

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Bedri ÖZER
ANABİLİM DALI BAŞKANI

CİSPLATİNİN İNDÜKLEDİĞİ OTOTOKSİSİTE ÜZERİNE
MELATONİN VE ALFA LİPOİK ASİTİN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Akif DÜNDAR

Tez Danışmanı
Yrd.Doç.Dr. Bahar KELEŞ

KONYA-2009

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KULAK	3
2.1.1. İşitme Duyusu	3
2.1.2. Ses ve Kulak	3
2.1.3. Sesten Duymaya “Ses İletimi”	3
2.1.4. Mikroanatomi ve Fizyoloji	4
2.1.5. İşitme Kaybı Tipleri	5
2.2. OTOTOKSİSİTE	5
2.2.1. Ototoksisiteye Genel Bakış	5
2.2.2. Cisplatin Ototoksisitesi	7
2.2.2.1 Cisplatin	7
2.2.2.2 Cisplatin ototoksisitesinin klinik özellikleri	7
2.2.2.3 Cisplatinin ototoksik etki mekanizması	10
2.2.3. Reaktif Oksijen Metabolitleri	12
2.2.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	13
2.3. MELATONİN	15
2.3.1. Melatoninin Antioksidan Etki Mekanizması	16
2.4. α -LİPOİK ASİT	19
2.5. BİUP	20
3. MATERYAL VE METOT	23
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA	39

6. SONUÇLAR	48
7. ÖZET	50
8. SUMMARY	52
9. KAYNAKLAR	53
10. TEŞEKKÜR	59

SİMGE VE KISALTMALAR

AFMK	:	N-asetil-N-formil-5-metoksikinüramin
ALA	:	α -Lipoik Asit
ATPaz	:	Adenozin Trifosfataz
BİUP	:	Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller
CP	:	Cis-diaminedichloroplatinium (cisplatin)
dB	:	Desibel
DHLA	:	Dihidrolipoik Asit
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
DPOAE	:	Distorsiyon ürünü Otoakustik Emisyonlar
DTH	:	Dış Tüylü Hücreler
EP	:	Endolenf Potansiyeli
GSH	:	Glutasyon
GSH-Px	:	Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	:	Hidrojen Peroksit
Hz	:	Hertz
i.p.	:	Intraperitoneal
IpL	:	Interpik Latans
İTH	:	İç Tüylü Hücreler
MDA	:	Malondialdehit
mM	:	Milimol
NO	:	Nitrik Oksit
OAE	:	Otoakustik Emisyonlar
OH $\cdot$	:	Hidroksil radikali
ONOO	:	Peroksinitrit
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
SNİK	:	Sensörinöral İşitme Kaybı
SPL	:	Ses Basınç Seviye

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Cis-diaminedichloroplatinium (cisplatin) (CP), kanser kemoterapisinde en sık kullanılan ajanlardan biridir. ABD’de 1978 yılından beri testis, over, serviks, mesane, akciğer, baş-boyun kanserleri gibi malignitelerin tedavisinde kullanılmaktadır (1,2). Ototoksisite ve nefrotoksisite sık görülen doz kısıtlayıcı yan etkileridir. Günümüzde CP tedavisi sonucu görülen nefrotoksisite, hastaya yeterli sıvı desteği sağlanmasıyla engellenebilmektedir (3). İnsanda ototoksisiteyi engellediği kanıtlanmış bir ajan tespit edilememesine rağmen, hayvan deneylerinde bazı ajanların etkinliği gösterilmiştir (4).

CP kullanımı sonrası erişkinlerde ortaya çıkan ototoksisite insidansının %20-90 arasında değişebildiği bildirilmekte, ancak yüksek frekans odyometrisi kullanıldığında işitme eşiği değişikliği oranının %100’e ulaştığı belirtilmektedir (2,5).

CP ototoksisitesi tedavi edici dozun verilmiş süresine bağlıdır. Tek günde tüm dozun verildiği olguların %30-86’sında ototoksisitenin oluştuğu, dozun günler içinde verildiği olgularda ise ototoksik etkinin daha az görüldüğü bildirilmiştir (6). Bunun yanı sıra hasta yaşı, akustik travma, tedavi öncesi kranial radyoterapi gibi multipl faktörler de ototoksisite görülme insidansını etkilemektedir (7).

