innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmiştir (9,11,20,24).

İç kulak damarları: İç kulağın kan akımını *a. auditiva interna* (labirentin arter) sağlar. *A. auditiva interna* genellikle *a. cerebelli antero-inferior*'dan kaynaklanır. Ancak, direkt olarak baziler arterden hatta vertebral arterden de kaynaklanabilir (10,13,14,17). İç kulağın venöz dönüşü arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yolu ile oluşan labirentik ven ile olur. Lenfatik sistem ise endolenf ve perilenf olarak kabul edilir (21).

İç kulak sıvıları: İç kulak sıvıları perilenf, endolenf ve kortilenf olmak üzere üç çeşittir. Perilenf kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıyı andırır, Na^+'dan zengin (Na^+ 148 mEq/L), K^+'dan fakirdir ((K+4-6 mEq/L). Endolenf yapımında stria vaskülaris rol alır. K^+'dan zengin (K^+ 140-160 mEq/L), Na^+'dan fakirdir (Na^+ 6-10 mEq/L). Kortilenf Corti tüneli ile Nuel boşluklarında bulunur. Beyin Omurilik Sıvısı'ndan kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde seyreden akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin yüksek K^+ içeriği nöral iletiyi engelleyeceği için Corti tünelinin içinden geçen dış tüylü hücrelerin lifleri kimyasal olarak perilenfe benzeyen kortilenf ile sarılmıştır (17).

KOBAY (GUINEA PIG) TEMPORAL KEMİK ANATOMİSİ

Koklea, timpanik bulla içindeki en belirgin yapıdır ve timpanik bulla medial duvarının büyük bölümünü yapar. İç kulak kavitesi geniştir ve iç kulak ince bir duvarla sarılmıştır. Koklea ve her üç semisirküler kanal orta kulak kavitesinde çıkıntı yaparlar ve böylece kolaylıkla tanınabilirler (25). Koklea insanda olduğu gibi skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç tubuler kompartmandan oluşur. Kobay ve insan kulağı morfolojisi bir çok yönden benzerlikler göstermesine rağmen bazı farklılıklar mevcuttur.
Bu farklılıklar şunlardır (25-27):

- Kulak zarı ve timpanik halkanın boyutları temporal kemiğin büyüklüğüne oranla insandakinden daha büyüktür. Kulak zarında *pars flaccida* yoktur.

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

İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Aurikulanın topladığı ses enerjisinin, kulağın çeşitli bölümlerinde değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri halinde beyine gönderilip burada ses halinde algılanması olayına işitme denir (10). İşitme, işitme sistemi (auditory system) adı verilen geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Dış, orta ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır (9). İşitme organı fonksiyonel bakımdan iki kısımda incelenir:

1- İletim aygıtı

2- Persepsiyon (algı) aygıtı

Bunlardan iletim aygıtı; dış kulak ve orta kulak, persepsiyon aygıtı ise iç kulak, işitme siniri ve onun santral bağlantıları ile işitme merkezinden oluşur (10).

Ses dalgasının Corti organına iletilmesi sürecinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici etkileri vardır (11).

İşitme fonksiyonu ses dalgalarının dış kulak yoluna girmesi ile başlar. Dış kulak yolu ses dalgalarını sıkıştırır ve gergin olan kulak zarına iletir. Hava yolu denilen bu sisteme karşılık kafa kemikleri de titreşimleri iç kulağa kadar ulaştırabilmektedir. Buna kemik yolu denilmektedir. Normal bir kulakta hava yolu ile işitme, kemik yolu ile işitmeden ortalama iki kat fazladır (10).

İşitme için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden Corti organına iletilmesi gerekir (iletim-kondüksiyon). Bu mekanik bir olaydır ve sesin bizzat kendi enerjisi ile sağlanır. İkinci olarak Corti organında, ses enerjisi biyokimyasal olaylar ile sinir enerjisi haline dönüştürülür

(dönüşüm-transdüksiyon). Üçüncü olarak iç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriki akım kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur. Bu olaya *neural coding* ya da *relay* adı vrilir. Son olarak da tek tek gelen bu sinir iletimleri işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür (9).

Dış Kulak Yolu Fizyolojisi

Kulak kepçesi, konumu ve biçimi ile çevredeki sesleri toplamaya, yönlendirmeye yarar. Konka ise megafon görevi yapar ve ses dalgalarını dış kulak yolunda yoğunlaştırır. Bu şekilde ses dalgalarının şiddetini 6 dB arttırdığı sanılmaktadır. Ses dalgalarının atmosferde yayılması ile dış kulak yolundaki yayılması karşılaştırıldığında yetişkin bir insanda sesin şiddetinin arttığı ve bu artışın 1000-8000 Hz frekansları arasında olduğu saptanmıştır. Normal yetişkinlerde bu şiddet artışı 3500-4000 Hz frekansındaki en yüksek değerine erişmektedir (9,24,28,29).

Orta Kulak Fizyolojisi

Orta kulak ses enerjisini dış kulak yolundaki hava ortamından kokleadaki sıvıya iletim rolünü üstlenir (24,30). Ses dalgaları ortam değiştirirken hava ve perilenf arasındaki rezistans farkından dolayı yaklaşık 30 dB kayba uğrar. Orta kulağın görevi ortam değiştirmekten meydana gelen bu kaybı karşılamak yani sesin şiddetini 30 dB artırmaktır (9,30). Orta kulak burada transduser gibi rol oynayarak impedans adaptasyonu sağlar ve koklear sıvılara geçen akustik enerji amplifiye olur (28,30).

Orta kulak sesin şiddetini üç mekanizma ile arttırır (9):

1- Kulak zarının yükseltici etkisi (catenary lever)

2- Kemikçik sisteminin yükseltici etkisi (ossicular lever)

3- Kulak zarı ve stapes taban yüzeyleri arasındaki büyüklük farkı (hydrolic lever).

Kulak zarı ses alıcısı ve transformatördür. Kulak zarının titreşim bakımından kemik anulus ve manibrum mallei olmak üzere iki sabit noktası vardır. Kulak zarı kemiğe sıkıca yapıştığı için anulusda titreşmez, ancak ince olan orta kısımda titreşir. Bu şekilde ses enerjisi kısmen hareketli manubriuma büyüyerek geçer. Buna "catenary lever" denilmektedir. Sonuçta dış kulak yolundan kulak zarına gelen ses enerjisi kemikçik sistemine amplifiye edilerek ulaştırılır (9). Kemik zincirinin manivelası malleus başı ile lentiküler çıkıntı arasındadır. Bu sistemin yükseltici etkisi umbo ve procesus brevis arasındaki doğru ile inkus'un uzun kolunun

birbirine oranından ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde kemikçik sisteminin yükseltici etkisi 1,3/1 olarak hesaplanmıştır. Bu yaklaşık 2,5 dB'lik artış sağlar (9,10,24). Orta kulağın amplifikatör etkisinde en önemli rol hidrolik mekanizmaya aittir. Bu mekanizma kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki yüzey alan farkından kaynaklanmaktadır. Kulak zarının titreşime katılan bölümü ~55 mm², oval pencere membranının yüzölçümü ~3.2-3.5 mm² 'dir. Bunun ikisinin arsındaki oran 17/1 'dir. Bu yaklaşık 25 dB'lik bir artışa neden olur (10).

Orta kulak kaslarının ses iletimini etkilediği aşikardır, ancak hala bu etkinin derecesi ve ayrıntıları tam olarak bilinmemektedir (24). *M. stapedius* ve *m. tensor tympani*'nin kontraksiyonları şiddetli sesleri söndürme (attenuation) etkisi ile iç kulak yapılarını koruyucu etkiye sahiptir (29,30).

Orta kulak, genel olarak bakıldığında sesleri iç kulağa geçiren pasif bir mekanik sistemdir. Orta kulak mekanik bakımdan lineer özelliklere sahiptir. Yani sesin şiddeti yükselince iç kulağa iletilen enerji miktarı da yükselir. Orta kulağın bu görevine transfer fonksiyonu adı verilir. Alçak frekanslar için lineer özellikler değişmese bile yüksek frekanslarda kulak zarı titreşimleri düzensiz bir hal alır ve şiddet yükselmesi ile paralel olmayan bir enerji iç kulağa iletilir (24,30).

İç Kulak Fizyolojisi

Kemik zinciri ile iletilen ses, kokleadaki iç kulak sıvısına oval pencere yoluyla girer. Normal koşullarda kulak zarı ve kemikçik sistemi ile oval pencereye ulaşan ses enerjisi hem hızlı hem de yukarıda bahsedilen üç sistemin yükseltici etkisinden dolayı, hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşan ses enerjisinden fazladır. Pencerelere ulaşan iki ayrı ses dalgası arasında iletim hızının farklı olması yüzünden faz farkı ortaya çıkar. Bu faz farkı sonucu, ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziler membranda titreşimler meydana gelir (9,10). Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy, bu harekete gezinen dalga "travelling wave" adını vermiştir (9).

Bazal turda baziler membran daha gergindir ve baziler membran genişliği arttıkça gerginlik giderek azalır. Bu fark nedeniyle ses dalgası bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile götürülmüş olur. Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da, baziler membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziler membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekaslı seslerde baziler membran amplitüdleri bazal turda en yüksek seviyededir. Buna karşılık alçak frekanslarda baziler membran amplitüdü

apikal turda en yüksek seviyeye erişir (9,10,24,30). Bu yüzden yüksek frekanslı seslerde gezinen dalga bazal turda kalır, fakat alçak frekanslı seslerde bazal turdan başlayarak apikal tura kadar devam eder (9,24). Orta kulaktaki lineer özelliklerin aksine baziler membrandaki titreşim amplitüdleri non-lineerdir. Yani şiddetin artması ile amplitüd aynı oranda artmaz ve bu özellik yüksek frekanslarda daha belirgindir (30).

Corti organının iç ve DTH'leri, mekanik (akustik) enerjinin elektriksel (nöral) enerjiye dönüşümünde (tranduction) major bir rol oynar. Dönüşüm olayının meydana gelişinde tüylü hücre ve sterosilya kompleksinin rolü olduğu herkes tarafından kabul edilmektedir. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Bu kanallar sterosilyaların hareketleri ile açılır veya kapanırlar. Baziler membran hareketleri ile sterosilyalar hareket eder ve iyon kanalları hareketin yönüne göre açılır veya kapanırlar. Sonuçta, baziler membran hareketleri elektriki akıma dönüşmüş olur ve kendileri ile ilişkili olan afferent sinir liflerine bu elektriki potansiyel aktarılır. Sinir lifleri ile hücreler arasında spesifik bir nörotransmitter olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Sinir lifleri ilgili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtırlar. Karakteristik frekansı ve nonlineer özellikler, aynen sinir liflerinde de görülür. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur (24,28). Bu enerji de sinir impulsları doğurarak sesin VIII. sinir lifleriyle merkeze iletilmesine sebep olur. Ses uyaranları taşıdıkları frekanslara göre beyinde değişik yerlerde sonlanır. Yüksek tonlar işitme merkezinin derinliklerinde düşük tonlar ise yüzeylerinde sonlanır (10). İşitme merkezi temporal lobdaki Sylvian yarığında yerleşmiştir (24).

OTOTOKSİSİTE

Ototoksisite, bir ilacın ya da kimyasal ajanın işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak fonksiyon bozukluğuna neden olabilme potansiyeline verilen genel bir isimdir (1). İlaçlara bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir. İlaçlara bağlı olan işitme kaybı, sensörinöral tiptedir (2). Klinik olarak cisplatin ototoksisitesindeki işitme kaybı, kümülatif, doza bağımlı ve kalıcı olup, cisplatin tedavisi başladıktan 3-4 gün sonra ortaya çıkar, önce yüksek frekansları etkiler, uzayan tedavi ve artan dozlarda, konuşmayı anlama frekanslarını da içerir (6,31). İntravenöz cisplatin tedavisi alan erişkin hastaların %88'inde işitme kaybı meydana gelmiş olup, bu hastaların %49'u tedavi sonrası işitme cihazı kullanmaya aday oldukları saptanmıştır (32). Çocukluk çağı solid tümörlerinde cisplatinin artan kullanımına

bağlı olarak, pediatrik populasyonda da cisplatin ototoksisitesi önem kazanmıştır. Bu populasyonda %84 ile %100'e varan oranlarda ototoksisite bildirilmiştir (33). Tinnitus, genellikle yüksek perdeli ve 4000 ile 6000 Hz arasında değişen frekanstadır. Geçici veya kalıcı olabilir. İşitme kaybına eşlik edebilir veya tek başına bulunabilir (6). İşitme kaybı ve tinnitus genellikle bilateral ve simetriktir. Vestibüler fonksiyon bozukluğu nadiren kendisini gerçek vertigo olarak gösterir, daha sıklıkla "dizziness" veya denge kaybı olarak klinikte karşımıza çıkar. Vestibüler semptomlar, tam vestibüler kayıp gelişmedikçe, merkezi kompensatuar mekanizmalar nedeniyle zamanla azalma eğilimindedir. Nistagmus olabilir ya da olmayabilir. Görsel ve propriyoseptif fonksiyonları bozulmuş yaşlı hastalarda klinik vestibüler bulgular daha ciddi olabilir (2).

Bazı hastalar ototoksisite için daha yüksek risk taşır. Odituar ve vestibüler toksisite için potansiyel olarak daha yüksek risk durumları şunlardır; böbrek yetersizliği, karaciğer yetersizliği, immün yetmezlik durumları, ileri yaş, ototoksisite öyküsü olması, bilinen ototoksik ajanların eş zamanlı kullanılması, gürültüye maruz kalma, önceden sensörinöral işitme kaybının olması, kollajen vasküler hastalıklardır (2,34). Tablo 1'de ototoksisiteye neden olduğu bilinen ilaçlar listelenmiştir (4).

Cisplatin

Cisplatin farmakolojisi: Cisplatin, kimyaca platin diamminodiklorürdür. Sıvı ortamda platin elektrotlar aracılığı ile oluşturulan elektriksel alanın *E. Coli*'nin çoğalması üzerindeki etkisini incelemek üzere yapılan deneyler sırasında, elektrottan sıvıya geçen platin türevlerinin antibakteriyel ve antineoplastik etki yaptıkları tesadüfen fark edilmiş ve bu gözlem sayesinde cisplatin bulunmuştur. DNA çift zincirinde zincirler arası ve zincir içi çapraz bağlanma yapar. Sadece sis izomeri sitotoksiktir. Mide barsak kanalından absorbe edilmez. Kemoterapi amacıyla sadece intravenöz yolla uygulanır. Plazma proteinlerine %90 oranında ve kısmen geri dönüşümsüz olarak bağlanır. Verilişinden sonra 4 ay süre ile böbrek dokusunda platin saptanabilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 60 saat kadardır (8).

Geniş spektrumlu bir antineoplastik ajandır. Nonseminomatöz testis tümörleri, ilerlemiş over, mesane, prostat, serviks, özofagus ve küçük hücreli dışı akciğer kanserleri, baş ve boyun kanserleri, osteojenik sarkom ve nöroblastom gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılır. İntravenöz infüzyon veya yavaş intravenöz enjeksiyon şeklinde 100 mg/m^2/gün dozunda uygulanır (8).

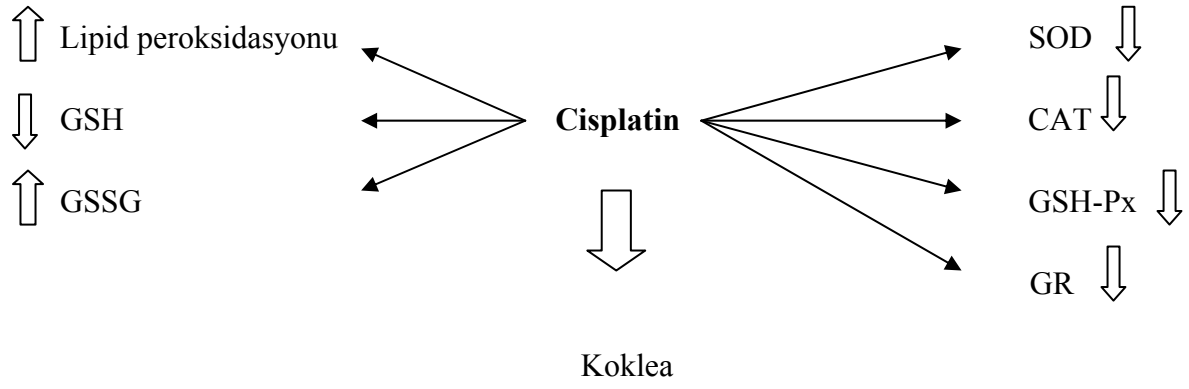
En ciddi yan tesirleri, doza bağımlı olarak akut tübüler nekroz yapması ve ayrıca glomerüler filtrasyonu bozmasıdır. Hasta önceden hidrate edilerek diürez yapılırsa bu yan tesir önemli ölçüde önlenir. Aminoglikozid ilaçlar, cisplatinin nefrotoksisitesini artırırlar. İç kulağı bozarak yüksek frekanslı seslere karşı işitme kaybı yapabilir (ototoksisite). Kemik iliği üzerindeki supresif etkisi diğer birçok antineoplastik ilaçlara oranla orta derecededir. Hipomagnezemi ve buna bağlı hipokalsemi yapar; bunun sonucu tetani oluşturabilir. Cisplatin, mutajenik, teratojenik ve olasılıkla karsinojenik bir ilaçtır (8).

Cisplatin ototoksisitesi: Cisplatin, platinum bileşikleri arasında en sık kullanılan ve en fazla ototoksik potansiyeli olan kemoterapötik ajandır (6). Odyometrik çalışmalarda, cisplatin tedavisi sırasında %75 ila %100 oranında eşik yükselmeleri saptanmıştır (35). Cisplatin ile ortaya çıkan ototoksisite, bilateral, progresif ve sıklıkla geri dönüşümsüz olup en sık 4000-12000 Hz olmak üzere yüksek frekanslarda ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda cisplatinin hem yüksek hem de düşük kümülatif dozlarda koklear hasara yol açtığı ABR ve elektrokokleografik yöntemlerle gösterilmiştir (6).

İç kulak tripeptid glutatyon ve onunla ilişkili glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimler içeren bir korunma sistemine sahiptir (1). Ototoksik dozlarda cisplatin alan hayvanlarda, glutatyon ve antioksidan enzimlerde (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) azalma, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malonildialdehid düzeylerinde artış izlenmiştir (36). Lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim aktivitesinin azalmasının ve koklear dokulardaki glutatyonun azalmasıyla glutatyon redüktaz aktivitesinin azalmasının bir sonucu olabilir (Şekil 5) (37).

Tablo1. Ototoksisiteye neden olduğu bilinen ilaçlar (4)

Antibiyotikler	Antineoplastik ajanlar	Ototopik ilaçlar
Aminoglikozidler Streptomisin Neomisin Kanamisin Gentamisin Netilmisin Tobramisin Amikasin Makrolidler Eritromisin Azitromisin Klaritromisin Vankomisin	Platinum bileşikleri Cisplatin Karboplatin Nitrojen mustard Vinkristin Vinblastin Misonidazol Diklorometotreksat	Propilen glikol Alkol Benzalkonyum klorür İyodoklorhidroksikinolin Klorheksidin M-kresyl asetat Povidon iyodin Asetik asit Polimiksin B-E Kloramfenikol Tikarsilin Seftazidim
Diğerleri	**Antienflamatuvarlar**	**Diüretikler**
Karbon disülfit Toluen Strien Trikloretilen Ksilen Bifosfonat Kinin	Salisilat Nonsteroid antienflamatuvar	Etakrinik asit Furosemid Bumetanid



Şekil 5. Cisplatinin kokleadaki antioksidan sistem üzerindeki etkisi (37)
GSH: Glutatyon, **GSSG:** Oksitlenmiş glutatyon**, SOD:** Süperoksit dismutaz, **CAT:** Katalaz, **GSH-Px:** Glutatyon peroksidaz, **GR:** Glutatyon redüktaz

Kokleer antioksidan enzimlerin azalması şunların sonucunda olmaktadır:

1) Cisplatinin, enzimlerin sülfidril gruplarına direk bağlanmasıyla (38),

2) Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri için gerekli olan bakır ve selenyumun azalmasıyla (38),
3) Antioksidan enzimleri inaktive eden organik peroksitlerin ve reaktif oksijen türlerinin artmasıyla (39),
4) Glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzim aktiviteleri için gerekli olan glutatyon ve kofaktör nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) miktarının azalmasıyla (39) olmaktadır.

Cisplatin, antioksidan enzim aktivitesini azaltarak, reaktif oksijen türleri olan süperoksit, hidrojen peroksit ve toksik lipid peroksit enzimlerinin kokleada artmasına neden olur. Bunun sonucunda kokleer hücrelerin içine kalsiyum girişi artar, bu da apoptoza neden olur (8).

Cisplatin, kokleada NADPH oksidaz ve diğer enzimlerle O_2^- oluşumuna yol açar. Fenton reaksiyonu ile OH^- oluşur. Bu grup, hücre membranında çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek 4- hidroksinonenal (4-HNE) gibi toksik aldehitlerleri oluşturarak hücre ölümüne yol açar. O_2^- aynı zamanda indüklenebilir nitrikoksit sentaz enzimini aktive ederek nitrik oksit oluşumuna neden olur. NO tekrar O_2^- ile etkileşerek peroksinitrit ($OONO^-$) bileşiğini oluşturur. $OONO^-$ proteinler ile reaksiyona girerek nitrotirozin (NT) oluşumuna yol açar. Bu toksik metabolitler, mitokondriden sitokrom C salınımını uyararak caspase 3 ve 9 aktivasyonunu sağlar ve hücre apoptoza gider (5). Caspaz inhibitörlerinin cisplatin uygulanmasında önce veya sırasında Corti organına verilmesi *in vitro* olarak apoptozis ve hücre ölümü engeller. Bu da cisplatin ototoksisitesinin hücre ölümü yolu ile olduğuna ve kalıcı işitme kaybı ile sonuçlandığına dair diğer bir kanıt sağlar (1).

Cisplatin, lateral duvarda potasyum kanallarını aktive ederek, potasyum akışına neden olur. Böylece intrasellüler iyonik ve ozmotik gerilim azalır, *caspase ve pro-apoptotik nükleaz* gibi proapoptotik enzimleri aktive ederek spiral ligament fibrositlerinde apoptozisi indükler. Apoptozis sonucunda spiral ligamentte hücresel kayıp meydana gelir ve potasyum transportu azalır (40). *İn vitro* olarak çeşitli hücre kültürlerinde potasyum kanal blokerleri kullanıldığında, apoptotik hücre büzüşmesi, caspase 3 aktivasyonu, sitokrom C salınımı, apoptotik morfolojik değişiklikler belirgin olarak azalır (40,41).

Reaktif oksijen türleri ve diğer serbest radikaller ile iç ve DTH'lerin membran fosfolipidleri arasındaki etkileşim, aldehit lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Bu

aldehidlerden birisi olan 4-HNE işitsel nöronlarda ve tüylü hücrelerde apoptozis mediatörü olarak fonksiyon görür (42).

Cisplatin ototoksisitesinin histopatolojisi: Cisplatin ototoksisitesinin birincil hedef hücreleri kokleanın bazal kıvrımındakiler daha belirgin olmak üzere DTH'lerdir. Bunun nedeni glutatyon depolarının bu hücrelerde, İTH'ler ve daha apikal kıvrımlardaki DTH'lerdekine oranla daha düşük olması sonucu olabilir (1). DTH'lerin ilk sırası en zayıf olanlardır. Bunu, DTH'lerde parietal membranda dilatasyon, kutiküler plakta yumuşama, vakuol formasyonu ve saçlı hücrelerin apikalinde lizozom benzeri yapıların artışı ile karakterize artmış hasar izler. Hem dış hem de İTH streosilyalarında, füzyonunda dahil olduğu anomaliler izlenir (1). Spiral ganglionda ve spiral ganglion hücrelerini saran myelin kılıfta ayrılma meydana gelir (43). Özellikle yüksek doz cisplatin kullanımına bağlı stria vaskülaris hasarı gelişebilir (1). Cisplatin alımı sonrasında, histolojik göstergesi strial disfonksiyon olabilecek olan endokokleer hidrops bulguları izlenmiştir. Reissner membranının korti organı üzerine katlanması gösterilmiştir (44,45).

Koklea, cisplatinin neden olduğu oksidatif stres ile başa çıkacak endojen mekanizmalara sahiptir. Bu koruyucu moleküller; glutatyon ve antioksidan enzimler, sıcak-şok proteinleri, adenozin A-1 reseptörleri, heme oksijenaz-1 ve böbrek hasar molekülleridir (46). Bu koruyucu moleküller kokleada üretilir ve oksidatif stres durumunda üretimi artar. Ancak cisplatin kullanımı durumunda ortaya çıkan oksidatif streste bu intrensek mekanizmalar yetersiz kalabilir (47).

Cisplatin, kanser kemoterapisinde yaygın olarak kullanılan önemli bir kemoterapötik ajandır. Hayatı kurtarmaya yönelik tedavi şekli modifiye edilemeyeceği için, cisplatin alan hastalarda işitme monitörizasyonu ve koruyucu ajanların klinik olarak kullanımının gün geçtikçe önemi artmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalarda, cisplatin ototoksisitesini önlemek ya da en aza indirmek amacıyla, birçok koruyucu ajan kullanılmıştır. Bu ajanlardan bazıları, sodyum tiyosülfat (48), lazaroidler (6), dietilditiyokarbamat (48), pantotenik asi (49), D-metionin (50), ACTH (4-9) analoğu ORG 2766 (51,52), lipoik asit (53), amifostin (54), N-Asetilsistein (55), α tokoferol ve tiopronin (56,57), aminoguanidin (58,59), allopurinol ve ebselen (60), sodyum salisilat (61), Vitamin E (62), Vitamin B (63), fosfomisin (64), melatonin (65), erdostein (66), *Ginkgo biloba* ekstraktı (67)'dır.

Ototoksisitenin Odyolojik Monitorizasyonu

Ototoksisitenin odyolojik monitorizasyonu oldukça karmaşık bir konu halini almıştır. Bilinen ototoksik ajanların sayısı ve sinerjistik faktörler giderek artmaktadır. Ototoksisite monitorizasyonu için mevcut odyolojik metotların sayısı artmıştır. Ancak sensitivite ve spesifisiteleri iyi tespit edilememiştir. Bu nedenle ototoksisite monitorizasyonunda kesin kılavuzlar yoktur (68).

Ototoksik ilaç kullanılan olgularda hastanın işitme kaybından yakınmasını beklemek, en etkisiz monitorizasyon yöntemidir. Çünkü bilindiği gibi, işitme kaybının birey tarafından fark edilebilmesi için en az 30 dB olması gereklidir. Bu nedenle ototoksik ilaç kullanan özellikle yüksek risk grubundaki hastalarda, işitmenin monitorizasyonu için, ilaç kullanmaya başlamadan önce, bazal işitme seviyesi tespit edilmeli ve belli aralıklarla işitme düzeyi takip edilmelidir. Bu amaçla konvansiyonel odyometri, konuşmayı ayırt etme skoru, yüksek frekans odyometri, elektrokokleografi, OAE ve ABR testlerinden bir veya birkaçı kullanılabilir (4,9,68). Ototoksisitenin erken tanısında, duyarlı bir yol olarak, iki ya da üç günde bir yüksek frekans odyometri (9000-20000 Hz) yapılması önerilmektedir (2). Dreschler ve ark. (69) bir frekansta 20 dB ve fazlası, iki frekansta 15 dB, dört veya daha fazla frekansta 10 dB'lik eşik yükselmesini hem konvansiyonel hem de yüksek frekans odyometride ototoksisite ölçütü olarak belirlemişlerdir.

Otoakustik emisyonlar, ototoksisite monitörizasyonunda işitme kaybı gelişmeden, erken koklear değişikleri saptamada değerli olduğu bilinmektedir (4). OAE'ların koklea, muhtemelen de DTH'ler tarafından üretildiğine inanılır. Çoğu ototoksik ilacın iç kulakta DTH'leri etkilemesi nedeniyle, teorik olarak OAE'ların ototoksisite tespitinde faydası olması gerekir. Ototoksisite monitorizasyonunda OAE'nun avantajları; hızlı, non-invaziv olması ve hastanın aktif katılımını gerektirmemesidir. Ancak hastada daha önceden var olan işitme kaybı, OAE'ların monitorizasyon amaçlı kullanımında sınırlayıcı bir faktördür. OAE ölçümlerinde, OAE'daki bir değişiklik ototoksisiteye atfedilmeden önce normal orta kulak fonksiyonu dikkatlice monitorize edilmelidir (68). Elektrofizyolojik çalışmalar, cisplatin ototoksisitesinin endokoklear potansiyellerdeki azalma, ABR eşiklerinde artış ve OAE yanıtlarında azalma ile ortaya konabileceğini göstermiştir (1).

Platinum bileşenli kemoterapiler için odyolojik görüntüleme her tedavi öncesi, eğer baş ve boyun radyasyon almış ise 1-2 yıl sonra yapılabilir. Aminoglikozidler için ise tedavi

sırasında her 1-2 haftada bir ve ilaç kesildikten en az 4-6 ay sonra odyolojik görüntüleme tavsiye edilir (68).

Ototoksisitenin görüntülenmesi araştırmalarda çok etkin bir alandır. Bugünkü teknikler sürekli olarak karşılaştırılmalı ve yeni tedavi teknikleri araştırılmalıdır. Gelecekte birçok hastada koruyucu ajanlar kullanımıyla ototoksisite önlenebilecektir.

REAKTİF OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest radikaller, dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan, organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif, kısa ömürlü bileşiklerdir. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden, bir elektron eksilmesi veya ilavesiyle oluşurlar (70). Serbest oksijen radikalleri ya da daha genel anlamda reaktif oksijen türleri, normal hücresel metabolizmanın ürünleridir (71).

Oksidatif fosforilasyon sırasında, siklustan ayrılan %1-5 oksijen molekülü suya indirgenirken reaktif, serbest oksijen radikalleri olarak bilinen ve toksik sayılan maddeler açığa çıkmaktadır (72,73). Bu ürünlerin, düşük konsantrasyonlarda, organizmayı zararlı etkenlere örneğin infeksiyöz ajanlara karşı savunmada ya da hücrede mitoz cevabını indüklemede fizyolojik rolleri vardır (71). Patolojik olaylar sırasında hücrede aşırı miktarda reaktif oksijen radikali oluşması "oksidatif stres" olarak tanımlanır. Bu durumun tipik bir örneği iskemi/reperfüzyon olayıdır. İskemi sırasında ksantin oksidaz enziminin sentezinin, etkinliğinin ve substratlarının artması ve böylece enzimin reperfüzyon sırasında dokuda konsantrasyonu birden artan oksijeni aşırı miktarda süperoksit anyonuna dönüştürmesidir (8). Biyolojik sistemlerde oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanabilir (70).

Süperoksit radikalleri arasında en önemlileri; süperoksit ($O_2^{\cdot -}$), hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$), hidroksil ($^{\cdot}OH$), alkoksil ($RO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), nitrikoksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$) radikalleridir. Singlet oksijen ($^1O_2$), hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), hipoklorid asit (HOCl), lipid hidroperoksit (LOOH), ve peroksinitrit ($ONOO^-$) ise radikal olmayan oksijen merkezli ve reaktivitesi oldukça yüksek bileşiklerdir (74,75). Bunlardan en reaktif ve en sitotoksik olanı hidroksil radikalidir. Hidroksil radikalleri klor (Cl) ile reaksiyona girerek dokuda diğer bir sitotoksik madde olan HOCl (Hipoklorik asit) oluşturabilir. Süperoksit anyonu, damar endotelinde endojen nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girerek daha fazla sitotoksik olan peroksinitrit ($ONOO^-$) ve sonra peroksi nitröz asit oluşturur (8).

Reaktif oksijen radikalleri, artan oksijen parsiyel basıncı sonucu konsantrasyona bağımlı olarak birçok hücre türünde özellikle alyuvarlar, damar endotel hücreleri ve iltihap hücrelerinde artmış miktarlarda oluşur. Bu maddeler sitoplazmik membranın ve hücre içi organel membranlarının lipidlerinin peroksidasyonuna ve membran permeabilitesinin artmasına, enzimlerin ve sitostrüktürel proteinleri sülfidril gruplarının oksitlenmesine ve çapraz bağlanmasına, enzimlerin inaktivasyonuna, antiproteazların inhibisyonu sonucu dirençli proteolitik enzimlerin aktivasyonuna, DNA yapısının bozulmasına ve kırılmasına (mutasyona) ve mukopolisakkaritlerin de polimerizasyonuna neden olurlar. Lipid peroksidasyonu membran yapısını bozmaktan başka oluşan lipid peroksitler iltihap hücrelerine karşı kemotaktik oldukları için bu hücreleri dokuya çekerek inflamatuvar reaksiyon oluştururlar. Radikaller hücrede iyon transportunu ve transmembranal potansiyeli bozarlar (8).

Serbest oksijen radikalleri hücrelerde hiperoksi olmaksızın fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu meydana gelebilirler. Söz konusu radikalleri oluşturan fizyolojik olaylar mitokondriyel ve mikrozomal elektron transport zincirleri ve oksidan enzimlerin katalize ettiği olaylardır (ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz, monoamin oksidaz gibi) (8).

Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Hücrelerde ve ekstrasellüler sıvıda sitotoksik oksijen radikallerini zararsız duruma getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşturan ksenobiyotiklere maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofiller ile diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlarda oksidan/antioksidan dengesi bozulursa antioksidan mekanizmalar tükenir; sonuçta sitotoksik radikal etkinliği artar, hücre zedelenmesi ve ölüm olur (8).

Antioksidan savunma mekanizmalarının başlıcaları şunlardır (8):

1-Reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri: Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glukoz -6- fosfat dehidrogenaz vb.

2-Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler (*scavengers*): insanda hücre membranında oksidanın yapacağı zedelenmeyi önleyen E vitamini (alfa tokoferol), hem ekstrasellüler sıvıda hem de hücrede antioksidan etkinlik gösteren ve antiproteazların oksidanlarla inaktivasyonunu önleyen C vitamini (askorbik asid), indirgenmiş glutatyon

(GSH), ürik asit, beta karoten, taurin, yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümin.

3-Reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını önleyen ve oluşanın yayılmasını önleyen sistemler: Bunlar hidrojen peroksit ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan Haber-Weiss reaksiyonunu katalize eden demir ve bakır iyonunu hücrede ve plazmada bağlayan ferritin, transferrin, laktoferrin ve serüloplazmin, ve mitokondrilerde doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyel sitokrom oksidazdır.

Enzim dışı antioksidan ve yağda çözünür bir vitamin olan E vitamini hücre membranında yerleşmiştir ve oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonu yapmasını engeller. A vitamini ve beta karoten, zincir reaksiyonu kıran antioksidanlardır ve ayrıca singlet oksijeni doğrudan yakalar ve nötralize eder. Askorbik asit nötrofillerdeki oksidanları, hidroksil radikalini ve hidrojen peroksiti yakalar. İndirgenmiş glutatyon (GSH), reaktif oksijen radikallerini doğrudan ya da enzimatik yolla yakalar. Enzimatik ve enzim dışı antioksidan mekanizmalar genellikle tek başlarına değil, birbiri ile yakın etkileşerek çalışırlar. Şöyle ki askorbik asit ve indirgenmiş glutatyon (GSH), lipid peroksit ile reaksiyona girerek onu normal duruma getirirler; ayrıca bu sırada oksitlenmiş olan E vitaminini tekrar indirgenmiş (aktif) olan E vitaminine dönüştürürler (8).

Askorbik asit (C vitamini): Askorbik asit yapıca glukoza ve diğer altı karbonlu monosakkaridlere benzeyen, kapalı formülü $C_6H_8O_6$ bir ketolaktondur (8,75). İnsan ve diğer primatlarla kobaylarda vücutta sentez edilmez. Dokularda bir enzimin katalitik aracılığı olmadan bile kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir.

Askorbik asit en fazla limon, portakal ve greyfurt gibi turunçgil meyvelerde bulunur. Yeşil yaprak şeklindeki sebzeler, domates, yeşil biber, salatalık, kavun, muz ve taze patateste de vardır. Portakal suyunun 1 ml'sinde 0,5 mg askorbik asit bulunur. Hayvansal besinlerin askorbik asit kaynağı olarak önemi yoktur (8).Vitaminler içinde kimyaca en labil olan vitamin türüdür. Ortamın asidik olması askorbik asidin dayanıklılığını arttırır. Suda çözünen bir vitamindir. Bitkisel ürünlerin bayatlaması, doğranması, ısıya ve havaya maruz kalması vitamin içeriğinin azalmasına neden olur (8).

Askorbik asit mide barsak kanalından doyurulabilir bir transport olayı ile kolayca absorbe edilir. Hücrelerin içi dahil vücutta geniş bir alana dağılır. Günde 75 mg veya daha yüksek dozlarda C vitamini verildiğinde vücut bu vitamin bakımından doymuş hale gelir.

Böbrek glomerüllerinden süzülen askorbik asidin fazlası geri emilmez ve idrarla hızlı bir şekilde atılır. Yarılanma ömrü yaklaşık olarak 16 gündür (8).

Askorbik asit, extrasellüler sıvıda bulunan en önemli antioksidan maddedir. Hücre içinde de antioksidan etkinlik gösterir. Süperoksit anyonunu, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikalleri ve singlet oksijeni güçlü bir şekilde bağlayarak inaktive eder. Peroksil radikali oluşmasını indükleyen maddelerin yaptığı lipid peroksidasyonunu inhibe eden en önemli plazma komponentinin askorbik asit olduğu gösterilmiştir (8).

Askorbik asit yan etkileri oldukça az olan bir ilaçtır. Günde 2 g daha fazla miktarda alındığında diyare ve karın ağrısı yapabilir (8).

OTOAKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonlar (OAE), kokleadaki aktif proçeslerin bir yansıması olarak ortaya çıkan ve dış kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli seslerdir. İlk olarak 1978 yılında Kemp tarafından tanımlanmışlardır (76-79).

Dış tüylü hücre hareketi koklea içerisinde mekanik bir enerji ortaya çıkar. Bu enerji, oval pencere ile orta kulağa, daha sonra timpanik membrana ve kulak kanalına doğru iletilir. Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) oluşur ve bu sinyal hassas bir mikrofonla ölçülebilir (78-80).

Otoakustik emisyonların ölçümü periferik işitsel fonksiyonu değerlendirmede hassas bir göstergedir. Hem işitme kaybının koklear komponentini saptamaya hem de diğer odyolojik metodlarla saptanamayan, kokleanın durumundaki küçük değişiklikleri objektif olarak izlemeye olanak tanır (77).

Uygulanmaları kolay ve hızlıdır. Hasta tarafından kolay tolere edilirler. Objektif sonuca dayalı, girişimsel olmayan testlerdir. Çocuklar, yaşlılar, ototoksik ilaç kullanan ağır durumdaki hastalar, yabancı bir dili konuşanlar, subjektif testler için yeterli işbirliğini gösteremeyen olguların işitme fonksiyonunun araştırılmasında OAE'lar özel bir yere sahiptir (78,81,82). Uyarılmış OAE normal ya da normale yakın işitmesi olan tüm kulaklarda kaydedilebilir (76). DTH yapısal olarak tahrip olduğunda veya fonksiyon yapamadıklarında emisyonlar üretilemez (79). Ayrıca orta kulağın iletim fonksiyonu da OAE saptanmasında önem taşır. Çünkü hem akustik uyaran hem de kokleanın ürettiği sesler orta kulağı geçmek zorundadırlar. Dolayısıyla, emisyonların saptanması hem koklea hem de orta kulak sistemlerinin normal veya normale yakın fonksiyon göstermesiyle bağlantılıdır (81,83).

Emisyonların sınıflandırılması ortaya çıkarılmaları için kullanılan stimulus cinsine göre yapılmıştır. Buna göre emisyonlar, spontan ve uyarılmış (evoked) emisyonlar adı altında iki geniş sınıfa ayrılabilir (78,80).

Spontan Otoakustik Emisyonlar

Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE) dışarıdan bir uyarı olmaksızın ortaya çıkarlar ve insan kulağında, dışarıdan bir uyarı olmaksızın %40-60 oranında elde edilebilirler (76,80). Klinikte koklear fonksiyonu değerlendirme açısından pratik değildir (83).

Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

Bir dış akustik uyaran varlığında kulak kanalından ölçülen düşük seviyeli akustik sinyallerdir (81). Kullanılan uyaranın cinsine göre üç sınıfa ayrılırlar:

1- Stimulus frequency OAE (SFOAE)
2- Distortion product OAE (DPOAE)
3- Transient evoked OAE (TEOAE)

1- Stimulus frequency otoakustik emisyonlar: Kokleanın pürton uyarıya, uyarıyla aynı frekansda kendiliğinden oluşan yanıtlarıdır. Uyarı frekansı emisyonların kaydedilmeleri güçtür ve klinik olarak yararlanımları sınırlıdır (78,80,84).

2- Distortion product otoakustik emisyonlar: Eş zamanlı olarak uygulanan iki pür tonun, koklea içerisinde non-lineer etkileşiminden doğan ve kulak kanalından ölçülen akustik enerji olarak tanımlanırlar (80).

Dışarıdan verilen iki frekans tonu ile içeride üçüncü bir frekans oluşturulur. Emisyon uyarıcı iki ton f1 ve f2 primerleri olarak isimlendirilir. İnsanda en belirgin emisyon yanıtları f2/f1 oranı 1.2'ye eşit olduğunda elde edilir. DPOAE teknolojik olarak ölçümü en kolay emisyonlardır; nispeten parazitsizdir ve ölçüm sonrası işlem gerektirmez. Diğer emisyon ölçümlerinde olduğu gibi mikrofon içeren bir prob gerekmektedir. Ancak iki farklı frekansta uyarıyı vermek için iki kanal gerekmektedir. Uyarılar kulak yolunda karışmaktadır. Gürültü eşiğini azaltmak primerlerin seviyelerini ve distortion ürününün analizini yapmak için kulak yolu ses basıncı ortalamaları alınır. DPOAE'ların gürültüden ayırt edilmesini sağlayan en düşük primerler seviyesi, eşik seviyesini verir. DPOAE 50-60 dB'e ulaşan sensorinöral işitme

kayıplarında genellikle yoktur. Ölçümde primerler iki şekilde manuple edilir; seviye sabit tutulurken frekans değişir, frekans sabit tutulurken seviye değişir. Birincinin sonucuna "distortion ürünü odyogram" adı verilir. İkinci input/output (I/O) işlevini verir. Distortion ürünü odyogram, pürton odyogram gibi işitme eşiklerini göstermez. DPOAE eşiklerini I/O işlevi verir. Klinik uygulamalarda en uygun uyarı değişkeni henüz kesinleşmemiştir. Uyarı değişkenlerindeki çeşitlilik nedeniyle de DPOAE'ların tanısal anlamlılığı netlik kazanmamıştır. DPOAE odyogramları geniş bir frekans alanında, ancak genellikle sadece 1-2 seviyede bilgi sağlar (78,85-87).

3- Transient evoked otoakustik emisyonlar: Klikler veya tone bipler gibi kısa süreli uyarılarla ortaya çıkarılırlar. Genellikle 80 dB SPL civarında stimulus kullanılır. Koklea tarafından üretilen emisyon yanıtları kulak kanalındaki hassas mikrofonla ölçülür ve arka plandaki gürültüden ayrılarak averajlanır. Sinyallerin incelenmesinde non-lineer yanıtlar dikkate alınır; akustik prob ve dış kulak yolunun lineer cevabı iptal edilir. Non-lineer uyarı dörtlü bir gruptan oluşur. Bu grup içerisindeki ilk üç stimulus aynı fazda sunulurken, dördüncüsü ters fazda ve ilk üçünün amplitüdlerinin 3 katı olarak sunulur. Dolayısıyla her bir hafıza bankasında 260x4=1040 transient yanıt toplanır. Ortalaması alınan yanıtlar iki ayrı hafıza bankasında depolanır (1040x2=2080) ve iki ayrı dalga formu ortaya çıkar. Bu dalga formlarının elde edilmesi için depolanan toplam stimulus sayısı 2080' dir. İki ayrı hafıza bankasındaki dalga formları arasındaki çapraz korelasyon "reprodüktibilite" yüzdesini verir (79,88). Klinik pratikte, reprodüktibilitenin % 50-60 veya üzerinde olması "yanıt var" anlamına gelir (78-80,89).

Transient evoked otoakustik emisyonların yorumlanmasında reprodüktibilite değeri, emisyon amplitüdleri (echo level, response level, emission strength) ve signal/noise oranları incelenebilir. Response level (emission strength) TEOAE amplitüdünün dB cinsinden ifadesidir. Düzeltilmiş response level (response level-noise) de eğer 2,4 dB ve üzeriyse "yanıt var" anlamına gelir (89). Signal/noise (S/N) oranını elde etmek için, çeşitli uyarılara alınan yanıtların ortalaması hesaplanır. Yanıtın ilk 2.5 msn'si uyarıdan ayırmak için dışlanır (88,90).

Transient evoked otoakustik emisyonlar, işitme eşiğinin 35 dB'den düşük olduğu durumlarda çoğunlukla mevcuttur (91). Normal işiten kişilerde ise hemen daima var oldukları kabul edilir. Normal işitmeli bir kişide eğer TEOAE yanıtları yoksa bu; ya subklinik bir işitsel

disfonksiyona, ya çevresel şartların uygun olmayışına ya da teknik problemlere baglı olabilir (78).

Günümüzde en çok TEOAE ve DPOAE'ların kullanım alanları bulunmaktadır ve başlıca kullanım alanları şunlardır (86,92):

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

II- Tarama amacıyla:
   1- Yenidoğan taraması
   2- Oyun çocuğu taraması
   3- Mesleki işitme kaybı riski olanlarda tarama

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

İŞİTSEL BEYİNSAPI YANITLARI

İşitsel beyinsapı yanıtları (ABR), işitme sinirinin başlangıcından ponsun en üst bölümüne kadar olan anatomik bölgede işitme yollarındaki elektriksel akımın senkronize aktivitesini kaydedebilen elektrofizyolojik bir test yöntemidir. İşitsel uyarılma potansiyellerinin kayıt tekniği, temelde işitme sistemi ve beynin bir ses uyaranına verdiği yanıtın elde edilmesi olduğundan; yapılan kayıtlarda ses uyarısı ve bu uyarının özellikleri önemli bir rol oynar (93).

İşitsel beyinsapı yanıtları kayıtlarında en çok tercih edilen, klik uyarı tipidir ve amplitüdü dB olarak ölçülür (94,95). Klik uyarılarla kokleanın bütün frekans alanlarının aynı anda uyarıldığı kabul edilir. Bu yüzden frekansa özgü ABR kayıtları yapabilmek için kısa süreli tonal uyarılar kullanılır ki bu tip ses uyarılarına tone-burst veya tone-bip denir.

Uyarılmış işitme potansiyellerinin kaydı sırasında elektrotların konumları; kaydedilen cevabın varlığını ve kalitesini doğrudan etkiler. Aktif elektrot için verteks sık olarak seçilen bir elektrot yerleştirme noktasıdır. Referans elektrotlar ise aurikula lobülü veya mastoid proçes'e koyularak horizontal yerleşim tamamlanır (93,96,97).