CP’nin ortaya çıkardığı hücre toksisitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür. CP hücre membranındaki iyon kanallarında geçişi bozarak (özellikle kalsiyum kanalları) ya da hücrelerde serbest oksijen radikalleri ortaya çıkararak hücre ölümüne neden olabilmektedir (8,9).

Deneyisel çalışmalarda CP’ye maruziyet sonrası antioksidan enzimlerin aktivitesinde değişimler olduğu ve çeşitli radikal temizleyiciler ve antioksidanların işitme kaybına karşı in vivo koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (10).

Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller (BİUP), ototoksisitenin erken dönemde tespit edilmesinde kullanılabilen bir tekniktir. Ototoksik ajan alan deneklerde, BİUP

eşğinde, V. dalga latansında ve dalga şekli morfolojisinde kontrol deneklerine göre farklılıklar gözlenmiştir (11).

Bu çalışmanın amacı, ratlarda deneysel olarak CP ile oluşturulan ototoksisiteyi BIUP ile belirlemek ve izlemek, ayrıca α -lipoik asit (ALA) ve melatonin gibi antioksidan ajanların kullanımı ile ototoksisitenin azaltılabilir ya da önlenbilir olup olmadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KULAK

2.1.1. İşitme Duyusu

Kulağın kullanımı gözün kullanımından daha içgüdüsel olduğundan sağır bir hayatı düşlemek zordur. İşitmenin kaybıyla, görme alanımız dışında, yaklaşan arabanın ya da ağlayan veya oynayan bir çocuğun sesini duyma yeteneğimizi kaybederiz. İşitmemizin azaldığı ölçüde, sadece diğer insanları duyma yeteneğimizi kaybetmez, aynı zamanda kendi sesimizi anlaşılır yapabilmek için kontrol etme yeteneğimizi kaybederiz. Kemoterapiye bağlı işitme kaybı nadiren bu ciddi neticelerle sonuçlansa da, CP'ye bağlı ototoksisiteyi azaltmak, önlemek ve tedavi etmek çok büyük önem taşımaktadır.

2.1.2. Ses ve Kulak

Kulak yüksek frekanslı mekanoreseptör organımızdır. İnsan kulağı 20 Hz ve 20 kHz frekans aralığındaki sese duyarlıdır. Bu seviyelere karşılık gelen ses basıncı aralığı 2×10^{-5} - 200 Pa aralığındadır. Daha kullanışlı olması nedeniyle, standart birim olarak dB SPL kullanılır. 1 ile 5 kHz frekans aralığında popülasyondaki ortalama işitme eşiğini temsil eder. İşitme duyarlılığının ölçümünde en sık saf ses odyometri kullanılır. İşitme duyarlılığı frekansa göre değişim gösterdiği ve non-lineer olduğu için, odyogramlar, 0 dB HL'nin (hearing level, işitme seviyesi) o frekanstaki referans popülasyonun ortalama işitme seviyesi olarak standardize edildiği şekilde dB HL şeklinde derecelendirilmiştir. 6 dB ses basıncı artışı, relatif ses basıncında ikiye katlanmaya neden olur.

2.1.3. Sesten Duymaya, “Ses İletimi”

Ses iç kulaktaki duyarlı hücrelere, dış ve orta kulak yoluyla veya direk olarak kemik yoluyla iletilir. Hava yoluyla iletilen ses, dış kulağa girer ve timpanik membrana kadar dış kulak kanalı boyunca ilerler. Timpanik membranın her iki tarafı arasında oluşan basınç farkı membranda vibrasyona neden olur ve bu vibrasyonlar malleus, incus ve stapes

üzerinden kokleanın sıvı içeriğine iletilir. Timpanik membranın hareketleri iç kulak sıvılarında impedans uyumuna neden olan küçük hareketlere çevrilir. Bu sistemler iletimi, özellikle gürültülü ortamlardaki konuşmayı algılamada önemli frekans bölgesi olan 2 ila 5 kHz seviyesinde düzeltirler. Timpanik membran ve kemikçik zincir hareketleri, başka bir deyişle iletim, tensor timpani ve stapes kası refleksleri ile kontrol edilir. İç kulak sıvılarının hareketi, tektorial ve baziller membranlar üzerinden primer sensör hücrelere yani iç tüylü hücrelere (İTH) iletilir. Koklea baziller membran boyunca ses frekansını fiziksel harekete dönüştüren bir mekanik demodülatör olarak rol oynar. İTH'lere ek olarak dış tüylü hücreler (DTH) de mevcuttur. Bunların, sensitivitenin artmasında, yüksek frekans seçiciliğinde ve insan kulağının geniş dinamik duyma aralığının sağlanmasında rol oynayan dinamik mikromekanik özellikleri olduğu düşünülür. İTH'lerin üzerindeki sil demetlerinin hareketi, hücrenin depolarizasyonuna ve komşu sinir uçlarını stimüle eden nörotransmitter salınımına neden olur. İTH'ler tarafından başlatılan nöronal sinyaller, koklear gangliondaki, koklear nükleustaki, superior oliver kompleksteki, inferior kollikulustaki, medial genikülat cisimdeki ve işitsel korteksteki bağlantı merkezleri ile afferent sinirler boyunca iletilir. Bu merkezlerin her birinde işitsel stimulusun nöronal işlenmesi gerçekleştirilir ve sesin algılanması primer işitsel kortekse nöronal sinyal ulaştığı müddetçe olur.