İşitsel uyarılma potansiyellerine alınan cevaplar; latensleri esas alınarak erken, hızlı, orta ve geç olarak altgruplara ayrılır (93,94,97).

İşitsel beyinsapı yanıtları, akustik sinir ile birlikte beyin sapındaki nükleusların biyoelektriksel aktivite gösteren dalga serilerinden oluşur. Bu seri insanda 7 pozitif tepeden ibarettir; bu tepelerin orijinleri 1970'den bu yana değişik şekillerde isimlendirilmiş, son yıllarda yapılan çalışmalara göre her ABR dalgasının birden fazla beyinsapı işitme nükleusundan ve işitme yollarını meydana getiren sinir liflerinden oluştuğu sonucuna varılmıştır (93,96). Son görüşe göre; I. dalga işitme siniri distalinden, II. dalga işitme siniri proksimalinden, III. dalga koklear nükleusdan, IV. dalga superior olivar kompleksden, V. dalga lateral lemniscusdan, VI. ve VII. dalgalar inferior colliculus'dan orijin almaktadır.

Eşik altındaki uyarı düzeylerinde cevap trasesi neredeyse düz bir formda iken, eşiğin hemen üzerinde V. dalga latensi ortaya çıkmaktadır. Orta düzeydeki ses şiddetlerinde III. dalga belirginleşirken; I. II. ve IV. dalgalar ancak yüksek şiddetlerde belirginleşmektedir. Bunlardan II. ve IV. dalgalar değişkendir ve herkeste elde edilmeyebilir. Aynı şekilde VI. ve VII. dalgalar da bu değişkenlik özelliğine sahiptir. Bu nedenle klinik uygulamalarda I. III. ve V. dalgalar tanı aracı olarak kullanılırlar (94).

İşitsel beyinsapı yanıtları ile eşik tayini adayları; davranış odyometrisi tekniklerinin uygulanmasının mümkün olmadığı olgulardır. Bunların çoğunluğunu yenidoğanlar, küçük çocuklar, zihinsel özürlüler, deneysel kobay çalışmaları ve simülasyonla kendini hasta göstermeye çalışanlar oluşturur. ABR'nin objektif oluşu eşik tayini açısından deneysel modelde araştırıcı için büyük kolaylık sağlamaktadır (93,94).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul onayı (Ek-1) alındıktan sonra Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) 'ne sunulmuş ve TÜBAP-853 no'lu proje ile gerekli kimyasal ve sarf malzemelerin alımı sağlanmıştır (Ek-2). Bu çalışma için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilen, 4-8 aylık ve ağırlıkları 400-600 g arasında değişen 15 adet auropalpebral refleksli, pigmente hartley cinsi erişkin kobay (Guinea pig) kullanılmıştır. Kobaylar %50 nem, 16-21 ^{o}C ısı koşullarında Pelet yem, mevsimsel taze sebze ve meyve ile beslenerek barındırılmıştır. Çalışmamızda uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyulmuştur.

Elektrofizyolojik ölçümler, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Birimi'nde yapıldı. Elektrofizyolojik ölçümler genel anestezi altında yapılırken, intraperitoneal (i.p) enjeksiyonlar sırasında herhangi bir anestezi uygulanmadı. Genel anestezi, ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg + xylazine hidroklorür (Rhompun flakon, Bayer, İstanbul) 5 mg/kg intramusküler (i.m) ile sağlandı. Tekrarlayan anestezi dozu gerektiğinde, ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin hidroklorür i.m olarak uygulandı.

Genel anestezi altında toplam 15 kobayın 30 kulağının otomikroskobik bakısı yapıldı, dış kulak yolundaki debris veya buşonlar temizlendi. Bütün kobaylarda normal timpanik membran görüntüsü saptandı. İ.p ilaç uygulaması öncesinde, tüm kobay kulaklarında TEOAE

ile emisyon varlığı ve ABR testi ile normal işitmenin varlığı araştırıldı. TEOAE ve ABR testleri sonucunda, emisyon varlığı ve işitmesi normal saptanan toplam 30 kulak çalışma kapsamına alındı ve randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Her bir grupta 5 kobay (10 kulak) yer almaktaydı.

I.grup (kontrol grubu): Bu gruptaki kobaylara herhangi bir girişim ve ilaç uygulaması yapılmamıştır.

II. grup (çalışma grubu): Bu grupta kobaylara 8 gün boyunca her gün tek doz cisplatin (Cisplatin "Ebewe" flakon, Liba, İstanbul) 1,5 mg/kg/gün i.p yolla uygulandı.

III. grup (çalışma grubu): Bu grupta kobaylara 8 gün boyunca her gün tek doz cisplatin 1,5 mg/kg/gün i.p yolla uygulandı. Askorbik asit (Redoxon ampul, Roche, İstanbul) ise i.p enjeksiyondan 1 saat sonra 300 mg/gün dozunda, tek doz i.p yolla uygulandı.

İntraperitoneal cisplatin enjeksiyonları, Cisplatin "Ebewe" 10mg/20ml ticari formu kullanılarak, 5 ml'lik enjektör ile, 1,5 mg/kg/gün dozunda, anestezi verilmeden, batın alt kadranlarına yapıldı (Şekil 6). Enjeksiyonlar her gün aynı saatlerde tekrarlandı. Kobaylar enjeksiyon yapıldığı süre içinde dehidrate bırakılmamaya özen gösterildi. Tüm kobaylara, 8 günlük ilaç uygulaması bittikten 48 saat sonra tekrar TEOAE ve ABR ölçümleri yapıldı. Ölçümler sonunda her gruptan 3 kobay ışık mikroskobik inceleme, 2 kobay elektron mikroskobik inceleme için rastgele seçildi. Temporal kemik materyalleri, ultrastrüktürel incelemeler için hazırlandı.



Şekil 6. İntraperitoneal enjeksiyon

ELEKTROFİZYOLOJİK TESTLER

Transient Evoked Otoakustik Emisyon Ölçümü

Otoakustik emisyon ölçümü, GN Otometrics A/S Capella-Madsen (Taastrup-Denmark) otoakustik emisyon cihazının TEOAE modu kullanılarak gerçekleştirildi. TEOAE ölçümleri; kliniğimizde Uzun ve ark.'nın geliştirdiği kobaylarda TEOAE ölçüm yöntemi ile yapıldı (98). Ölçümler sessiz odalarda ve ısıyı koruyan battaniye üzerinde gerçekleştirildi. Capella Madsen probu (Madsen-OAE probu) ucuna yenidoğan için kullanılan küçük boy bir uç (no:1-2), bunun ucuna da kobay dış kulak yoluna uygun bir plastik tüp adaptör (1 cm'lik) takılarak, kobay dış kulak yoluna yerleştirildi. Prob uygun pozisyonda iken ölçümlere başlandı.

Transient evoked otoakustik emisyon varlığı, normal TEOAE ölçüm yöntemi standardında olduğu takdirde; rekonstrükte formdaki reprodüktibilite (correlation) değerinin %70'in üstünde olması halinde kabul edildi. TEOAE ölçümlerinin analizinde; reprodüktibilite yüzdesi, response değeri (dB), S/N oranı (dB) parametreleri değerlendirildi.

Ölçümler sırasında stimulus şiddeti 80±3 dB SPL idi. Non-lineer klikler 2080 kez averajlandı ve stimulus başlangıcından itibaren ilk 20 msn'de analiz yapılacak şekilde ayarlandı. Time Window'un (ölçüm zaman aralığı) ilk 20 msn'de ölçüm yapacak şekilde ayarlanması dışında cihazın diğer ayarlarında değişiklik yapılmadı. TEOAE ölçümünde ilk 1 msn'de oluşan dalga formunun, stimulusun ölçüm yapılan kulak kanalındaki ses yansıması olması, bu yansımanın stimulus başlangıcından sonra 1-2 msn aralığına kadar uzayabilmesi, kobaylarda TEOAE dalgaları erken latensli ve 7 msn'den sonra kaydedilememesi nedeniyle "time window" stimulus başlangıcından sonra 2 msn ile 7 msn arasında ayarlanarak, orijinal dalga formu rekonstrükte edildi (Şekil 7).

İşitsel Beyin Sapı Yanıtları Ölçümü

İşitsel beyin sapı yanıtları ölçümleri sırasında, BRA2-05/95 versiyon 5.XX (Danplex-Germany) marka beyinsapı analizör kullanıldı. Kobayın dış kulak kanallarına uygun 1 cm'lik plastik tüp adaptörleri, E-A-R Tone 3 A kanal içi kulaklıkların ses tüplerine bağlandı. Gümüş iğne elektrotların negatif olanı test edilen kulağın mastoidine, pozitif olanı alına, toprak olanı da karşı kulağın mastoidine yerleştirildi. Elektrotların uygun bağlanıp bağlanmadıkları cihaz üzerindeki elektrot testi (impedansmetre) ile kontrol edildi. Saniyede 10 klik uyarı verildi ve

300 cevabın ortalaması alındı. 80 dB'den başlanıp 10'ar dB azaltılarak eşik belirlendi ve 10 dB'de dalga varlığı normal işitme olarak değerlendirildi.



Şekil 7. Örnek bir kobaya ait transient evoked otokustik emisyon ölçüm görüntüsü.

İşitsel Beyin Sapı Yanıtları Ölçümü

İşitsel beyin sapı yanıtları ölçümleri sırasında, BRA2-05/95 versiyon 5.XX (Danplex-Germany) marka beyinsapı analizör kullanıldı. Kobayın dış kulak kanallarına uygun 1 cm'lik plastik tüp adaptörleri, E-A-R Tone 3 A kanal içi kulaklıkların ses tüplerine bağlandı. Gümüş iğne elektrotların negatif olanı test edilen kulağın mastoidine, pozitif olanı alına, toprak olanı da karşı kulağın mastoidine yerleştirildi. Elektrotların uygun bağlanıp bağlanmadıkları cihaz üzerindeki elektrot testi (impedansmetre) ile kontrol edildi. Saniyede 10 klik uyarı verildi ve 300 cevabın ortalaması alındı. 80 dB'den başlanıp 10'ar dB azaltılarak eşik belirlendi ve 10 dB'de dalga varlığı normal işitme olarak değerlendirildi.

TEMPORAL KEMİK DİSEKSİYONU VE ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME

TEOAE ve ABR testleri tamamlandıktan sonra kobaylar yüksek doz Tiopental sodyum (Pental Sodyum, İ. E. Ulagay, İstanbul) enjeksiyonun ardından sakrifiye edildi. Her kobaydan rastgele seçilen kulakların temporal kemik diseksiyonları, koklea ve iç kulak yapılarına hızlı erişim sağlayacak bir teknik ile gerçekleştirildi. Oksipital bölgeden horizontal ensizyon yapıldı ve cilt öne doğru eleve edildi. Her iki taraftaki temporal kas ve periost önce

parietal kemiğin, ardından temporal kemiğin skuamöz parçasının üzerinden eleve edildi. Aurikula laterale ekarte edilerek kıkırdak dış kulak yolu, keskin disseksiyon ile timpanik halkadan ayrıldı. Subperiosteal planda kas dokularının elevasyonuna devam edilerek, temporal kemiğin mastoid ve timpanik parçaları (bulla) ortaya konuldu. Bundan sonraki aşamada mastoid parça oksipital kemikten; skuamöz parça parietal, frontal, palatin ve etmoid kemiklerden; bulla oksipital ve sfenoid kemiklerden; petröz parça sfenoid kemikten disseke edildi. Ortaya konan VII. ve VIII. kranial sinirlerin ekstratemporal kısımları kesildikten sonra temporal kemik, çevre kas dokularından da disseke edilerek kafatasından ayrıldı. Bu aşamadan sonra ışık mikroskobik olarak incelenmesi planlanan koklealar %10 nötral formalin çözeltisine, elektron mikroskobik olarak incelenmesi planlanan koklealar %2.5 gluteraldehit çözeltisine konuldu. Temporal kemik diseksiyonları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde yapıldı.

Işık Mikroskobisi

Işık mikroskobik olarak incelenmesi planlanan koklealar %10 nötral formalin çözeltisinde, ilk hafta 4 °C, ikinci hafta oda sıcaklığında muhafaza edilerek fiksasyon işlemi yapıldı. Dekalsifikasyon işleminden önce fiksatif madde artıklarını temizlemek için temporal kemikler 2 hafta tamponlanmış fosfat solüsyonunda bekletildi. Bundan sonra 0.1 M Etilen Diamin Tetra Asetikasit Disodiuum (Na-EDTA-Sigma, Germany) solüsyonu hazırlandı ve pH'ı 7.4 olarak ayarlandı. Yaklaşık 3 hafta dekalsifikasyon işlemi sonrasında dokular, derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidrate edildi. Dehidrate edilen dokular, ksilen ile şeffaflaştırıldıktan sonra, parafine gömülerek rutin parafin takip protokolü tamamlandı (Tablo 2). Fiksasyon ve dekalsifikasyon işlemleri boyunca bütün solüsyonlar haftalık olarak değiştirildi. Elde edilen parafin bloklardan 4µ kesitler alınarak, deparafinize ve rehidrate edildikten sonra, Toluidin mavisi ile boyandı ve Olympus BX-51 (Japan) ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Işık mikroskobik inceleme Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Elektron Mikroskobisi

Elektron mikroskobik olarak incelenmesi planlanan koklealar %2.5 gluteraldehit tamponunda 4 °C'de 2 saat tespit edildi. Bu sürenin sonunda tamponlanmış fosfat solüsyonuna konulan dokular burada 1 hafta bekletildi. 0.1M EDTA çözeltisinde 3 hafta

süreli dekalsifikasyon işleminden sonra elektron mikroskop takip protokolü tamamlandı (Tablo 3). Dekalsifikasyon süresince 0.1 M EDTA solüsyonu haftalık olarak değiştirildi ve pH 7.4'te tutulmaya dikkat edildi.

Tablo 2. Rutin parafin takip protokolü

İşlem	**Kullanılan Madde**	**Süre**
Tespit	%10 formalin	2 hafta
Dekalsifikasyon	0.1 M EDTA	3 hafta
Dehidratasyon	%70 alkol %70 alkol %90 alkol %90 alkol %96 alkol %96 alkol %100 alkol %100 alkol %100 alkol	1 saat 1 saat 1 saat 1 saat 1 saat 1 saat 1 saat 1 saat 1 saat
Şeffaflaştırma	Ksilen Ksilen Ksilen	15 dk 15 dk 15 dk
Emdirme (60 °C etüv)	Parafin Parafin	1 saat 1 saat
Gömme	Parafin	

Dokular bu şekilde hazırlandıktan sonra blokların kesim bölgelerini belirlemek amacıyla, yarı ince kesitler alınarak (RML-MTX Ultramikrotom, Tucson, USA), azür mavisiyle boyandı. Belirlenen bölgelerden 40-60 nm kalınlığında ince kesitler alınıp bunlar uranil asetat ve kontrastı artırmak amacıyla Reynold'un kurşun sitrat boyaları ile boyandı. Bu kesitler Jeol 1010 marka elektron mikroskobunda incelenerek fotoğraflandı. Elektron

mikroskobik inceleme Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Tablo 3. Elektron mikroskop takip protokolü

%2.5 Gluteraldehit fosfat (pH :7.3)	4 °C'de 2 saat prefiksasyon
Fosfat tamponu	1 hafta
0.1 *M* EDTA	3 hafta
%1 Osmium tetroksit	4 °C'de 1 saat postfiksasyon
Fosfat tamponu	15 dk yıkama
Dehidratasyon %50 alkol %70 alkol %90 alkol %96 alkol %100 alkol %100 alkol %100 alkol	 10 dakika 10 dakika 10 dakika 10 dakika 20 dakika 20 dakika 20 dakika
Propilen oksit (saydamlaştırma) Propilen oksit I Propilen oksit II Propilen oksit III	 20 dk 20 dk 20 dk
Propilen oksit + araldit (inklüzyon) 3 hacim propilen oksit+1 hacim araldit 1 hacim propilen oksit+1 hacim araldit 1 hacim propilen oksit+3 hacim araldit	 1 saat 1 saat 1 gece
Saf araldite bekletme	1 saat
Kapsüle gömme, etiketleme	
45 °C'lik etüvde bekletme 60 °C'lik etüvde bekletme	1 gün 2 gün

Çalışmanın istatistiksel analizi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi'ndeki Minitab paket programı (S0064 Minitab Release 13, lisans no: wep 1331, 00197) kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analizlerde, normal dağılıma uygunluğu araştırıldıktan sonra, non-parametrik ölçümlerden grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon-T testi, gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

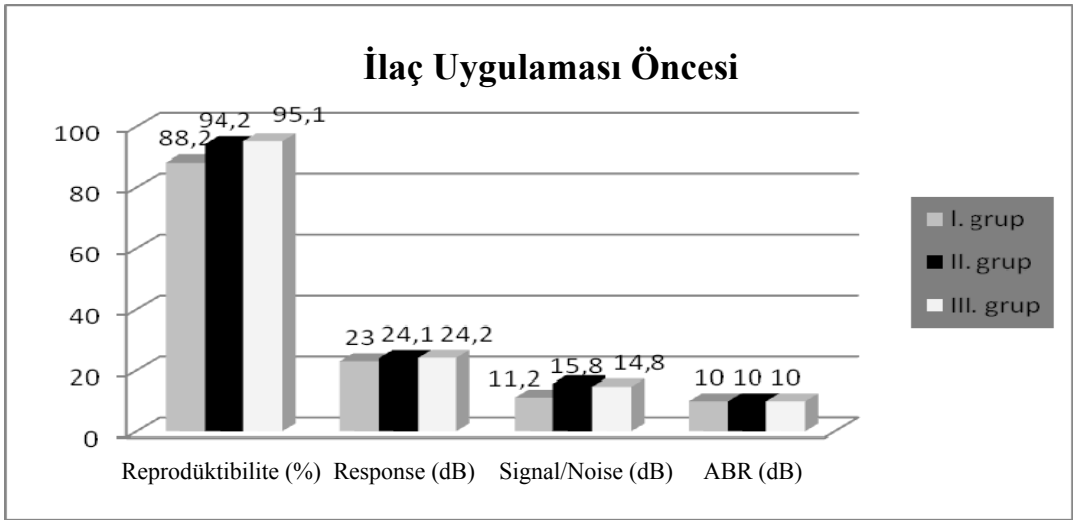
ELEKTROFİZYOLOJİ

Çalışmamızda her bir grupta 5 kobay olmak üzere, ilaç uygulaması öncesi toplam 15 kobaya, ilaç uygulaması yapılan II. ve III. gruplardaki kobaylara ilaç uygulaması sonrası TEOAE ve ABR testleri yapıldı.

İlaç uygulamaları öncesinde I., II. ve III. gruplarda, TEOAE reproduktibilite yüzdesi, response değerleri, S/N oranları ve ABR işitme eşikleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Şekil 8).

Çalışmamızda kontol grubunda (I. grup), yer alan toplam 10 kobay kulağının TEOAE ortalama reprodüktibilite değerleri %88.2±7.9, ortalama response değerleri 23±3.6 dB, ortalama S/N oranları 11.2±3.16, ABR değerleri ise ortalama 10 dB idi (Tablo 4)

Çalışmamızda II. grupta (çalışma grubu) yer alan toplam 10 kobay kulağının TEOAE reprodüktibilite yüzdesi değerlendirildiğinde; cisplatin uygulaması öncesi ortalama %94.2±2.8, uygulama sonrası ise ortalama %51.5±25.4 olarak bulunmuştur. Uygulama öncesi ve sonrası ortalama reprodüktibilite değerleri karşılaştırıldığında, %42.7' lik düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). TEOAE response değerleri incelendiğinde; cisplatin uygulaması öncesi ortalama 24.1±3.1 dB, uygulama sonrası ortalaması ise 8.9±6.2 dB olarak bulunmuştur. Uygulama öncesi ve sonrası ortalama response değerleri karşılaştırıldığında, 15.2 dB'lik düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). TEOAE S/N oranları değerlendirildiğinde; cisplatin uygulaması öncesi ortalama 15.8±4.7 dB, uygulama sonrası ortalaması ise 7.5±5.7 dB olarak bulunmuştur. Uygulama öncesi ve sonrası ortalama S/N oranları karşılaştırıldığında, 8.25 dB' lik düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)(Tablo 4).



Şekil 8. I., II. ve III. gruplar arasındaki ilaç uygulaması öncesi, reprodüktibilite yüzdeleri, response değerleri, Signal/Noise oranları ve işitsel beyin sapı yanıtları

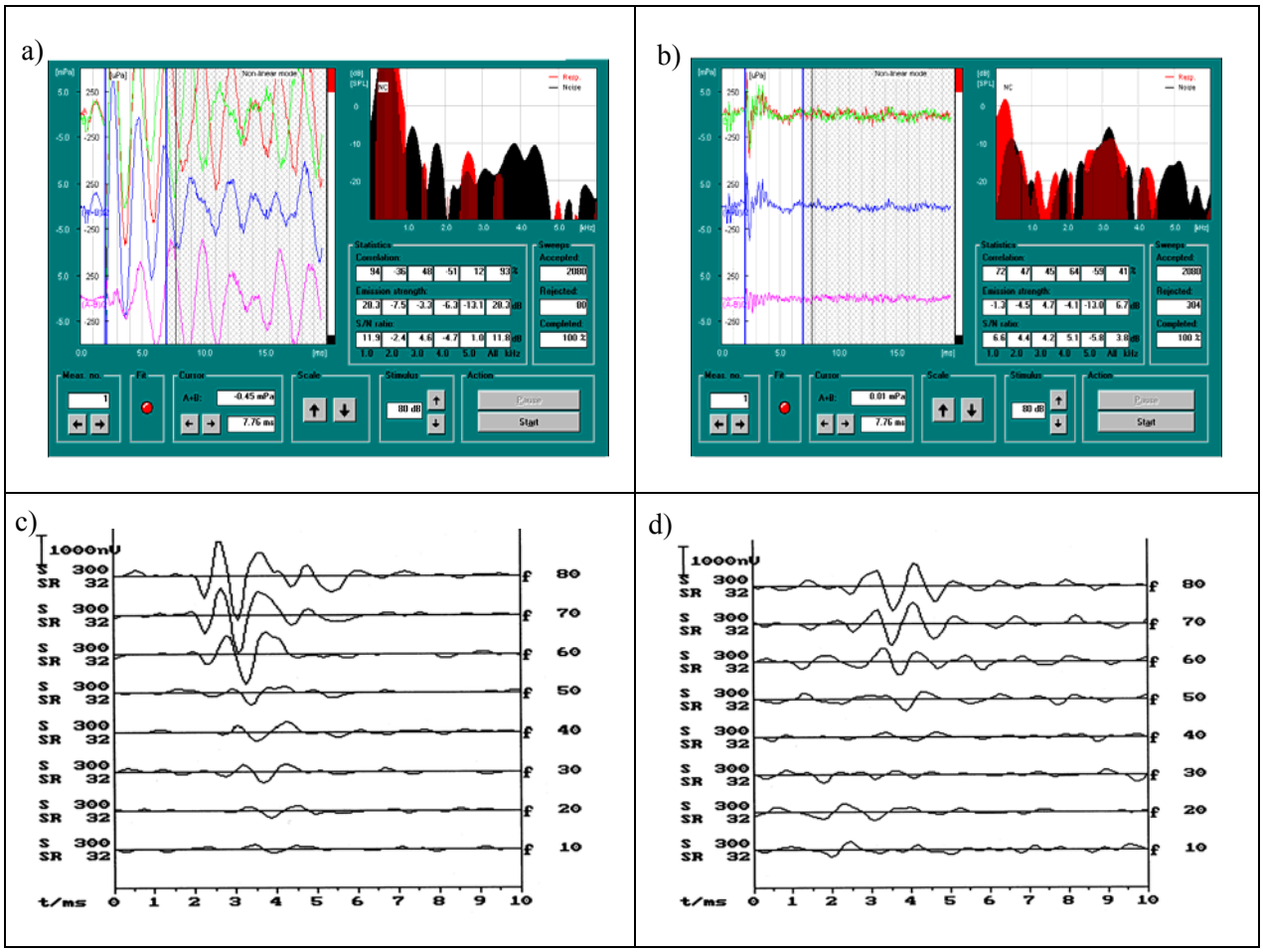
ABR: İşitsel beyin sapı yanıtları

İşitsel beyin sapı yanıtları değerlendirildiğinde işitme eşiği; cisplatin uygulaması öncesi ortalama 10 dB, uygulama sonrası ortalaması ise 40 dB olarak bulunmuştur. İlaç uygulaması öncesi ve sonrası ABR ölçümlerindeki ortalama işitme eşikleri karşılaştırıldığında, 30 dB' lik eşik yükselmesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Cisplatin uygulaması öncesi ve sonrasına ait rekonstrükte formda TEOAE ve ABR kayıtları Şekil 9'da gösterilmiştir. II. grupta, cisplatin uygulaması öncesi ve sonrası ortalama TEOAE reproduktibilite yüzdesi, response değerleri, S/N oranları ve ABR işitme eşikleri Şekil 10'da gösterilmiştir.

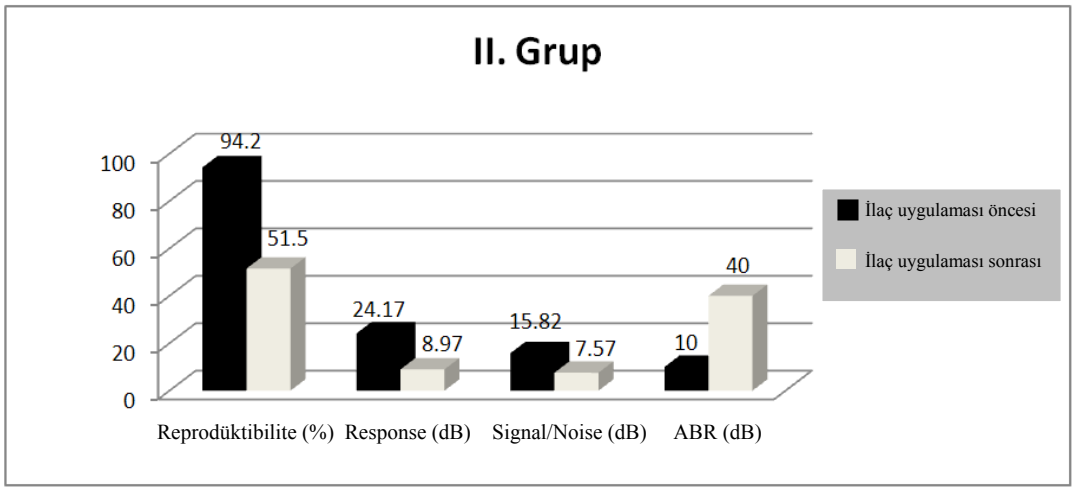
Tablo 4. Cisplatin uygulaması öncesi ve sonrası tüm grupların transient evoked otoakustik emisyon ölçümleri ve işitsel beyin sapı yanıtları ortalama değerleri

Grup (n=10)	**TEOAE**						**ABR (dB)**	
	Reprodüktibilite (%)		Response (dB)		S/N oranı (dB)			
	İ.Ö	İ.S	İ.Ö	İ.S	İ.Ö	İ.S	İ.Ö	İ.S
I	88.2±7.9	-	23±3.6	-	11.2±3.1	-	10	-
II	94.2±2.8	51.5±25.4	24.1±3.1	8.9±6.2	15.8±4.7	7.5±5.7	10	40
III	95.1±4.1	78.1±23.1	24.2±3.5	17.3±9.6	14.8±3.7	9.7±4.6	10	26

İ.Ö: İlaç uygulaması öncesi, **İ.S:** İlaç uygulaması sonrası, **TEOAE:** Transient evoked otoakustik emisyon, **ABR:** İşitsel beyinsapı yanıtları, **S/N:** Signal/Noise



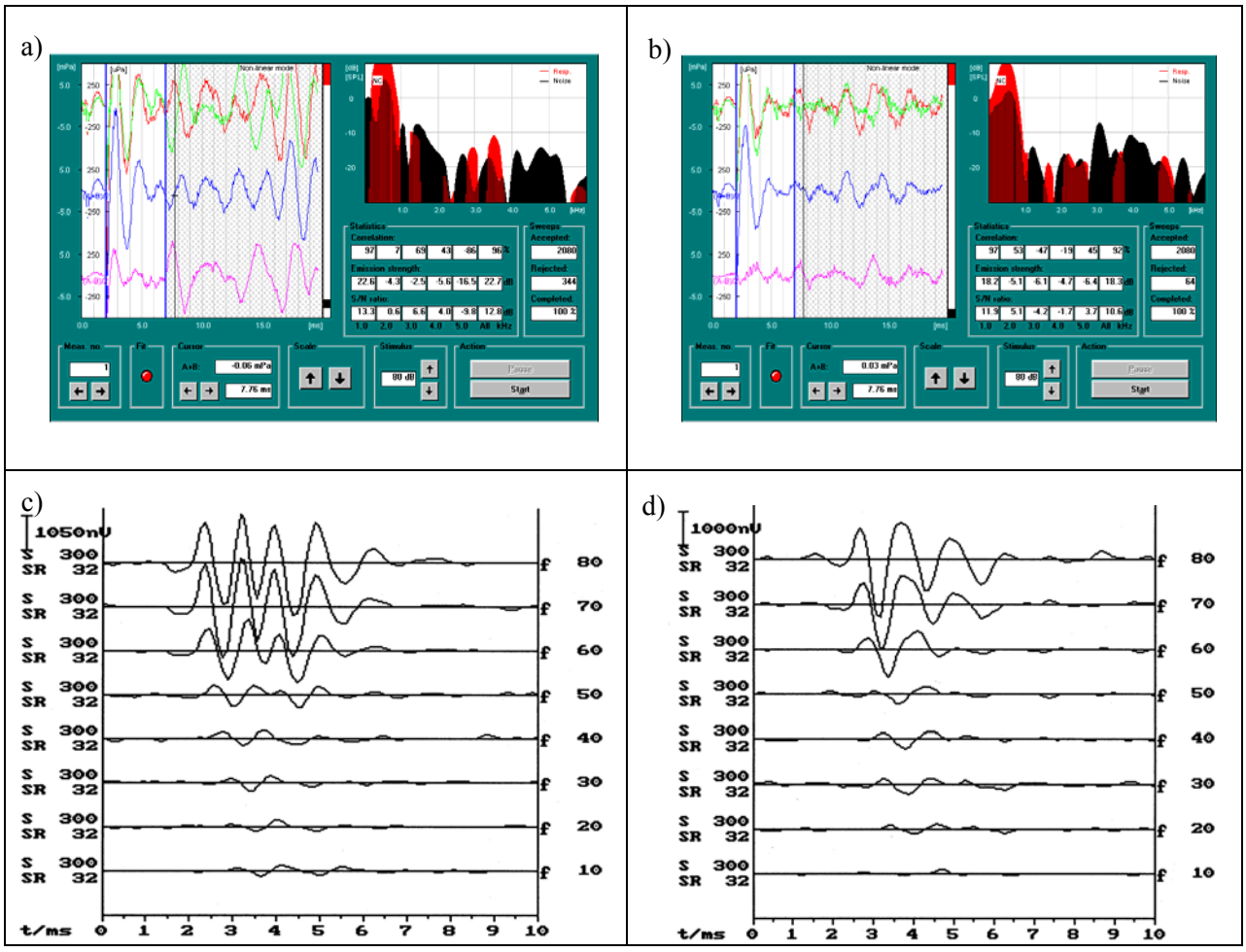
Şekil 9. II. gruptaki bir kobaya ait cisplatin uygulaması öncesi (a, c) ve sonrası (b, d) rekonstrükte formda transient evoked otoakustik emisyon (a, b) ve işitsel beyinsapı yanıtları (c, d) kayıtları



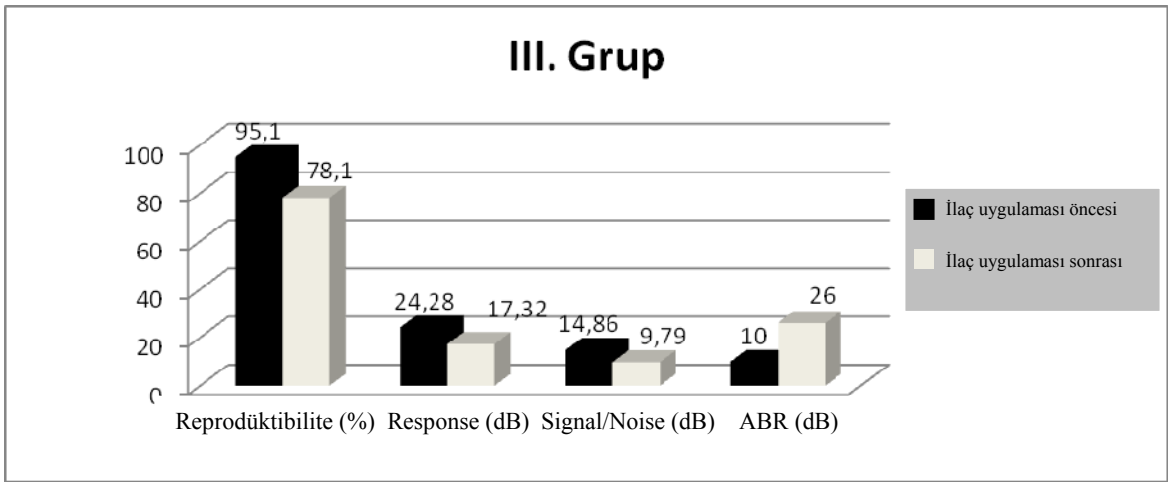
Şekil 10. II. grup cisplatin uygulaması öncesi ve sonrası transient evoked otoakustik emisyon ve işitsel beyin sapı yanıtları ortalama eşikleri

ABR: İşitsel beyin sapı yanıtları

Çalışmamızda III. grupta (çalışma grubu) yer alan toplam 10 kobay kulağının TEOAE reprodüktibilite yüzdesi değerlendirildiğinde; cisplatin + C vitamini uygulaması öncesi ortalama %95.1±4.1, uygulama sonrası ortalaması ise %78.1±23.1 olarak bulunmuştur. İlaç uygulaması öncesi ve sonrası ortalama reprodüktibilite değerleri karşılaştırıldığında, %17' lik düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). TEOAE response değerleri incelendiğinde; cisplatin + C vitamini uygulaması öncesi ortalama 24.2±3.5 dB, uygulama sonrası ortalaması ise 17.3±9.6 dB olarak bulunmuştur. İlaç uygulaması öncesi ve sonrası ortalama response değerleri karşılaştırıldığında, 6.9 dB'lik düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). TEOAE, S/N oranları değerlendirildiğinde; cisplatin + C vitamini uygulaması öncesi ortalama 14.8±3.7 dB, tedavi sonrası ortalaması ise 9,7±4.6 dB olarak bulunmuştur. İlaç uygulaması öncesi ve sonrası ortalama S/N oranları karşılaştırıldığında, 5.07 dB' lik düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Şekil 11'de cisplatin ve C vitamini uygulaması öncesi ve sonrasına ait rekonstrukte formda TEOAE ve ABR kayıtları gösterilmiştir. ABR ölçümleri değerlendirildiğinde ise işitme eşiği; cisplatin + C vitamini uygulaması öncesi ortalama 10 dB, uygulama sonrası ortalaması ise 26 dB olarak bulunmuştur. İlaç uygulaması öncesi ve sonrası ABR ölçümlerindeki ortalama işitme eşikleri karşılaştırıldığında, 16 dB' lik eşik yükselmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p >0.05$) (Tablo 4). Şekil 12'de III. gruba ait cisplatin + C vitamini uygulaması öncesi ve sonrası ortalama TEOAE reprodüktibilite yüzdesi, response değerleri, S/N oranları ve ABR işitme eşikleri gösterilmiştir.



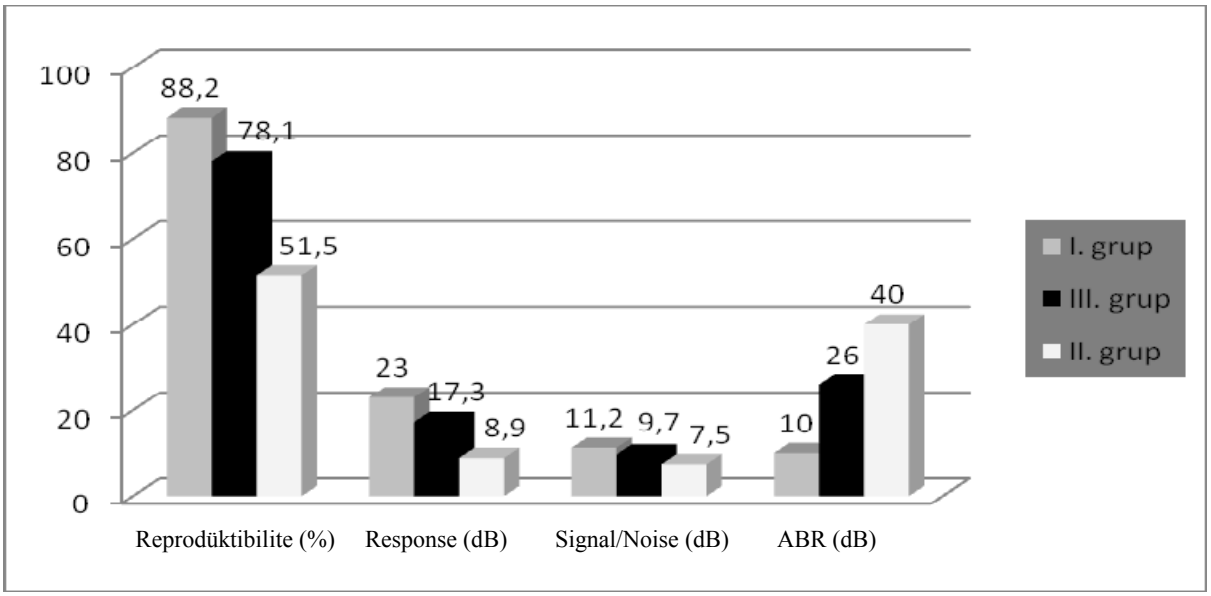
Şekil 11. II. gruptaki örnek bir kobaya ait cisplatin ve C vitamini uygulaması öncesi (a, c) ve sonrası (b, d) rekonstrukte formda transient evoked otoakustik emisyonlar (a, b) ve işitsel beyinsapı yanıtları (c, d) kayıtları



Şekil 12. III. grup cisplatin ve C vitamini uygulaması öncesi ve sonrası transient evoked otoakustik emisyon değerleri ve işitsel beyin sapı yanıtları ortalama eşikleri

ABR: İşitsel beyin sapı yanıtları

Çalışma gruplarında (II. ve III. grup) ilaç uygulamaları sonrasında; TEOAE reproduktibilite yüzdeleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) saptanırken, TEOAE response değerleri, S/N oranlarındaki düşüş ve ABR eşiklerindeki yükselme II. grupta, III. gruba göre daha belirgin olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Şekil 13'te kontrol grubu ve çalışma gruplarının ilaç uygulaması sonrası emisyon parametreleri ile, ABR eşikleri karşılaştırılmalı olarak görülmektedir.



Şekil 13. II. ve III. gruplar arasındaki ilaç uygulamaları sonrası reprodüktibilite yüzdeleri, response değerleri, Signal/Noise oranları ve işitsel beyin sapı yanıtları ortalamaları

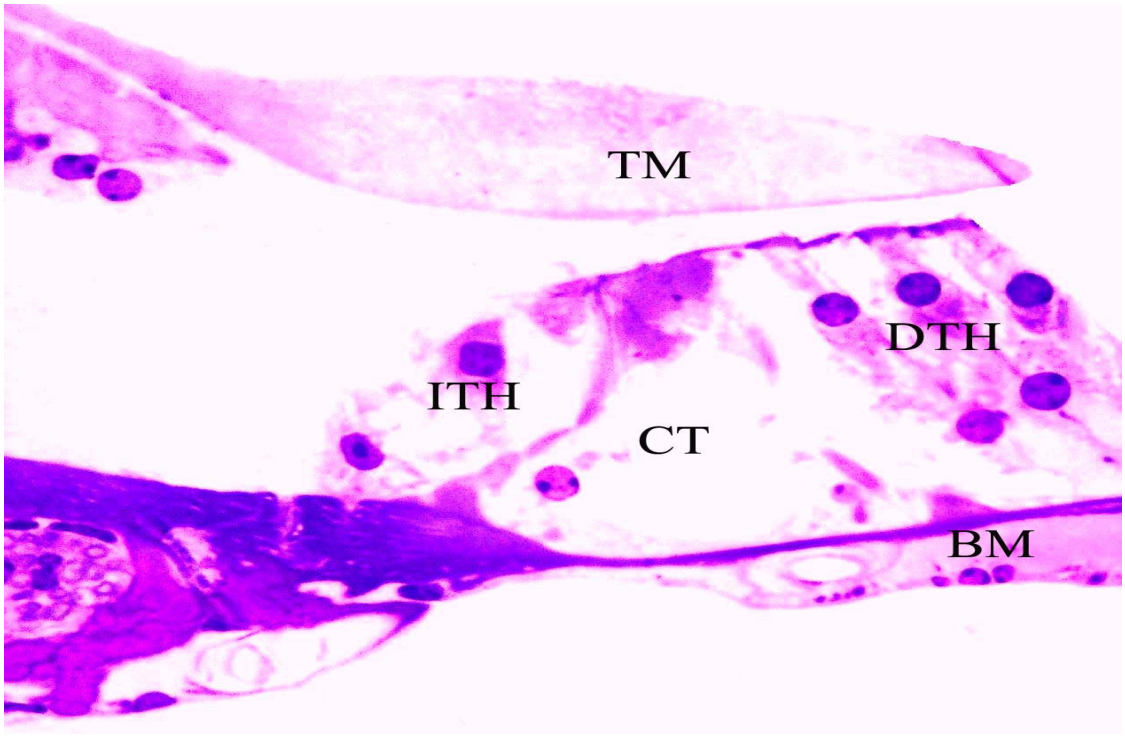
ABR: İşitsel beyin sapı yanıtları

ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME

Işık Mikroskobisi

Çalışmamızda 3 grupta, her gruptan 3 kobay olacak şekilde, toplam 18 kobay kulağının ışık mikroskobisi sonuçları değerlendirildi.

Kontrol grubunun (I. grup) ışık mikroskobisi ile değerlendirmesinde, genel yapının normal histolojik görünümde olduğu izlendi. Corti organı görüntülerinde DTH uzantıları normal yapıda, hücre nükleusları belirgin, sitoplazma yoğunluğunun normal olduğu gözlendi. Tektorial membran, destek hücrelerin nukleusları ve sitoplazmik yapıları doğal olarak izlendi (Şekil 14). Spiral ganglion görüntülerinde normal ganglion yapısı izlendi (Şekil 15).



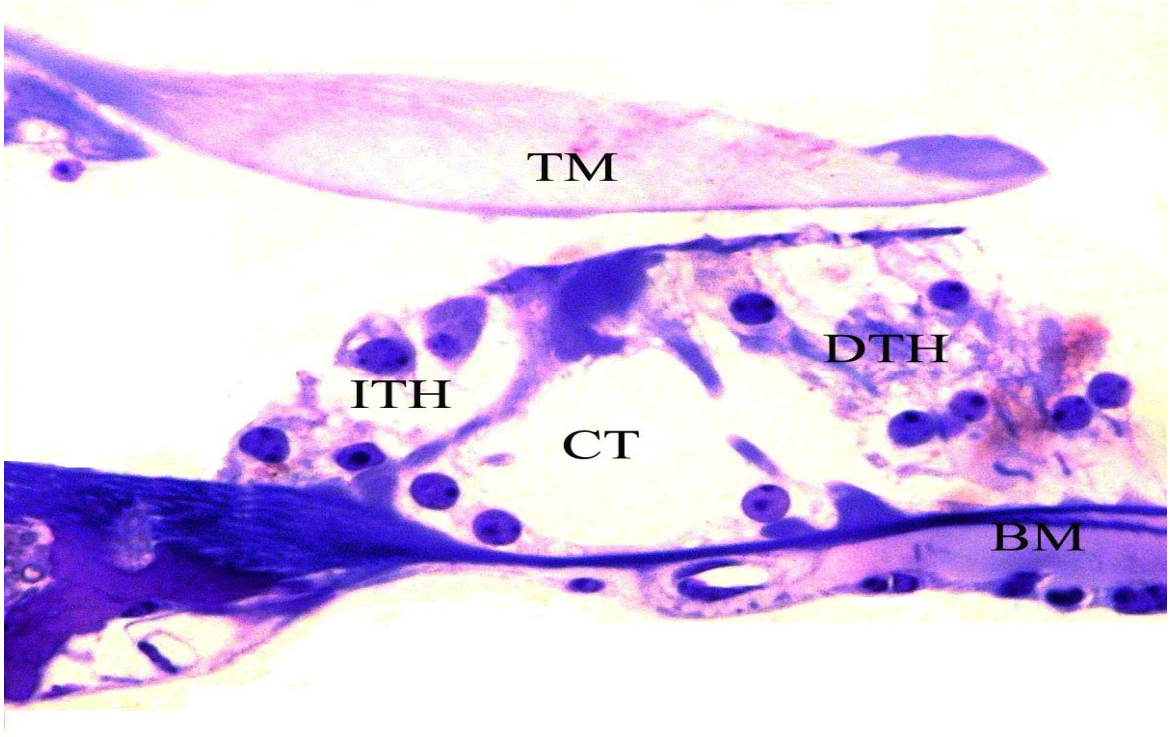
Şekil 14. Kontrol grubu örnek bir kobaya ait, Corti organının ışık mikroskobisi görünümü (Toluidin Mavisi x200)
TM: Tektorial membran**, DTH:** Dış tüylü hücreler, **İTH:** İçtüylü hücreler, **BM:** Baziler Membran, **CT:** Corti tüneli



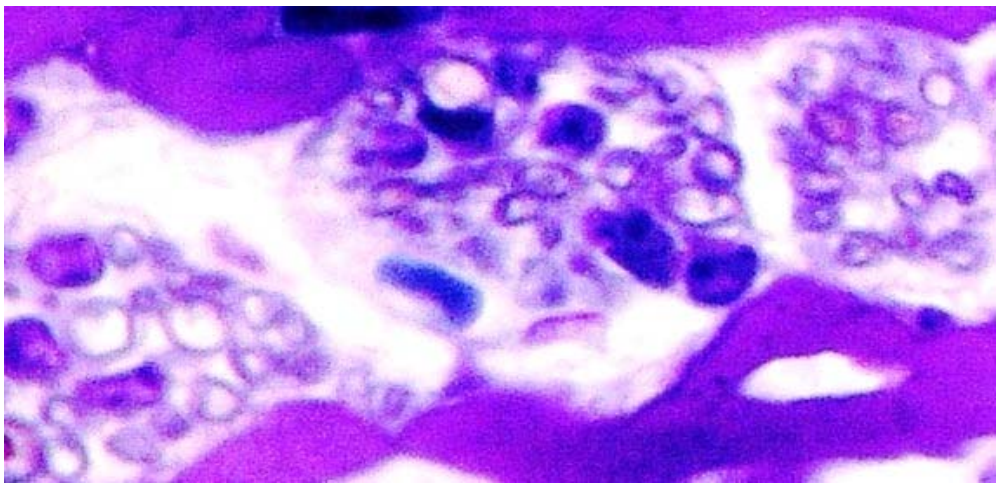
Şekil 15. Kontrol grubu örnek bir kobaya ait, Corti organı spiral ganglionu ışık mikroskobisi görünümü (Toluidin Mavisi x400)

Çalışmamızda II. grupta Corti organı görüntülerinde, tüylü hücre sitoplazmalarında yoğunluğun belirgin olarak arttığı, hücre ve nükleus membranlarının belirginliğini kaybettiği ve retiküler laminanın belirgin olarak inceldiği görüldü. Destek hücrelerinin nükleus,

nükleolus ve sitoplazmik yapılarının bozulduğu, sitoplazmalar içerisinde geniş vakuoller oluştuğu gözlendi. Sinir liflerine ait aksonlarda miyelin kaybı saptandı (Şekil 16,17).

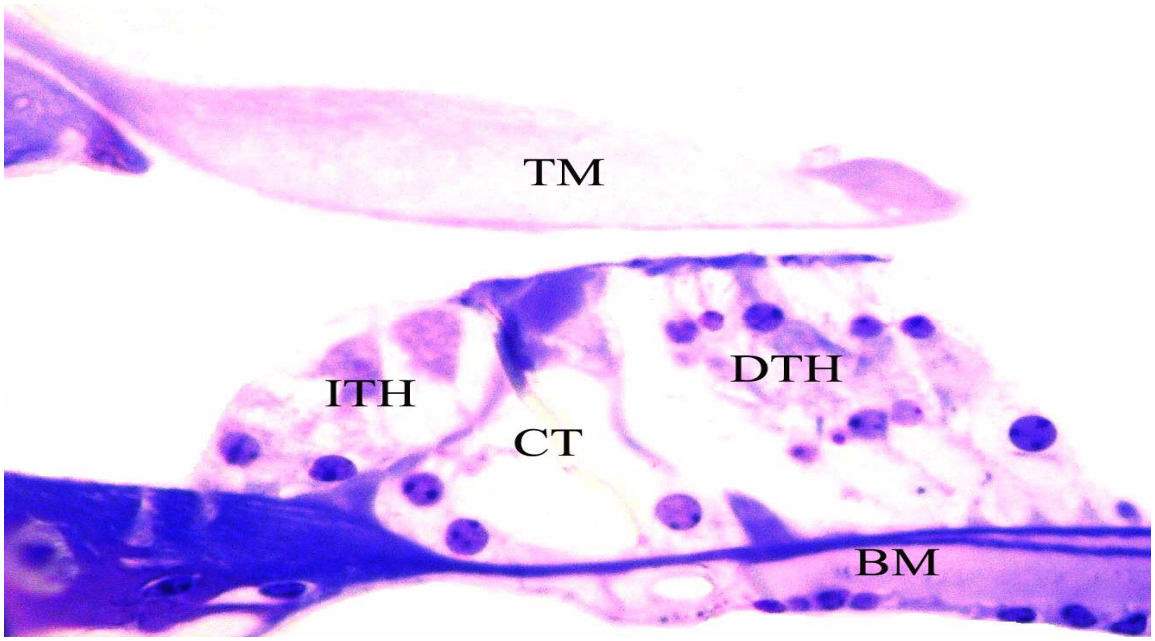


Şekil 16. II. grup örnek bir kobaya ait Corti organının ışık mikroskobisi görünümü (Toluidin Mavisi x200)
TM: Tektorial membran**, DTH:** Dış tüylü hücreler**, İTH:** İç tüylü hücreler,
CT: Corti tüneli, **BM:** Baziler membran

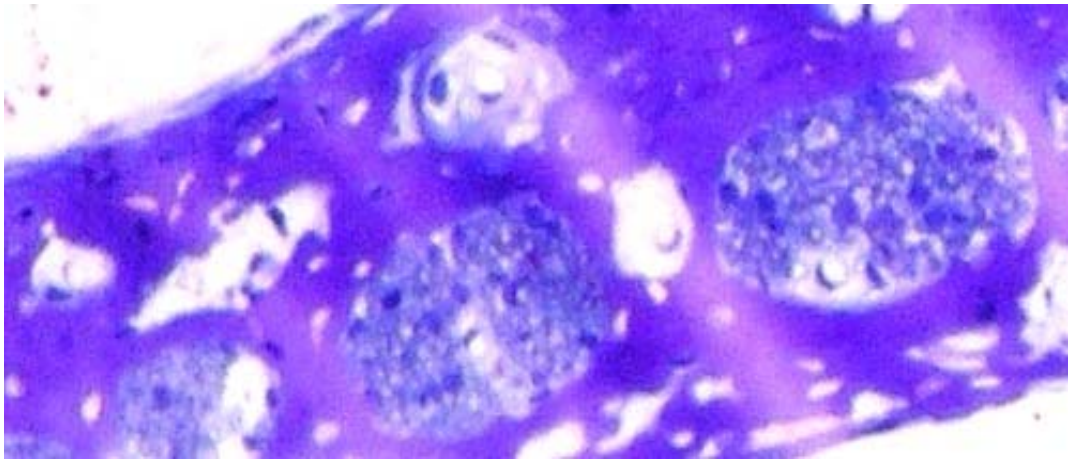


Şekil 17. II. grup örnek bir kobaya ait, Corti organı spiral gangliyonu ışık mikroskobisi görünümü (Toluidin Mavisi x400)

Çalışmamızda III. grupta, Corti organı görüntülerinde, tüylü hücre nükleusları belirgin, sitoplazma yoğunluğu normale yakın gözlendi. Tektorial membran, destek hücrelerin nükleusları ve sitoplazmik yapıları doğal olarak izlendi. Spiral gangliyon görüntülerinde normale yakın gangliyon yapısı izlendi (Şekil 18,19).



Şekil 18. III. grup örnek bir kobaya ait Corti organının ışık mikroskobisi görünümü (Toluidin Mavisi x200)
TM: Tektorial membran, **DTH:** Dış tüylü hücreler, **İTH:** İç tüylü hücreler,
CT: Corti tüneli, **BM:** Baziler membran.

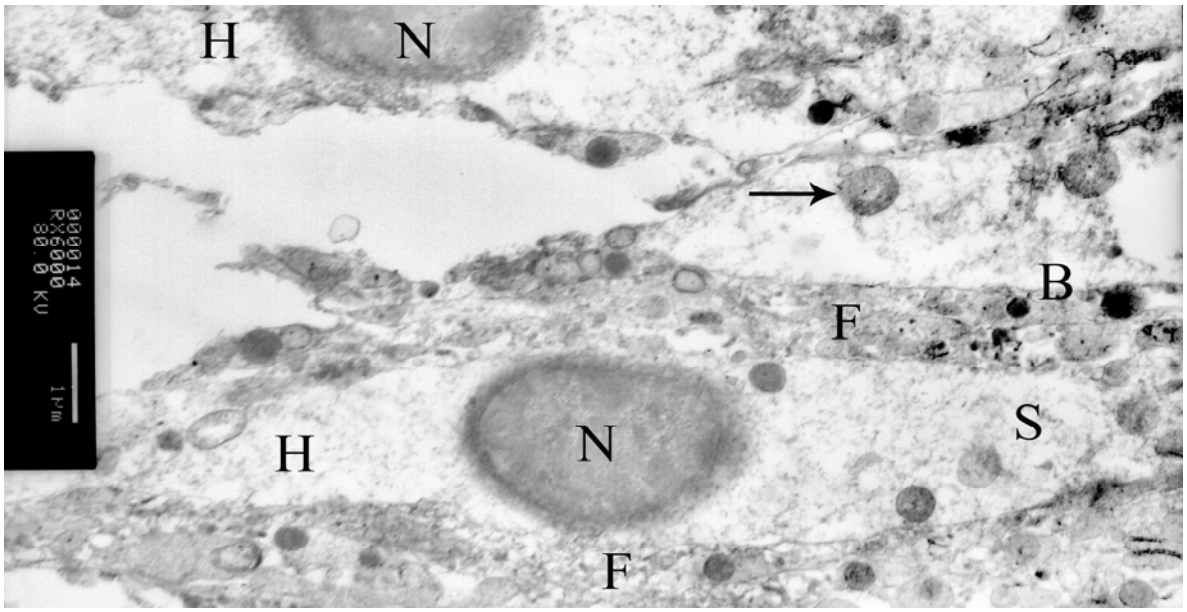


Şekil 19. III. grup örnek bir kobaya ait, Corti organı spiral gangliyonu ışık mikroskobisi görünümü (Toluidin Mavisi x400)

Elektron Mikroskobisi

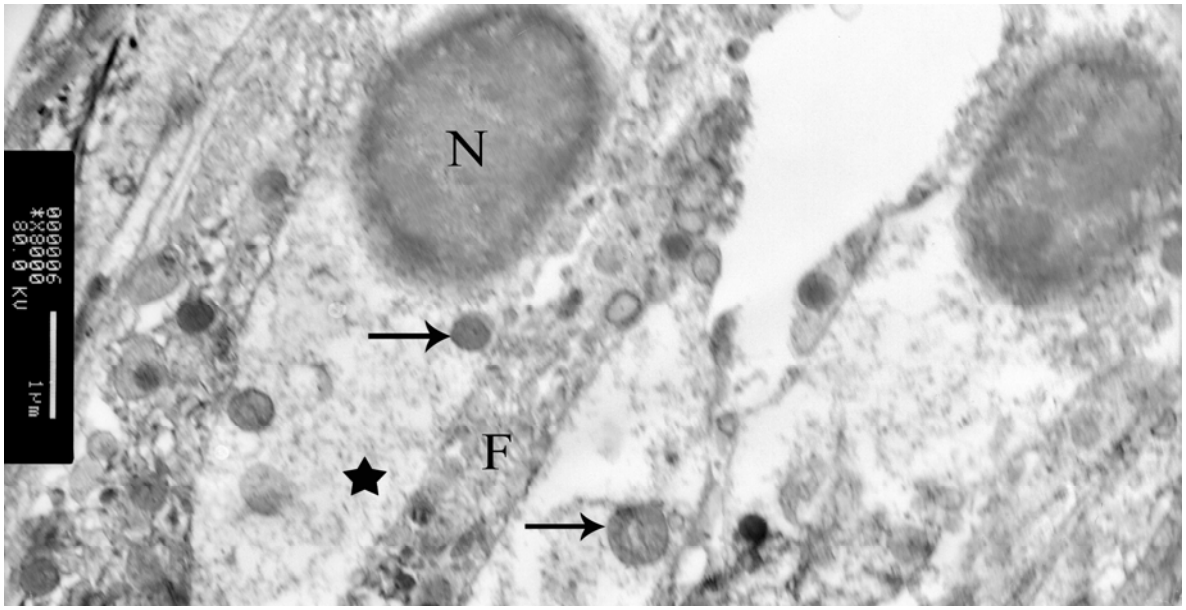
Çalışmamızda 3 grupta, her gruptan 2 şer kobay olacak şekilde, toplam 12 kobay kulağının elektron mikroskobisi sonuçları değerlendirildi.

Kontrol grubunun elektron mikroskobik incelenmesinde kokleada reseptör elementlerin iç ve DTH'leri izlendi. İTH'ler uzanmış şekilde idiler. Apikallerde homojen kutikula ve stereosilyalar tespit edildi. Nükleuslar genellikle hücrelerin bazal bölgelerinde izlenmekteydi. Sitoplazmada mitokondri, golgi aparatı, sitomembranlar ve diğer organeller görülmekteydi. DTH'ler silindirik formlarda idiler. Apikallerde kutikula ve stereosilyalar izlendi. Bununla birlikte çok miktarda destek hücreleri (Deiter's hücreleri ve diğerleri) görülmekteydi. Ayrıca spiral gangliyonun nöronları, afferent ve efferent miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri ve onların sinaptik terminalleri tespit edildi (Şekil 20,21).



Şekil 20. Kontrol grubuna ait örnek bir kokleada dış tüylü hücreler ve sinir hücreleri x6000

H: Dış Tüylü Hücre, **N:** Nukleus, **F:** Filament, → **:** Mitokondri, **B:** Sinir Hücresi.



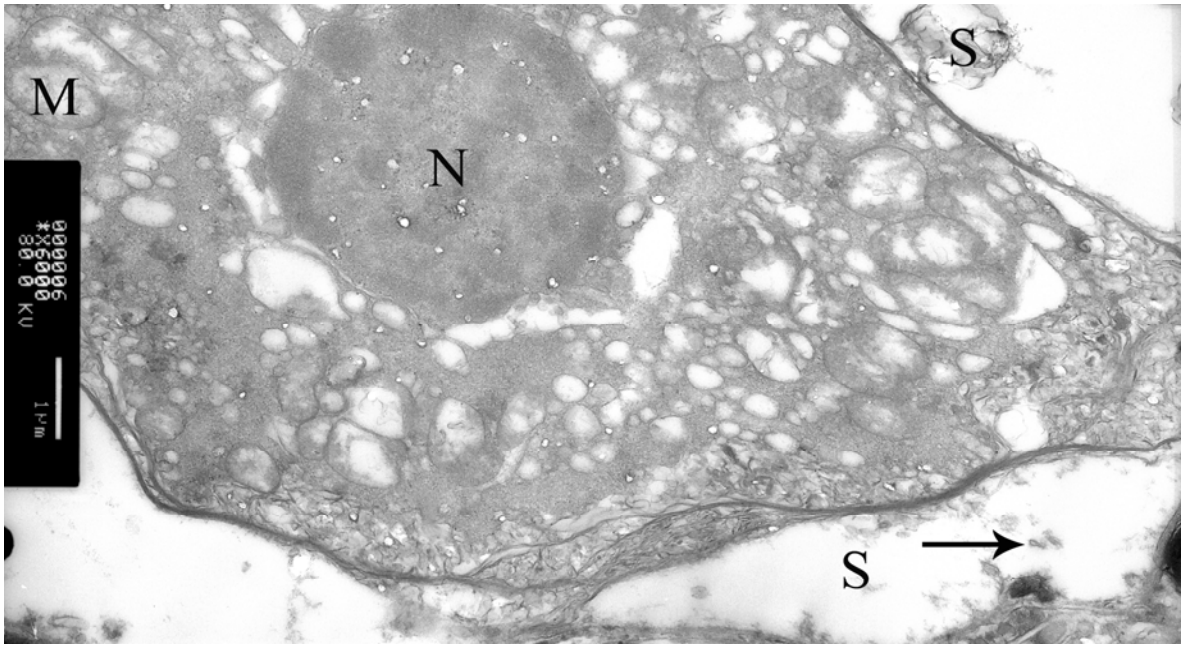
Şekil 21. Kontrol grubuna ait örnek bir kokleada dış tüylü hücreler x8000

N: Nukleus, **F:** Filament, →**:** Mitokondri, ★**:** nörofibril

Çalışmamızda II. grubun elektron mikroskobik incelemesinde, cisplatin uygulaması sonrası kokleanın bazı bölgelerinde ultrastrüktürel olarak distrofik değişiklikler saptandı. Hücrelerin birçoğunda nukleus membranlarında kalınlaşma, nukleoplazma yoğunluğunda artış, kromatin konglomeratlarının diffüz şekilde toplanma, sitoplazmada mitokondrilerde saydamlaşma, vakuollerin oluşması, kristaların dağılması ve endoplazmik retikulumun genişlemesi gibi distrofik durumlar gözlendi (Şekil 22,23,24).

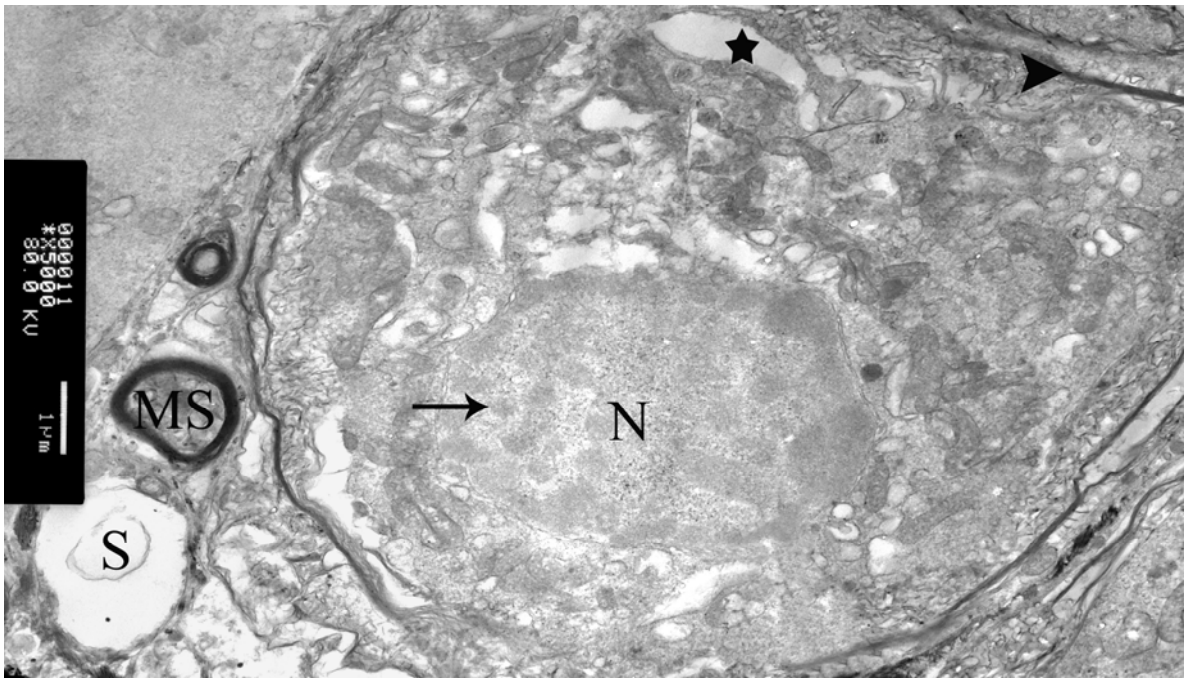
Bazı bölgelerde ise ultrastrüktürel düzeyde belirgin aktivasyon ve organellerin hiperfonksiyonu dikkat çekmektedir.

Spiral gangliyonların nöronlarında organellerin proliferasyonu izlendi. Schwann hücrelerinin aktivitesine bağlı olarak çok miktarda konsantrik plazma membranları gözlendi (Şekil 24,25). Bu membranlar, aksonların çevresinde myelin tabakaları oluşturmaktadır. Çok miktarda yeni sinir oluşumları dikkat çekmektedir (Şekil 26,27). Bazı bölgelerde ise DTH kaybının yanı sıra destek hücrelerin sitoplazmasında olan özel filamentlerin kalınlaşması ve dezorganizasyonu gözlendi (Şekil 28).



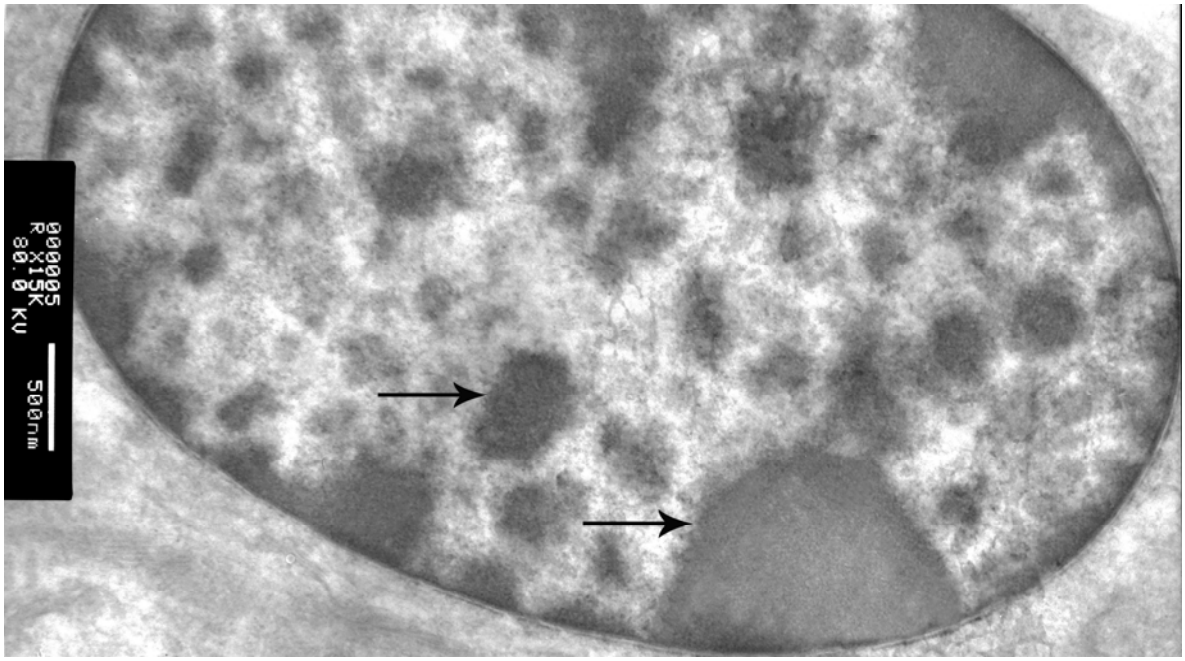
Şekil 22. II. gruba ait örnek bir kobayın kokleer sinir hücrelerinin distrofik değişiklikleri x6000

N: Nukleus, **M:** Mitokondri, **S:** Sinaptik terminal, ⟶**:** Asetil kolin granülleri.

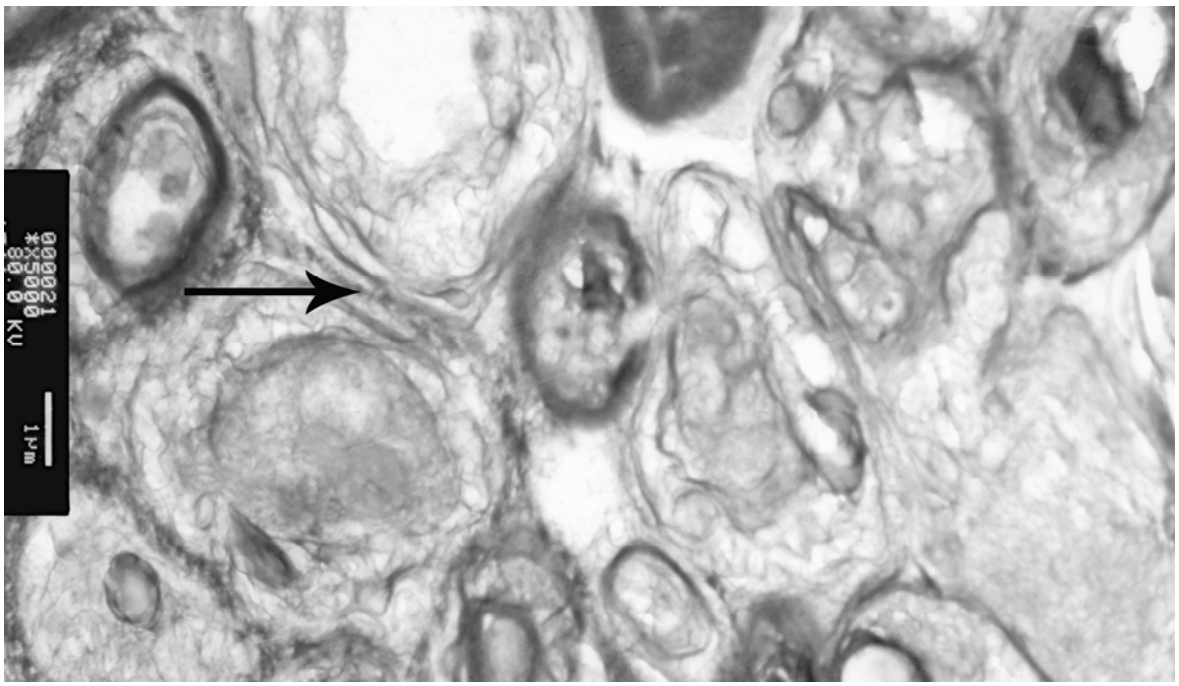


Şekil 23. II. gruba ait örnek bir kobayın kokleer sinir hücrelerinde distrofik değişiklikleri ve organellerin proliferasyonu x5000

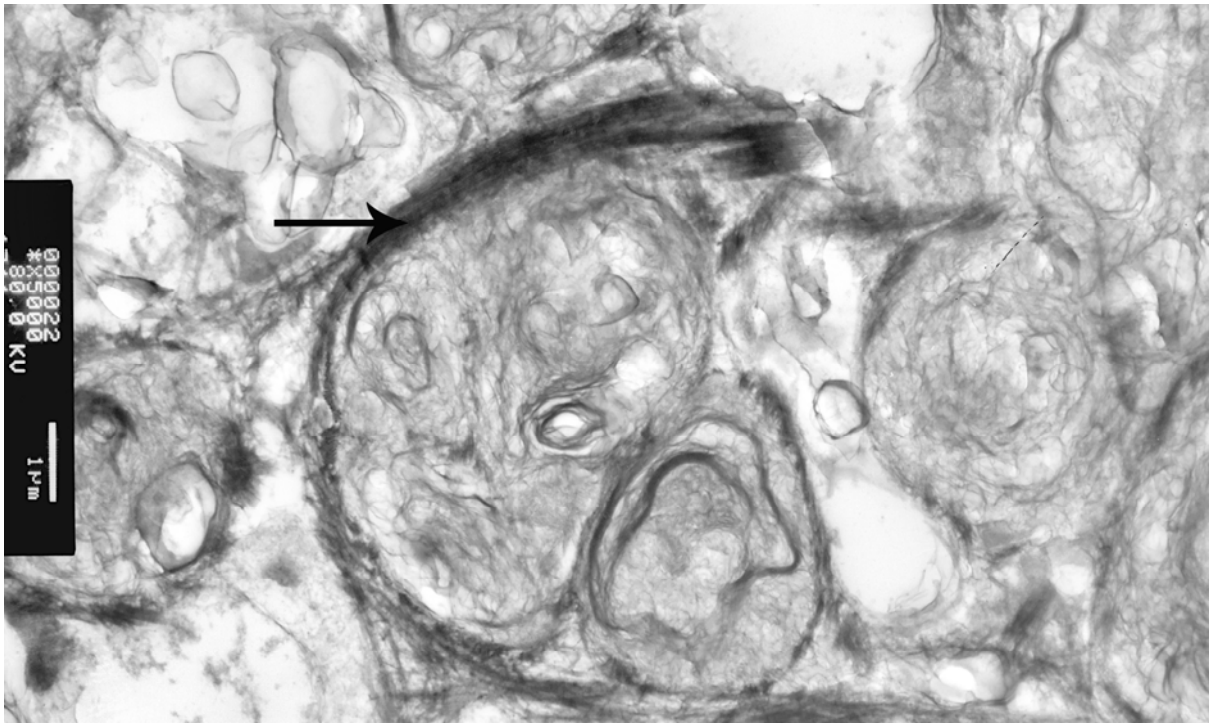
N: Nukleoplazma,⟶**:** Kromatin konglomeratları, ★: Endoplazmik Retikulumun genişlemesi, **MS:** Miyelinli Sinir, **S:** Miyelinsiz Sinir.



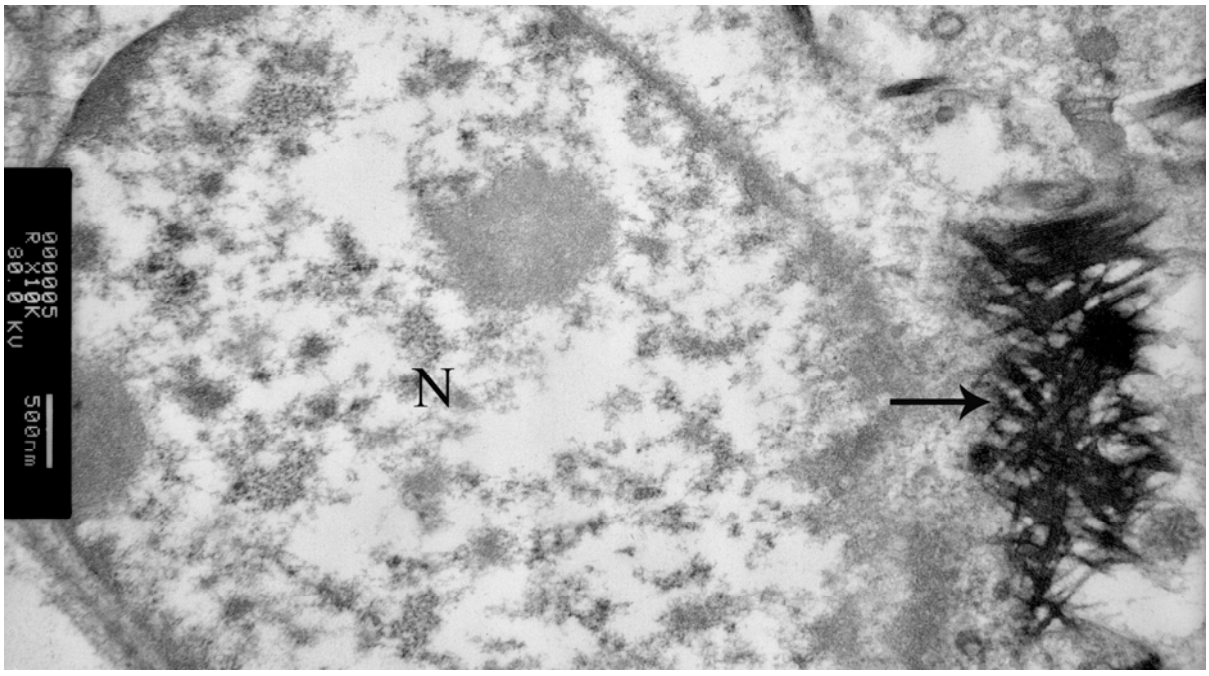
Şekil 24. II. gruba ait örnek bir kobayın kokleer sinir hücrelerinde nükleoplazmada kromatin kalınlaşması (→) x15000



Şekil 25. II. gruba ait örnek bir kobayın spiral gangliyon nöronlarında ve sinapslarda belirgin aktivasyon (→) x5000

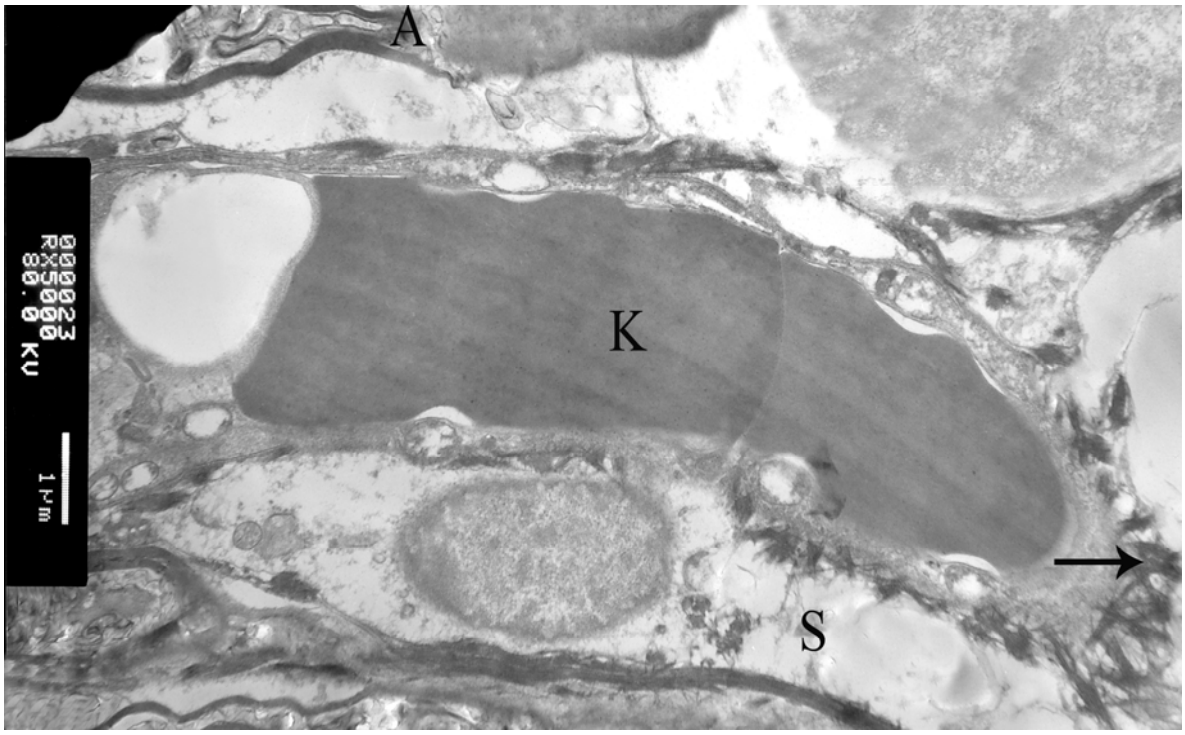


Şekil 26. II. gruba ait örnek bir kobayın Schwann hücrelerinin plazma membranları, akson çevresinde konsantrik olarak miyelin tabakaları yaparak (→) yeni sinirleri oluşturmakta x5000



Şekil 27. II. gruba ait örnek bir kobayın kokleer destek hücrelerin sitoplazmasında filamenterin kalınlaşması ve dezorganizasyonu x10000
N: Nukleus, → **:** Filament.

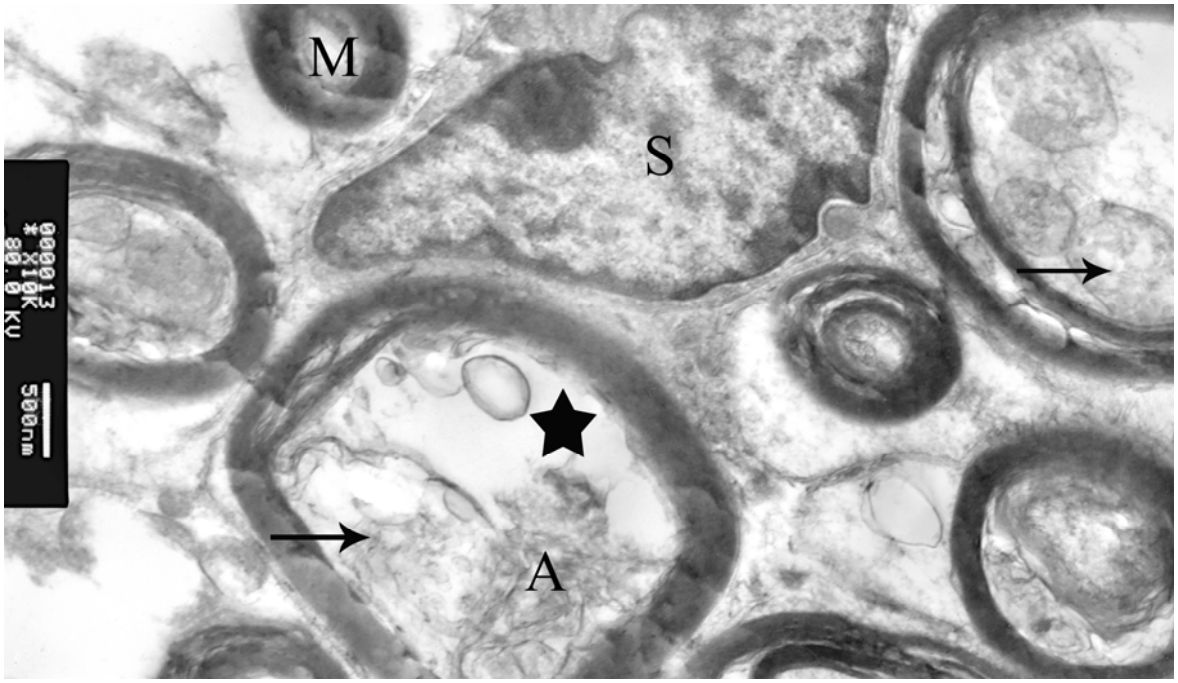
Cisplatin ile birlikte C vitamini uygulaması sonrası reseptör ve destek hücre yapıları normal şekilde gözlendi. Reseptör hücrelere ait stereosilya demetlerinin korunduğu gözlendi (Şekil 28).



Şekil 28. III. gruba ait örnek bir kobayın, Corti organı reseptör hücrelerin kutikülası ve stereosilya demetleri x5000

K: Kutikula, →Sterosilya, **S:** Sinir Hücresi, **A:** Miyelinli Akson

III. grupta, cisplatin ile birlikte C vitamini uygulaması sonrası spiral gangliyon nöronları, miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri, sinir liflerinin terminalleri ve schwann hücreleri normal şekilde izlendi (Şekil 29).



Şekil 29. III. gruba ait örnek bir kobay spiral gangliyonu, miyelinli sinirler, aksoaksonal ve dendritik sinapslar, sinaptik veziküller x10000

M: Miyelinli sinir, ★ **:** Aksoplazma, → : Sinaptik terminal, **S:** Schwann hücresi, **A:**Sinaptik vezikül

Çalışmamızda 3 grupta toplam 30 kobay kulağının ilaç uygulaması öncesi ve çalışma gruplarının ilaç uygulaması sonrasına ait TEOAE reprodüktibilite yüzdeleri, response değerleri, S/N oranları ve ABR eşik ortalamaları genel veri tablosunda gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Genel veri tablosu

Grup		**TEOAE**						**ABR(dB)**	
		Reprodüktibilite (%)		**Response (dB)**		**S/N oranı (dB)**			
		İ.Ö	İ.S	İ.Ö	İ.S	İ.Ö	İ.S	İ.Ö	İ.S
I	Kulak 1	84		24.2		9.4		10	
	Kulak 2	92		25.5		11.5		10	
	Kulak 3	96		26.4		16.5		10	
	Kulak 4	75		26.7		8.4		10	
	Kulak 5	91		25.2		8.2		10	
	Kulak 6	89		20.8		12.5		10	
	Kulak 7	98		26.4		14.7		10	
	Kulak 8	75		17.8		6.3		10	
	Kulak 9	90		17.8		13		10	
	Kulak10	92		19.3		12.2		10	
II	Kulak 1	98	91	24.6	14.5	21.2	13.7	10	10
	Kulak 2	98	20	24.2	3.2	22.9	1.8	10	60
	Kulak 3	91	41	21.8	9.4	13	3.3	10	50
	Kulak 4	93	54	19.4	7	11.5	6.6	10	30
	Kulak 5	93	45	29.3	12	15	6.1	10	50
	Kulak 6	94	98	22.7	22.7	15.1	20.7	10	10
	Kulak 7	98	43	23.1	2.3	22.9	2.7	10	60
	Kulak 8	93	34	28.3	8	11.8	4.9	10	40
	Kulak 9	91	57	22	3.6	11.2	7.9	10	30
	Kulak10	93	32	26.3	7	13.6	8	10	60
III	Kulak 1	98	41	21.5	6.7	21	3.8	10	40
	Kulak 2	94	58	18.6	6.7	14.8	5.9	10	50
	Kulak 3	98	95	26.1	23.2	15.9	11.5	10	10
	Kulak 4	96	98	22.7	27.5	12.8	15.9	10	10
	Kulak 5	98	93	29.2	26.6	11.8	9.4	10	10
	Kulak 6	97	60	22.1	7.9	19.8	5.7	10	60
	Kulak 7	84	49	21.4	5	10.8	4.7	10	50
	Kulak 8	94	97	27.9	25.5	10.5	15.4	10	10
	Kulak 9	96	98	28.6	25.8	13.3	15	10	10
	Kulak10	96	92	24.7	18.3	17.9	10.6	10	10

İ.Ö: İlaç uygulaması öncesi, **İ.S:** İlaç uygulaması sonrası, **TEOAE:** Transient evoked otoakustik emisyon, **ABR:** İşitsel beyinsapı yanıtları, **S/N:** Signal/Noise

TARTIŞMA

Cisplatin hem erişkin hem de çocuklarda kullanılabilen, önemli bir antineoplastik ajandır. Pek çok organ kanserlerinde kullanılabildiği gibi baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde de günümüzde en çok kullanılan ve en etkili kemoterapötik ilaçtır (99). En önemli yan etkilerinden biri ototoksisite olup, nefrotoksisite, mukozite bağlı gastrointestinal toksisite, kemik iliği baskılanması ve periferik nöropati bilinen diğer yan etkileri oluşturmaktadır (8). Cisplatin ile ortaya çıkan ototoksisite, bilateral, progresif ve sıklıkla geri dönüşümsüz olup en sık 4000-12000 Hz olmak üzere yüksek frekanslarda ortaya çıkar (31). Ototoksisite, cisplatin kullanımının majör güçlüğünü oluşturur, hastanın hayat kalitesini düşürür ve tedavi protokolünü sınırlar. Ototoksisite, cisplatin kullanımında tek başına, doz kısıtlayıcı faktör olarak kabul edilir (8). Yakın zamanda yapılan bir araştırmada, intravenöz cisplatin tedavisi alan erişkin hastaların %88'inde işitme kaybı meydana gelmiş olup, bu hastaların %49'u tedavi sonrası işitme cihazı kullanmaya aday oldukları saptanmıştır (32).

Cisplatin tedavisine bağlı ototoksisite insidansı tedavi protokolüne göre farklılık göstermektedir. Bokemeyer ve ark. (100) yaptıkları analizde, testiküler kanser nedeniyle 400 mg/m^2 kümülatif cisplatin dozu ile yapılan tedavi sonrasında ototoksisite insidansını araştırmış ve çalışmaya dahil edilen 86 olgunun 17'sinde (%20) ototoksisite semptomlarına rastlamıştır. Bu hastaların %18'i ototoksisite semptomlarını çok rahatsız edici, %41'i orta derecede rahatsız edici bulurken, %41'i hafif derecede rahatsız edici olarak tarif etmişlerdir. Ancak odyolojik incelemeler, ototoksisite insidansının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu hastaların %36'sında kemoterapi ile ilişkili anlamlı eşik yükselmesi saptamışlardır.

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda kullanılan cisplatin dozu, uygulama yolu ve uygulama süresi oldukça farklılık göstermektedir. Nakai ve ark (101) albino guinea piglerde yaptıkları çalışmada, 5 gün boyunca intramuskuler 2 mg/kg/gün cisplatin tedavisi sonrası 3. günden sonra bazal ve orta kıvrımdaki DTH'nin kaybına bağlı olarak ABR amplitüdlerinde azalma saptamışlardır.

Laurell ve Engstrom(102), Laurell ve Bagger Sjoback (103), tekrarlanan düşük doz (1 mg/kg/gün, 5 hafta boyunca, haftada 5 gün) intraperitoneal cisplatin tedavisinin, tek ve yüksek doz (8 mg/kg veya 12,5 mg/kg) intravenöz cisplatin tedavisinden daha fazla ve kalıcı işitme kaybına neden olduğunu saptamışlardır.

Cardinaal ve ark. (104)'nın albino guinea piglerde yaptığı çalışmada, 8 gün boyunca 0.7, 1.0, 1.25, 1.5 ve 2.0 mg/kg/gün cisplatin uygulaması sonrası 10. günde elektrokokleografi yapmışlar daha sonra temporal kemikleri histolojik olarak incelemişlerdir. 0.7, 1.0, 1.25 mg/kg/gün dozlarında DTH kaybı gözlenmezken, 1.5 ve 2.0 mg/kg/gün cisplatin tedavisi verilen hayvanların temporal kemik incelemelerinde DTH kaybı sırasıyla %60 ve %65 olarak gözlenmiştir. Stria vaskülaristeki morfolojik değişiklikler sadece 1.0, 1.25 ve 1.5 mg/kg/gün cisplatin dozu kullanılan hayvanlarda izlenmiştir. Bu çalışma göstermiştir ki, 8 gün boyunca günlük 1,5 mg/kg/gün cisplatin kullanılan guinea piglerde dış tüylü hücre kaybı oluşmaktadır. Biz de yaptığımız çalışmada, pigmente guinea piglere, 8 gün boyunca 1,5 mg/kg/gün ip cisplatin uyguladık. İlaç uygulaması bitiminden 48 saat sonra elektrofizyolojik incelemeleri tekrarladık ve temporal kemikleri histolojik çalışma için hazırladık.

Ototoksik ilaca bağlı olarak oluşan koklear hasarı takip etmek amacıyla OAE ve ABR ölçüm yöntemleri karşılaştırmalı olarak kullanılmaktadır (105,106). Cisplatinin hem yüksek hem de düşük kümülatif dozlarda koklear hasara yol açtığı OAE, ABR ve elektrokokleografik yöntemlerle gösterilmiştir (31,105,107). Stavroulaki ve ark. (108) yaptıkları prospektif bir çalışmada, düşük doz cisplatin (50 mg/m2) kullanılan çocuklarda, 1. kür sonrasında, azalmış işitme düzeyinin erken tanısı için TEOAE ve DPOAE testlerinin etkinliğini pür ton odyometri ile karşılaştırmışlardır. Ototoksisite takibinde DPOAE, pür ton odyometri ve TEOAE testlerine göre minör kokleer disfonksiyonu saptamakta daha duyarlı olduğunu saptamışlardır. Pür ton odyometri testindeki benzer frekanslarda eşik değişikliği olmazken, DPOAE amplitüdlerinde belirgin düşüş izlenmiştir.

Sockalingam ve ark. (105) cisplatin ototoksisitesinde kokleada dış tüylü hücrelerin fonksiyonel durumunu gösteren en duyarlı metotların TEOAE ve DPOAE testleri olduğunu

belirtmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada, pigmente guinea piglere 8 gün boyunca, günde tek doz 1,5 mg/kg cisplatin uygulaması sonrası toplam 10 kulağın iki tanesinde TEOAE ve ABR yanıtlarında değişiklik gözlenmezken diğer sekiz kulakta (%80) kötüleşme izlendi. Cisplatin ile birlikte 300 mg/gün C vitamini uygulanan kobaylarda ise, toplam 10 kulağın 6 tanesinin TEOAE ve ABR yanıtlarında değişiklik gözlenmezken, diğer dört kulakta azalma (%40) gözlendi. İlaç uygulaması öncesi yapılan elektrofizyolojik testlerle, ilaç uygulaması bittikten sonra tekrarlanan testlerin TEOAE sonuçları karşılaştırıldığında, sadece cisplatin uygulanan grupta reproduktibilite, response değerleri, S/N oranlarında düşüş, ABR eşiklerinde ise eşik artışı saptandı. Cisplatin ile birlikte C vitamini kullanılan diğer çalışma grubunda ise ilaç uygulaması öncesine göre ilaç uygulaması sonrası TEOAE reproduktibilite ve response değerlerinde düşüş saptanırken, S/N oranlarında azalma ve ABR eşikleri artış saptandı.

Koruyucu ajan kullanılmayan grup (II. grup) ile koruyucu ajan kullanılan grup (III. grup) karşılaştırıldığında; TEOAE reprodüktibilite değerlerindeki düşüş, II. grupta, III. gruba göre belirgin olarak daha fazla idi. TEOAE response değerleri ve S/N oranları karşılaştırıldığında, III. gruptaki düşüş, II. gruba göre daha az idi. ABR eşikleri arasındaki fark ta, TEOAE değerlerini desteklemekteydi ve III. gruptaki eşik yükselmesi, II. gruba göre daha az idi.

Deneysel anatomik çalışmalarda, cisplatin uygulaması sonrası kokleada hasara uğrayan bölgenin, DTH kaybının eşlik ettiği Corti organı olduğu ve bu hasarın bazalde daha yoğun olmak üzere, kokleanın tüm kıvrımlarında olduğu gözlenmiştir (31,107). Meech ve ark. (109) ve Campbell ve ark. (110)'nın yaptığı çalışmada tek ve yüksek doz cisplatin enjeksiyonu sonrasında rat kokleasının bazal dönümünde 3 gün içinde strial volüm artışı izlenmiştir. Sluyter ve ark. (111) cisplatinin kronik kullanımı sonrasında guinea pig kokleasında bazal dönümde strial alanda azalma saptamışlardır. Cisplatin alımı sonrasında, strial disfonksiyonun histolojik göstergesi olabilecek endolenfatik hidrops bulguları izlenmiş ve Reissner membranının Corti organı üzerine katlanması gözlenmiştir (44,45).

Sergi ve ark. (112)'nın ışık mikroskobu ile yaptıkları çalışmada Cisplatin verilen guinea piglerde, birbirleri arasında farklılıklar olmakla birlikte kokleanın bazal ve orta kıvrımlarında DTH kaybı, İTH hasarı, bazal kıvrımda Korti tüneli ve Nuel boşluğunda kayıp izlenmiş olup, İTH ve spiral ganglion hücreleri daha çok korunmuştur.

Cisplatinin periferik duysal sinirleri etkileyerek hastalarda periferik nöropati oluşturduğu bilinmektedir (113). Bilinen bu etki kokleanın duyusal elementleri üzerinde de

beklenmektedir. Yapılan çalışmalarda postnatal rodent koklea ve spiral ganglion kültürlerinde, stria vaskülariste dejenerasyon (114,115), Reissner membranında kollaps, spiral ganglion hücrelerinde sayıca azalma ve nöronal ölüm izlenmiştir (108,116-119). Cisplatin verilen (≤ 1,5 mg/kg/gün) erişkin guinea piglerde spiral ganglion hücrelerinde sitoplazmik vakuol formasyonu izlenmiş olup, bu görünümün mitokondrilerde şişmeye bağlı olduğu anlaşılmıştır (120). Ayrıca cisplatin, erişkin guinea pig kokleasında spiral ganglion hücrelerinde hücresel büzülme (121) ve nükleer büzüşmeye (122) neden olmuştur. Gerbil kokleası spiral ganglion hücrelerinde bax/bcl-2 oranında artış olduğu ve bunun sonucunda hücresel apoptozis oluşup cisplatin nedenli spiral ganglion hücre dejenerasyonu bulgularının varlığını desteklemektedir (123). Stria vaskülaristeki histolojik çalışmalarda, intermediate hücre atrofisi, marjinal hücrelerde şişme ve kabarcık oluşumu, bazal hücrelerde vakuol formasyonu izlenmiştir (104,109-111,124). Çalışmamızda günlük tek doz 1,5 mg/kg/gün cisplatin uygulaması yapılan grubun ışık mikroskobik görüntülerinde, tüylü ve destek hücrelerde belirgin dejenerasyon, hücre ayrılması ve sitoplazma kaybı, spiral ganglion nöronlarında miyelin kaybı saptandı. Bu grubun elektron mikroskobik incelemesinde; kokleer hücrelerin organellerinde ultrastrüktürel olarak distrofik değişiklikler gözlendi. Mitokondrilerde; mitokondrilerin şişmesi, matriksinin vakuolizasyonu ve kristaların dağılması, endoplazmik retikulumda granüler ve agranüler endoplazmik retikulumun genişlemesi ve vakuolizasyonu, reseptör hücrelerde ise stereosilyalarının ve destek hücrelerinin filamentlerinin kalınlaşması buna bağlı olarak dezorganizasyonu gözlendi. Cisplatin ile birlikte 8 gün boyunca 300 mg/gün C vitamini uygulaması sonrasında II. çalışma grubunda görülen distrofik değişikliklere rastlanmadı.

Ototoksik dozlarda cisplatin alan hayvanlarda, glutatyon ve antioksidan enzimlerde (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) azalma, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malonildialdehid düzeylerinde artış izlenmiştir (1). Cisplatin, antioksidan enzim aktivitesini azaltarak, reaktif oksijen türleri olan süperoksit, hidrojen peroksit ve toksik lipid peroksit enzimlerinin kokleada artmasına neden olur. Bunun sonucunda kokleer hücrelerin içine kalsiyum girişi artar, bu da apoptozun indüklenmesine neden olur (1).

Cisplatin ototoksisitesinde nitrik oksit gibi reaktif nitrojen türleri de rol oynamaktadır (58,125). Cisplatin ile tedavi edilen hayvanlarda, tedavi sonrası alınan koklea ekstraktlarında, artmış nitrik oksit seviyeleri saptanmıştır (59). Cisplatin ile tedavi edilen hayvanlarda, stria

vaskülariste apoptozis ile, immün aracılı işaretlenmiş 4-hidroksinonenal, nitrotirozin ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz arasında ilişki varlığı ortaya koyulmuştur (126). Reaktif nitrojen türlerinin oluşumunu inhibe eden aminoguanidin ile yapılan bir çalışmada, ratlara tek doz intraperitoneal olarak 16 mg/kg cisplatin verilmesi ile DPOAE'de belirgin düşüş saptanmıştır. Cisplatin tedavisinden 1 gün önce başlayarak tedavi sonrası 5 gün süreyle 16 mg/kg aminoguanidin intraperitoneal olarak tedavi edilen ratlarda DPOAE düzeylerinde herhangi bir değişiklik oluşmamıştır (58).

Cisplatin ototoksisitesinin oluşumundaki en önemli mekanizmaların reaktif oksijen ve nitrojen türleri aracılığı ile olduğu düşünülürse, birçok deneysel çalışmada cisplatinin işitme üzerindeki negatif etkilerini azaltmak için koruyucu ajanların kullanımı araştırılmıştır. Bu araştırmaların birçoğunda amaç, reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin açığa çıkmasını azaltan antioksidan bileşikleri kullanarak, bu toksik ürünlerin iç kulakta apoptozu indüklemesini engellemektir. bu hasardan korunmada serbest radikalleri ortadan kaldıran ve reaktif oksijen türlerinin hücresel proteinler, lipidler ve DNA ile reaksiyonu önleyen ajanlar (amifostin, N-asetilsistein, sodyum salisilat, E vitamini, C vitamini), endojen antioksidan üretimini arttıran bileşikler (N-asetilsistein, sodyum tiyosülfat, D-metiyonin ve ebselen), ve reaktif oksijen türleri oluşumunu önleyen ajanlar (allopurinol, erdostein ve adenozin agonistleri) kullanılabilir (127). Cisplatin kullanımı sırasında plazma ve hücre içinde serbest radikaller oluşurken, plazma antioksidan düzeyleri azalmaktadır. Weijl ve ark. (128)'nın yaptıkları çalışmada, cisplatin kemoterapisi alan kanser hastalarında, ilk kemoterapi protokolü sırasında plazma antioksidan, mikronutrient ve malonildialdehid düzeylerini ölçmüşlerdir. Plazma C vitamini, E vitamini ve serüloplazmin düzeylerinde, kemoterapi protokolü sırasında oldukça belirgin düşüş saptanırken, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malonildialdehid düzeylerinde artış saptanmıştır.

Deneysel çalışmalarda cisplatin ototoksisitesinde koruyucu ajan sistemik ya da intratimpanik yolla kullanılabilir. Transtimpanik yöntemle, koruyucu ajan diğer organları etkilemeden direk yolla ve yüksek konsantrasyonda iç kulağa ulaşır ve sistemik yan etkileri yok denecek kadar azdır (129). Sistemik kullanım sırasında göz önünde bulundurulması gereken durum, kullanılan koruyucu ajan cisplatinin antitümör etkinliği ile negatif yönde etkileşip etkileşmediğidir. D- metiyonin ve sodyum tiyosülfat gibi bileşikler sistemik kullanıldığında cisplatin ile inaktif komplex oluşturarak antitümör etkinliğini azaltır, bu yüzden intratimpanik yolla kullanılması önerilmiştir (110). Li ve ark. (130) deneysel bir

modelde sodyum salisilatın, sisplatinin ototoksik etkilerine karşı, cisplatinin antitümöral potensini azaltmadan belirgin olarak koruduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada 5 gün boyunca ip 100 mg/kg/gün sodyum salisilat kullanılan ratlarda, 2. günden sonra 3 gün boyunca 16 mg/kg/gün ip cisplatin kullanılmış, işitsel beyin sapı potansiyelleri ile takip edilen ratların ototoksik etkiden korunduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda C vitamininin, cisplatininin kemoterapötik etkisini negatif yönde etkilemediğini, hatta C vitaminin, cisplatinin kemoterapötik etkinliğini arttırdığı saptanmıştır (131). Kurbacher ve ark. (131) doxorubicin, cisplatin ve paclitaxel isimli kemoterapötik ilaçlara dirençli meme kanseri hücre dizilerinde yaptıkları çalışmada, bu ilaçlar C vitamini ile birlikte kullanıldığında sitotoksik etkinliğin belirgin olarak arttığını izlemiştir.

Rybak ve ark. (132)'nın ratlara ip yolla 16mg/kg cisplatin vererek oluşturdukları deneysel çalışmada, koruyucu ajan olarak, dietilditiyokarbamat, 4-metiltiyobenzoik asit, ebselen ve lipoik asit kullanmışlar ve her bir grupta tedavi öncesi ve tedaviden 3 gün sonra işitsel beyin sapı cevaplarını ölçmüşlerdir. Daha sonra kokleaları çıkarıp, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve malonildialdehid düzeylerini ölçmüşlerdir. Cisplatin tedavisi alan hayvanlarda, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz düzeylerinde belirgin düşme saptanırken, katalaz aktivitesinde anlamlı düşüş bulunmamıştır. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malonildialdehid düzeyleri ise kontrol grubuna göre %165 düzeyinde artmış bulundu. Kokleada glutatyon düzeyleri ile malonildialdehid seviyeleri arasında ters orantı olduğu saptanmıştır. Cisplatin ile birlikte koruyucu ajan verilen hayvanlarda ise süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve malonildialdehid düzeyleri cisplatin tedavisi almayan kontrol grubuna yakın değerlerde olduğu görülmüştür.

Literatürde cisplatin ototoksisitesinde koruyucu ajan olarak C vitamini kullanılan yalnızca bir çalışma bulabildik. Lopez-Gonzalez ve ark. (65)'nın yaptıkları çalışmada 10 mg/kg tek doz ip cisplatin ile birlikte koruyucu amaçlı melatonin ve antioksidan karışımı (0,25 mg alfa tokoferol asit süksinat, 3 mg askorbik asit (C vitamini), 1 mg glutatyon, 60 mg N-asetil sistein) subkutan yolla kullanılmıştır. Tekrarlayan DPOAE testleri ile 7 ila 10. günlerde ototoksisite oluşmuştur. Koruyucu ajan kullanılmayan grupta işitme testleri, ilaç uygulaması sonrası 1. ayda normal değerlere dönüş gözlenirken, koruyucu ajan kullanılan grupta normal değerlere dönüş 10 ila 15. günler arasında gerçekleşmiştir.

Kokleayı ototoksik hasarlardan koruyacak yöntemlerden birisi de gelecekte gen terapisi olacaktır. Gen terapisi ile süperoksit dismutaz gibi enzimlerin üretimini arttırılarak ototoksisite nedeni olan antioksidan enzim sentezi azalması önlenmiş olur (127).

Bu çalışmanın sonucu göstermiştir ki; cisplatin kokleada DTH, destek hücreleri, spiral gangliyon nöronlarında yaygın ototoksik hasar oluşturmaktadır. Meydana gelen bu hasar, elektrofizyolojik olarak, ve ultrastrüktürel düzeyde ışık ve elektron mikroskobik olarak gösterilmiştir.

Cisplatin ile koruyucu ajan olarak C vitamini kullanıldığında, DTH, destek hücreleri, spiral gangliyon nöronlarındaki hasar elektrofizyolojik olarak ve ultrastrüktürel düzeyde daha az olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızda C vitamini'nin, cisplatin tedavisinde meydana gelen ototoksik hasara karşı kokleayı koruyucu etkisinin olduğunu söyleyebiliriz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda Cisplatin ototoksistesinde askorbik asidin koruyucu etkinliğini, elektrofizyolojik testler ve ultrastrüktürel olarak değerlendirdiğimiz çalışma sonucunda;

1- Cisplatin uygulanan kobaylarda, TEOAE ve ABR testlerinde kötüleşme saptanırken, cisplatin tedavisi ile birlikte C vitamini uygulanan kobayların TEOAE ve ABR testlerinde, sadece cisplatin kullanılanlara göre daha az kötüleşme saptandı.

2- Cisplatin uygulanan kobayların temporal kemikleri ışık mikroskobik olarak incelendiğinde; reseptör ve destek hücrelerinin yapılarının bozulduğu, sinir liflerine ait aksonlarda miyelin kaybı olduğu saptandı. Cisplatin tedavisi ile birlikte C vitamini uygulanan kobayların temporal kemikleri ışık mikroskobik olarak incelendiğinde ise reseptör ve destek hücrelerinde, sitoplazma yoğunluğu ve spiral ganglion yapısı görüntüleri normale yakın izlendi.

3- Cisplatin tedavisi uygulanan kobayların temporal kemikleri elektron mikroskobik olarak incelendiğinde; kokleada ultrastrüktürel olarak reseptör ve destek hücrelerinde distrofik değişiklikler, spiral ganglion nöronlarında ise organellerin proliferasyonu izlendi. Cisplatin ile birlikte C vitamini uygulanan kobayların temporal kemikleri elektron mikroskobik olarak incelendiğinde ise kokleada ultrastrüktürel olarak reseptör ve destek hücre yapıları normal şekilde gözlendi. Spiral ganglion nöronları normal görünümdeydi.

4- Çalışmamızda C vitamini'nin, cisplatin tedavisinde meydana gelen ototoksik hasara karşı kokleayı koruyucu etkisinin olduğunu söyleyebiliriz.

ÖZET

Cisplatin kullanımına bağlı meydana gelen ototoksisitesinin önlenmesinde askorbik asidin olası koruyucu etkinliğinin elektrofizyolojik testler (Transient Evoked Otoakustik Emisyon ve İşitsel Beyinsapı Yanıtları) ve ultrastrüktürel (ışık ve elektron mikroskopik) olarak gösterilmesi amaçlanmıştır. Elektrofizyolojik testler sonucunda, normal işitme eşiği ve emisyon varlığı saptanan toplam 15 kobayın 30 kulağı çalışma kapsamına alındı ve randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Bu üç grubun bir tanesi kontrol grubu (I. Grup), diğer ikisi (II. ve III. grup) çalışma grubu olarak planlandı. Çalışma grubundaki kobaylardan, II. gruptakilere günde tek doz, intraperitoneal olarak, III. gruptaki hayvanlara günde tek doz intraperitoneal olarak 8 gün süreyle, 1,5 mg/kg/gün cisplatin ve 300 mg/gün C vitamini verildi. İntraperitoneal ilaç uygulaması yapılan II. ve III. gruptaki 10 kobayın 20 kulağının elektrofizyolojik testleri tekrarlandı. İntraperitoneal ilaç uygulaması öncesi ve sonrası ölçümlerden elde edilen verilerin grup içi ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaları yapıldı. Ölçümler sonunda ultrastrüktürel incelemeler (ışık ve elektron mikroskopi) için temporal kemikleri hazırlandı.

Çalışma ve kontrol grupları arasında, ilaç uygulaması öncesi emisyon parametrelerinde (reprodüktibilite, response ve Signal/Noise oranı) ve işitsel beyinsapı yanıtlarında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. II. grupta (çalışma grubu) ilaç uygulaması öncesi ve sonrasında otoakustik emisyon parametrelerinde ve işitsel beyinsapı yanıtları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0.05$). III. grupta (çalışma grubu) yer alan toplam 10 kobay kulağının ilaç uygulaması öncesi ve sonrasında reprodüktibilite,

response değerleri karşılaştırıldığında, düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Signal/Noise oranları ve işitsel beyin sapı yanıtları ölçümleri değerlendirildiğinde ise ilaç uygulaması öncesi ve sonrası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). II. ve III. çalışma gruplarında, tedavi sonrası emisyon parametreleri karşılaştırıldığında ise reprodüktibilite değerleri arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı saptanırken, response değerleri, Signal/Noise oranları ve işitsel beyin sapı yanıtları eşikleri değerlendirildiğinde ise, II. gruptakilere göre daha az kötüleşme olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Çalışmamızın ışık ve elektron mikroskobisi bulgularında; kontrol grubunda normal koklear yapılar izlendi. II. çalışma grubunda ilaç uygulaması sonrası hem ışık hem de elektron mikroskobik görünümlerinde belirgin distrofik değişiklikler, organellerin hiperfonksiyonu ve aktivasyonu izlenmiştir. III. grupta ilaç uygulamaları sonrasında hem ışık hem de elektron mikroskobik olarak reseptör ve destek hücrelerinde belirgin distrofik değişiklikler saptanmadı.

Sonuç olarak; cisplatin kullanımına bağlı gelişen ototoksisitenin önlenmesinde askorbik asit kullanılmasının elektrofizyolojik ve ultrastrüktürel bulgular doğrultusunda koruyucu etkinliğinin olduğunu ileri sürebiliriz.

Anahtar kelimeler: Cisplatin; Mikroskopi, elektron; Otoakustik emisyonlar, spontan; Uyarılmış potansiyeller, işitsel, beyinsapı; Askorbik asit.

ASSESSMENT OF PROTECTIVE EFFECT OF ASCORBIC ACID IN CISPLATIN OTOTOXICITY ON GUINEA PIGS WITH ELECTROPHYSIOLOGICAL TESTS AND ULTRASTRUCTURAL STUDY

SUMMARY

It was aimed to display ascorbic acid's protective efficiency in preventing ototoxicity caused by cisplatin use with electrophysiological tests (Transient Evoked Otoacoustic Emission and Auditory Brainstem Responses) and ultrastructural study (light and electron microscopic). As a result of electrophysiological tests, 30 ears of 15 guinea pigs with detected normal hearing threshold and emission have been taken into the scope of this survey and they have been randomly divided into 3 groups. One of these three groups have been planned as the control group (Group I), the other two (Group II and III) as working groups. The guinea pigs of the working group, Group II and Group III, have been intraperitoneally administered single dose of 1,5 mg/kg/day cisplatin and, additionally in Group III 300 mg/day Vitamin C administered intraperitoneally for a period of 8 days. Electrophysiological tests for 20 ears of 10 guinea pigs in Group II and III, who have been intraperitoneally drug administered, have been repeated. Internal and inter-group statistical comparisons of data acquired before and after intraperitoneal drug administration have been performed. Temporal bones have been prepared after the measurements, for ultrastructural examinations (for light and electron microscope).

No statistically significant differences in emission parameters (reproductibility, response and Signal/Noise rate) and auditory brainstem responses between the working group and control group before drug administration have been identified. The difference between otoacoustic emission parameters and auditory brainstem responses before and after drug administration in Group II (working group) have been identified as statistically significant ($p<0.05$). When reproductibility, response values of total of 10 guinea pigs in Group III (working group) before and after drug administration are compared, the decrease have been identified statistically significant ($p<0.05$). On the other hand when Signal/Noise rates and auditory brainstem response measures are evaluated, the difference before and after the administration is not identified as statistically significant ($p>0.05$). In working groups II and III when emission parameters after the treatment are compared, difference between reproductibility rates have been identified as statistically significant whereas when response values, Signal/Noise rates and auditory brainstem response thresholds are evaluated, despite lower deterioration compared to those in Group II, this difference is not statistically significant ($p>0.05$).

In light and electron microscope findings of our works, normal cochlear structures have been observed in control group. After drug administration in working group II, clear dystrophic changes, hyper functions and activation of organelles have been observed both in light and electron microscopic images. No clear dystrophic changes have been identified in either light or electron microscopic images of receptor and support cells in Group III after drug administration.

As a result; we may claim that use of ascorbic acid in preventing ototoxicity developing as a result of cisplatin use has a protective efficiency in line with electrophysiological and ultrastructural findings.

Key words: Cisplatin; Microscopy, electron; Otoacoustic emissions, spontaneous; evoked potentials, auditory, brain stem; Ascorbic acid.

KAYNAKLAR

1. Rybak LP. Vestibüler ve işitsel toksisite (çeviri: S Karahatay, S Yetişer). Koç C (Ed). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007. s.2933-43.

2. Mutlu C. Ototoksisite. Çelik O (Ed). Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi'nde. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2002.s.257-70.

3. Rybak LP, Kanno H. Ototoksisite (çeviri: G Hafız). Şenocak D (Ed). Ballenger. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi cilt 2, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1996;1102-8.

4. Taş A, Yağız R. Ototoksisitenin odyolojik monitörizasyonu. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2005;22(1):37-41.

5. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. Drug Discov Today 2005;10(19):1313-21.

6. Schweitzer VG. Ototoxicity of chemotherapeutic agents. Otolaryngol Clin North Am 1993;26(5):759-89.

7. Clerici WJ, DiMartino DL, Prasad MR. Direct effects of reactive oxygen species on cochlear outer hair cell shape in vitro. Hear Res 1995;84(1-2):30-40.

8. Kayaalp SO. Tıbbi Farmakoloji. 9. baskı. Ankara: Hacettepe Taş Yayınevi, 2000; Cilt 1:390-9, 716-21, Cilt 2:1564-7.

9. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1 Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 1998:1-71,77-102,143-97.

10. Karasalihoğlu AR. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 3. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003:3-14.

11. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ears. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (Eds). Otolaryngology Vol.1, 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1991:23-58.

12. Wright A. Anatomy and ultrastructure of the human ear. In: Keer AG, Gleeson M (Eds).Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1, 16th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish;1997;ch1,1-50.

13. Ömür M, Dadaş B. Klinik Baş ve Boyun Anatomisi. Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996:181-213.

14. Lee KJ. Anatomy of the ear. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. 8 th ed. New York: Medical Publish Co; 2003:1-24.

15. Cruz OLM. Kafa tabanı, temporal kemik, dış kulak ve orta kulak anatomisi.(çeviri: T. Akçam, S.Yetişer). Koç C (Ed). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007. s.2801-14.

16. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983:759-88.

17. Austin DF. Kulağın Anatomisi (çeviri: G. Hafız). Şenocak D (Ed). Ballenger Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi cilt 2, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; s.855-6.

18. Toth M, Alpar A, Patonay L, Olah I. Development and surgical anatomy of the round window niche. Ann Anat 2006;188(2):93-101.

19. Cureoglu S, Schachern PA, Rinaldo A, Tsuprun V, Ferlito A, Paparella MM. Round window membrane and labyrinthine pathological changes: an overview. Acta Otolaryngol 2005;125(1):9-15.

20. Santi PA, Mancini P. Koklear anatomi ve santral işitme yolları (çeviri: F. Karayel). Koç C (Ed). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007.s.3373-97.

21. Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. Anatomi. Ankara: Güneş Kitapevi; 1997:466-90.

22. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. Brain Research Bulletin 2003;60(5-6):397-422.

23. Ömür M, Dadaş B. Klinik Baş ve Boyun Anatomisi, 1.cilt. Ulusal Tıp Kitapevi, İstanbul. 1996:203-13.

24. John HM, Waren YA. Anatomy and phsiology of hearing. In: Bailey BJ (Ed). Otolaryngol Head Neck Surgery Vo1.2, Philedelphia: JB Lippincott Co; 1993:1441-61.

25. Goksu N, Hazıroglu R, Kemaloglu Y, Karademir N, Bayramoglu İ, Akyildiz N. Anatomy of the guinea pig temporal bone. Ann Otol Rhinol Laryngol 1992;101(8): 699-704.

26. Wysocki J. Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. Hear Res 2005;199(1-2):103-10.

27. Sehitoglu MA, Uneri C, Celikoyar MM, Uneri A. Surgical anatomy of the guinea pig middle ear. Ear Nose Throat J 1990;69(2):91-7.

28. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, Luebke AE. Physiology of the auditory and vestibuler systems. In: Ballenger JJ, Snow JB (Eds). Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. 15th ed. Philedelphia: Williams and Wilkins; 1996:879-929.

29. Pickles JO. Physiology of hearing. In: Kerr AG, Gleeson M (Eds). Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1, 6th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish Ltd; 1997; ch 2,1-34.

30. Abbas PJ, Miller CA. Physiology of the auditory system. In: Cummings CW, Fredrickson LM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (Eds). Otolarygology Head and Neck Surgery vol.4, 3th ed. St. Louis Missouri: Mosby Year Book Inc; 1998:2831-74.

31. De Oliveira JAA. Audiovestibular toxicity of drugs. 1989 Vol II. CRC Press, Boca Raton, FL. p.181-98.

32. Zuur CL, Simis YJ, Landsdaal PE, Hart AA, Schornagel JH, Dreschler WA, et al. Ototoxicity in a randomized phase III trial of intra-arterial compared with intravenous cisplatin chemoradiation in patients with locally advanced head and neck cancer. J Clin Oncol 2007;25(24):3759-65.

33. Brock PR, Bellman SC, Yeomans EC, Pinkerton CR, Pritchard J. Cisplatin ototoxicity in children: A pratical grading system. Med Pediatr Oncol 1991;19:295-300.

34. Riggs LC, Matz GJ, Rybak RP. Ototoxicity. In: Bailey BJ, Calhoun KH (Eds). Head and Neck Surgery Otolaryngology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 2165-70.

35. McKeage MJ. Comparative adverse effects of platinum drugs. Drug Safety 1995;13(4):228-44.

36. Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. Am J Otol 2000;21(4):513-20.

37. Somani SM, Husain K, Jagannathan R, Rybak LP. Amelioration of cisplatin induced oto and nephrotoxicity by protective agents. Ann Neurosci 2001;8:101-13.

38. DeWoskin RS, Riviere JE. Cisplatin-induced loss of kidney copper and nephrotoxicity is ameliorated by single dose diethyldithiocarbamate, but not mesna. Toxicol Appl Pharmacol 1992;112(2):182-9.

39. Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, et al. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. Mech Ageing Dev 1990;51(3):283-97.

40. Liang F, Schulte BA, Qu C, Hu W, Shen Z. Inhibition of the calcium and voltage dependent big conductance potassium channel ameliorates cisplatin induced apoptosis in spiral ligament fibrocytes of the cochlea. Neuroscience 2005;135(1):263-71.

41. Maeno E, Ishizaki Y, Kanaseki T, Hazama A, Okada Y. Normotonic cell shrinkage because of disordered volume regulation is an early prerequisite to apoptosis. Prot Natl Acad Sci USA 2000;97(17):9487-92.

42. Huang T, Cheng AG, Stupak H, Liu W, Kim A, Staecker H, et al. Oxidative stres induced apoptosis of cochlear sensory cells: otoprotective strategies. Int J Dev Neurosci 2000;18(2-3):259-70.

43. Van Ruijven MWM, De Groot JCMJ, Klis SFL, Smoorenburg G. Cochlear targets of cisplatin: an electrophysiological and morphological time sequence study. Hear Res 2005;205(1-2):241-8.

44. Komune S, Asakuma S, Snow JBJ. Pathophysiology of the ototoxicity of cis-diamminodichloroplatinum. Otolaryngol Head Neck Surg 1981;89(2):275-82.

45. Laurell G, Bagger-Sjöback D. Degeneration of the organ of Corti following intravenous administration of cisplatin. Acta Otolaryngol 1991;111(5):891-8.

46. Mukhurjea D, Whitworth CA, Nandish S, Dunaway G, Rybak L.P, Ramkumar V. Expression of the kidney injury molecule (KIM 1) in the rat cochlea and induction by cisplatin. Neuroscience 2006;139:733-40.

47. Rybak LP, Whitworth CA, Mukhurjea D, Ramkumar V. Mechanism of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. Hear Res 2007;226(1-2):157-67.

48. Kaltenbach JA, Church MW, Blakley BW, McCaslin DL, Burgio DL. Comparison of five agents in protecting the cochlea against the ototoxic effects of cisplatin in the hamster. Otolaryngol Head Neck Surg 1997;117(5):493-500.

49. Ciges M, Fernandez-Cervilla F, Crespo A. Pantothenic acid and coenzyme A in experimental cisplatin-induced ototoxia. Acta Otolaryngol 1996;116(2):263-8.

50. Campbell KCM, Rybak LP, Meech RP, Hughes L. D-methionine provides excellent protection from cisplatin ototoxicity in the rat. Hear Res 1996;102(1-2):90-8.

51. Hamers FP, Klis SF, Gispen WH, Smoorenburg GF. Application of a neuroprotective ACTH(4-9) analog to affect cisplatin ototoxicity: an electrocochleographic study in guinea pigs. Eur Arch Otorhinolaryngol 1994;251(1):23-9.

52. De Groot JCMJ, Hamers FPT, Gispen WH, Smoorenburg GF. Co-administration of the neurotropic ACTH(4-9) analogue, ORG 2766, may reduce the cochleotoxic effects of cisplatin. Hear Res 1997;106(1-2):9-19.

53. Rybak LP, Husain K, Whitworth C, Somani SM. Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system. Toxicol Sci 1999;47(2):195-202.

54. Hyppolito MA, De Oliveira JAA, Lessa RM, Rossato M. Amifostine otoprotection to cisplatin ototoxicity: a guinea pig study using otoacoustic emission distortion products (DPOAE) and scanning electron microscopy. Rev Bras Otorinolaringol 2005;71(3):268-73.

55. Feghali JG, Liu W, Van De Water TR. L-N-Acetyl-cysteine protection against cisplatin-induced auditory neuronal and hair cell toxicity. Laryngoscope 2001;111(7):1147-55.

56. Fetoni AR, Sergi B, Ferraresi A, Paludetti G, Troiani D. Protective effects of α-tocopherol and tiopronin against cisplatin-induced ototoxicity. Acta Otolaryngol 2004;124(4):421-6.

57. Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. Int J Audiol 2004;43(8):465-70.

58. Iraz M, Kalcioglu MT, Kizilay A, Karatas E. Aminoguanidin prevents ototoxicity induced by cisplatin in rats. Ann Clin Lab Sci 2005;35(3):329-35.

59. Kelly TC, Whitworth CA, Husain K, Rybak LP. Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. Hear Res 2003;186(1-2):10-6.

60. Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Reduction of acute cisplatin ototoxicity and nephrotoxicity in rats by oral administration of allopurinol and ebselen. Hear Res 2005;201(1-2):81-9.

61. Hyppolito MA, De Oliveira JAA, Rossato M. Cisplatin ototoxicity and otoprotection with sodium salicylate. Eur Arch Otorhinolaryngol 2006;263(9):798-803.

62. Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduces cisplatin ototoxicity. Laryngoscope 2004;114(3):538-42.

63. Guneri EA, Serbetcioglu B, Ikiz AO, Guneri A, Ceryan K. TEOAE monitoring of Cisplatin induced ototoxicity in guinea pigs: the protective effect of vitamin B treatment. Auris Nasus Larynx 2001;28(1):9-14.

64. Schweitzer VG, Dolan DF, Abrams GE, Davidson T, Snyder R. Amelioration of cisplatin induced ototoxicity by fosfomycin. Laryngoscope 1986;96(9 Pt 1):948-58.

65. Lopez-Gonzalez MA, Guerraro JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. J Pineal Res 2000;28(2):73-80.

66. Kalcıoglu MT, Kızılay A, Gulec M, Karatas E, Iraz M, Akyol O, et al. The protective effect of erdosteine against ototoxicity induced by cisplatin in rats. Eur Arch Otorhinolaryngol 2005;262(10):856-63.

67. Huang X, Craig A, Whitworth C, Rybak LP. *Ginkgo Biloba* extract (EGb 761) protects against cisplatin induced ototoxicity in rats. Otol Neurotol 2007;28(6):828-33.

68. Campbell KCM, Durrant J. Audiologic monitoring for ototoxicity. Otolaryngol Clin North Am 1993;26(5):903-14.

69. Dreschler WA, Van der Hulst RJ, Tange RA, Urbanus RA. Role of high-frequency audiometry in the early detection of ototoxicity. II. Clinical Aspects. Audiology 1989;28(4):211-20.

70. Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing. Cause, consequence and criteria. Ann N Y Acad Sci 1999;884;19-40.

71. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal phsiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007;39(1):44-84.

72. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. Arch Surg 1991;126(1):104-5.

73. Weijl NI, Cleton FJ, Osanto S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy induced toxicity. Cancer Treat Rev 1997;23(4):209-40.

74. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford:Oxford University Press 1993;188-276.

75. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Matbaası, 1995:1-73.

76. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. J Acoust Soc Am 1978;64(5):1386-91.

77. Kemp DT. Exploring cochlear status with otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glattke TJ (Eds). Otoacoustic Emissions. 2nd ed. New York: Thieme Medical Puplishers Inc; 2002. p.1-47.

78. Hall JW, Baer JE, Chase PA, Schwaber MK. Clinical applcation of otoacoustic emissions: what do we know about factors influencing measurement and analysis? Otolaryngol Head Neck Surg 1994;110(1):22-38.

79. Johnson KC. Audiologic assessment of children with suspected hearing loss. Otolaryngol Clin North Am 2002;35(4):711-32.

80. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. Ear Hear 1993;14(1):11-22.

81. Plinkert PK, Bootz F, Vossieck T. Influence of static middle ear pressure on transiently evoked otoacoustics emissions and distortion products. Eur Arch Otorhinolaryngol 1994;251(2):95-9.

82. Nozza RJ, Sabo DL, Mandel EM. A role for otoacoustic emissions in screening for hearing impairment and middle ear disorders in school-age children. Ear Hear 1997;18(3):227-39.

83. Bright KE. Spontaneous otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glattke TJ (Eds). Otoacoustic Emissions. 2nd ed. New York: Thieme Medical Puplishers Inc; 2002. p.74-94.

84. Lonsbury-Martin BL. Introduction to otoacoustic emissions. Am J Otol 1994;15 Suppl 1:1-3.

85. Ueda H, Hattori T, Sawaki M, Niwa H, Yanagita N. The effect of furosemide on evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. Hear Res 1992;62(2):199-205.

86. Karasalihoğlu A, Adalı MK, Karasalihoğlu S, Koten M, Acunaş B, Uzun C ve ark. Normal ve Riskli Yenidoğanlarda Transient Evoket Otoakustik Emisyon (TEOAE) ile İşitme Taraması. Cerrahpaşa Tıp Fak. XIX. Akademik hafta pediatrik otolarengoloji sempozyumu kongre kitabı s.48-53 İstanbul, 1996.

87. Salata JA, Jacobsen JT, Strasnick B. Distortion-product otoacoustic emissions hearing screening in high risk newborn. Otolaryngol Head Neck Surg 1998;118(1):37-43.

88. Glattke TJ, Robinette MS. Transient evoked otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glattke TJ (Eds). Otoacoustic Emissions. 2nd ed. New York: Thieme Medical Puplishers Inc; 2002. p.95-115.

89. Harris FP, Probst R. Otoacoustic emissions and audiometric outcomes. In: Robinette MS, Glattke TJ (Eds). Otoacoustic Emissions. 2nd ed. New York: Thieme Medical Puplishers Inc; 2002. p.213-42.

90. Ross UH, Rogowski M, Reiss G, Gloddek B. Detection of cochlear dysfunction by the measurement of transiently evoked otoacoustic emissions in Guinea pigs with autoimmune-induced labyrinthitis. Eur Arch Otorhinolaryngol 1994;251(2):80-3.

91. Moulin A, Collet L, Veuillet E, Morgon A. Interrelations between transiently evoked otoacoustic emissions, spontaneous otoacoustic emissions and acoustic distortion products in normally hearing subjects. Hear Res 1993;65(1-2):216-33.

92. Lonsbury-Martin BL, Martin GK, McCoy MJ, Whitehead ML. New approaches to the evaluation of the auditory system and a current analysis of otoacoustic emissions. Otolaryngol Head Neck Surg 1995;112(1):50-63.

93. Özdamar Ö. İşitsel uyarılma potansiyellerinin tarihçesi. Muş N, Özdamar Ö (Editörler). İşitsel Beyin Sapı Cevapları 'Temel Bilgiler ve Klinik Uygulamaları'nda, Ankara: 1996;31-3,35-55.

94. Sphelman R, Stoneham MA. Evoked potential primer. 2nd ed. London: Butterworth-Heinaman publish; 1985:194-232.

95. Northern JL, Roush J. Differential audiometry in otologic diagnosis. In: English Otolaryngology. Vol 1. PA, JB, Lippincott company 1998;1-28.

96. Saydam L, Özlüoğlu L. Gürsel B. Serebellopontin köşe tümörlerinin tanısında beyin sapı odyometrisinin kullanımı. Türk Otolaringoloji Arşivi 1994;32:69-73.

97. Muş N, Yenişehir S, Özkaptan Y. Retrokoklear ABR anormalliklerinin nörofizyolojik temeli. Kulak Burun Boğaz İhtis Derg 1991;1:65-70.

98. Uzun C, Yağız R, Koten M, Adalı MK, Karasalihoğlu AR. Kobaylarda transient evoked otoakustik emisyon ölçüm yöntemi. Kulak Burun Boğaz İhtis Derg 2000;7(2):97-105.

99. Blakley BW, Cohen JI, Doolittle ND, Muldoon LL, Campbel KC, Dickey DT, et al. Strategies for prevention of toxicity caused by platinum-based chemotherapy: review and summary of the annual meeting of the Blood-Brain Barrier Distruption program, Gleneden Beach, Oregon, March 10, 2001. Laryngoscope 2002;112(11):1997-2001.

100. Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT. Analysis of risk factors for cisplatin induced ototoxicity in patients with testicular cancer. Br J Cancer 1998;77(8):1355-62.

101. Nakai Y, Konishi K, Chang KC, Ohashi K, Morisaki N, Minowa Y, et al. Ototoxicity of anticancer drug cisplatin. An experimental study. Acta Otolaryngol 1982;93(3-4):227-32.

102. Laurell G, Engstrom B. The ototoxic effects of cisplatin on guinea pigs in relation to dosage. Hear Res 1989;38(1-2):27-33.

103. Laurell G, Bagger-Sjöback D. Dose-dependent inner ear changes after i.v. administration of cisplatin. J Otolaryngol 1991;20(3):158-67.

104. Cardinaal RM, De Groot JCMJ, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF. Dose dependent effect of 8-day cisplatin administration upon the morphology of the albino guinea pig cochlea. Hear Res 2000;144(1-2):135-46.

105. Sockalingam R, Freeman S, Cherny TL, Sohmer H. Effect of high dose cisplatin on auditory brain stem responses and autoacustic emissions in labaratry animals. Am J Otol 2000;21(4)521-7.

106. Sie KC, Norton SJ. Changes in otoacoustic emissions and auditory brain stem response after cis-platinum exposure in gerbils. Otolaryngol Head Neck Surg 1997;116 (6 Pt 1):585-92.

107. Schweitzer VG, Rarey KE, Dolan DF. Ototoxicity of cisplatin and platinum analogs. Otolaryngol Head Neck Surg 1986;94(4):458-70.

108. Stavroulaki P, Apostolopoulos N, Segas J, Tsakanikos M, Adamapoulos G. Evoked otoacoustic emissions--an approach for monitoring cisplatin induced ototoxicity in children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2001;59(1):47-57.

109. Meech RP, Campbell KCM, Hughes L, Rybak LP. A semiquantitative analysis of the effects of cisplatin on the rat stria vascularis. Hear Res 1998;124(1-2):44-59.

110. Campbell KCM, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. D-methionine protects against cisplatin damage to the stria vascularis. Hear Res 1999;138(1-2):13-28.

111. Sluyter S, Klis SF, De Groot JCMJ, Smoorenburg GF. Alterations in the stria vascularis in relation to cisplatin ototoxicity and recovery. Hear Res 2003;185(1-2):49-56.

112. Sergi B, Ferraresi A, Troiani D, Paludetti G, Fetoni AR. Cisplatin ototoxicity in the guinea pig: vestibular and cochlear damage. Hear Res 2003;182:56-64.

113. Van Ruijven MWM, De Groot JCMJ, Hendriksen F, Smoorenburg GF. Immunohistocemical localization of platinated DNA in the cochlea of cisplatin-treated guinea pigs. Hear Res 2005;203(1-2):112-21.

114. Tange RA, Vuzevski VD. Changes in the stria vascularis of the guinea pig due to cis-platinum. Arch Otorhinolaryngol 1984;239(1):41-7.

115. Tsukasaki N, Whitworth CA, Rybak LP. Acute changes in cochlear potentials due to cisplatin. Hear Res 2000;149(1-2):189-98.

116. Zheng H, Fink D, Howell SB. Pharmacological basis for a novel therapeutic strategy based on the use of aquated cisplatin. Clin Cancer Res 1997;3(7):1157-65.

117. Zheng JL, Gao WQ. Differential damage to auditory neurons and hair cells by ototoxins and neuroprotection by specific neurotrophins in rat cochlear organotypic cultures. Eur J Neurosci 1996;8(9):1897-905.

118. Gabaizadeh R, Staecker H, Liu W, Kopke R, Malgrange B, Lefebvre PP, et al. Protection of both auditory hair cells and auditory neurons from cisplatin induced damage. Acta Otolaryngol 1997;117(2):232-8.

119. Cardinaal RM, De Groot JCMJ, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF. Cisplatin induced ototoxicity: Morphological evidence of spontanoeus outer hair cell recovery in abino guinea pigs. Hear Res 2000;144(1-2):147-56.

120. Cardinaal RM, De Groot JCMJ, Huizing EH, Smoorenburg GF, Veldman JE. Ultrastructural changes in the albino guinea pig cochlea at different survival times following sessation of 8-day cisplatin administration. Acta Otolaryngol 2004;124(2):144-54.

121. O'Leary SJ, Klis SF, De Groot JCMJ, Hamers FP, Smoorenburg GF. Perilymphatic application of cisplatin over several days in albino guinea pigs: dose dependency of electrophysiological and morphological effects. Hear Res 2001;154(1-2):135-45.

122. Hamers FP, Wijbenga J, Wolters FL, Klis SF, Sluyter S, Smoorenburg GF. Cisplatin ototoxicity involves organ of Corti, stria vascularis, and spiral ganglion: modulation by α-MSH and ORG 2766. Audiol Neurootol 2003;8(6):305-15.

123. Alam SA, Ikeda K, Oshima T, Suzuki M, Kawase T, Kikuchi T, et al. Cisplatin-induced apoptotic cell death in Mongolian gerbil cochlea. Hear Res 2000;141(1-2):28-38.

124. Saito T, Aran JM. Comparative ototoxicity of cisplatin during acute and chronic treatment. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec 1994;56(6):315-20.

125. Watanabe K, Hess A, Michel O, Yagi T. Nitric oxide syntase inhibitor reduces the apoptotic change in the cisplatin treated cochlea of guinea pig. Anticancer Drugs 2000;11(9):731-5.

126. Lee JE, Nakagawa T, Kim TS, Endo T, Shiga A, Iguchi F, Lee SH, et al. Role of reactive radicals in degeneration of the auditory system of mice following cisplatin treatment. Acta Otolaryngol 2004;124(10):1131-5.

127. Rybak LP, Kelly T. Ototoxicity: bioprotective mechanism. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2003;11(5):328-33.

128. Weijl NI, Hopman GD, Wipkink-Bakke A, Lentjes EGWM, Berger HM, Cleton FJ et al. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. Ann Oncol 1998;9(12):1331-7.

129. Light LP, Silverstein H. Transtympanic perfusion: indications and limitations. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2003;11(5):334-9.

130. Li G, Sha SH, Zotova E, Arezzo J, Van De Water T, Schact J. Salicylate protects hearing and kidney function from cisplatin toxicity without compromising its oncolytic action. Lab Invest 2002;82(5):585-96.

131. Kurbacher CM, Wagner U, Kolster B, Andreotti PE, Krebs D, Bruckner HW. Ascorbic acid (Vitamin C) improves the antineoplastic activity of doxorubicin, cisplatin and paclitaxel in human breast carsinoma cells in vitro. Cancer Lett 1996;103(2):183-9.

132. Rybak LP, Whitworth C, Somani S. Application of antioxidants and other agents to prevent cisplatin ototoxicity. Laryngoscope 1999;109(11):1740-4.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Etik Kurulu Başkanlığı

Oturum Sayısı: 04 **Karar Tarihi: 01.03.2007**

15- Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 01.03.2007 tarihinde; **"Sisplatin ototoksisitesinde askorbik asidin koruyucu etkisinin kobaylarda elektrofizyolojik testler ve ultrastrüktürel çalışma ile araştırılması""** adlı TÜTFEK 2007/32 protokol no.lu Dr. Safiye GİRAN'ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda yapılacağı, **Doç. Dr. Abdullah TAŞ**'ın yürütücüsü olduğu ve araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın bütçesinin araştırıcılar tarafından karşılanması koşuluyla yapılmasının **UYGUN** olduğuna mevcudun oybirliğiyle karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F Farmakoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Gürcan ALTUN Üye	Adli Tıp	T.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Avukat Mustafa POLAT Üye	Ceza Hukuku	T.Ü. Rektörlüğü	E	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Posta Adresi:
T.Ü. Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel: (0284) 235 76 53, 235 73 73
Faks: (0284) 235 76 52
e-posta: dekanlik@trakya.edu.tr
Elektronik Ağ: http://tipfak.trakya.edu.tr

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 09 **Karar Tarihi: 26.04.2007**

21-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 26.04.2007 tarihinde; **"Sisplatin ototoksisitesinde askorbik asidin koruyucu etkisinin kobaylarda elektrofizyolojik testler ve ultrastrüktürel çalışma ile araştırılması"** adlı TÜTFEK 2007/32 protokol no.lu Dr. Safiye GİRAN'ın tez çalışmasındaki protokol değişikliğini incelemek üzere toplandı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda yapılacağı **Doç. Dr. Abdullah TAŞ**'ın yürütücüsü olduğu ve araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; araştırmanın bütçesinin **Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP)** tarafından desteklenmesi isteği şeklindeki protokol değişikliğinin **UYGUN** olduğuna mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F Farmakoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	☐ E ☐ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Gürcan ALTUN Üye	Adli Tıp	T.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Avukat Mustafa POLAT Üye	Ceza Hukuku	T.Ü. Rektörlüğü	E	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Posta Adresi:
T.Ü. Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel: (0284) 235 76 53 – 235 73 73
Faks: (0284) 235 76 52
E-posta: dekanlik@trakya.edu.tr
Elektronik Ağ: http://tipfak.trakya.edu.tr

Ek 2

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

SAYI : B.30.2.TRK.0.70.73.0/ 2413-6631
KONU :

EDİRNE
07 MAYIS 2007

Sayın Doç. Dr. Abdullah TAŞ
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
EDİRNE

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve Arş. Gör. Dr. Safiye GİRAN'ın "Sisplatin Ototoksisitesinden Askorbik Asidin Koruyucu Etkisinin Kobaylarda Elektrofizyolojik Testlerle ve Ultrastrüktürel Çalışma ile Araştırılması" başlıklı tıpta uzmanlık projesinin 20 (yirmi) ay süre ve 8.875,00 ile desteklenmesine, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 01.05.2007 tarih ve 57 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 12. maddesi uyarınca düzenlenen ve ekte sunulan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Beyhan KARAMANLIOĞLU
Rektör Yardımcısı ve
Komisyon Başkanı

EK: 1 adet protokol sözleşmesi

07/05/ 2007 N. KIVRAK Şef
04/05/ 2007 S.ÇİFTÇİ Şb.Md.
..../..../ 2007 T. ILICA Dai.Bşk.

Posta Adresi
Trakya Üniversitesi Rektörlüğü
22050 Karaağaç/ EDİRNE

Tel : 0 28 85
e-mail: tuba .edu.tr

Faks : 0 284 223 08 48