2.1.4. Mikroanatomi ve Fizyoloji

Membranöz labirent skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere 3 kompartmana ayrılır. İlk iki skalanın birbiri ile devamlılığı vardır ve perilenfle doludur. Perilenf, kompozisyonu ekstraselüler sıvılara benzer, potasyumdan fakir, sodyumdan zengin (~ 4 ve 139 mM, sırasıyla) bir sıvıdır. Diğer taraftan endolenf kompozisyonu, yüksek potasyum içeriği (~ 144 mM) ve düşük sodyum içeriği (~ 2-4 mM) ile intraselüler sıvı ile benzerlik gösterir. Klor ~130 mM konsantrasyonuyla plazmaya benzer şekilde

primer anyondur. Bu nedenle teorik olarak CP'nin biyotransformasyonunu desteklemez. Bikarbonat ta ~20 mM konsantrasyonu ile bir diğer major anyondur. Perilenf ve bunu çevreleyen dokular gibi, değişik hücreler ve kompartmanlar arasında potansiyel farklar vardır. Tüylü hücrelerin içi ve stria vaskularis birçok normal hücrenin içindekinden daha büyük negatif potansiyel taşır. Halbuki endolenfin kendisinin pozitif potansiyeli vardır, EP. (Endolenf Potansiyeli). Bu potansiyelin en azından bir kısmının stria vaskularisteki bir elektrojenik $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPaz}$ tarafından oluşturulduğu düşünülür. Davis rezistans teorisine göre, tüylü hücre membranındaki potansiyel, hücrenin membranının tepe noktasındaki rezistans sil demetlerinin hareketi boyunca değiştiğinde, hücreyi depolarize etmeye yardım eder. EP azaldığı zaman, örneğin asfiksida olduğu gibi, baziler membranın mikromekanik özellikleri değişir ve frekans selektivitesi ile sensitivitesi azalır. Bu nedenle görünüşte, stria vaskularis EP boyunca duyarlı hücreler için güç kaynağı olarak etki eder.

2.1.5. İşitme Kaybı Tipleri

Esas olarak ikiye ayrılır; iletim tipi ve sensorinöral işitme kaybı. İletim tipi işitme kaybına dış ve orta kulağın anormal durumları sebep olur ve çoğu hasta cerrahi olarak tedavi edilebilir. Sensorinöral işitme kaybına iç kulaktaki (koklear işitme kaybı) ya da beyin sapına nöral sinyalin iletimindeki (retrokoklear işitme kaybı) anormallikler neden olur. Koklear orijinli işitme kaybı işitme kaybının en yaygın formudur. Uygun hallerde işitme cihazı önerilir. Bazı hastalarda da koklear orijinli işitme kayıpları afferent sinirleri elektriksel olarak stimüle eden koklear implant ile tedavi edilebilirler. Santral işitme kayıpları santral işitme yollarındaki hasarlar nedeniyle ortaya çıkabilir (12).

2.2. OTOTOKSİSİTE

2.2.1. Ototoksisiteye Genel Bakış

İç kulak dokularında, terapötik ajanlara bağlı oluşan fonksiyon bozulması ve hücresel dejenerasyona ototoksisite denir (2). Ototoksisite medikal tedavide istenmeyen bir

durum olarak ortaya çıkar. Sistemik, oral, hatta topikal ilaç kullanımıyla dahi iç kulakta toksik etki yapabilecek yeterli konsantrasyona ulaşılabilir. Ototoxisite işitme ve dengeyi bozan önemli nedenlerden biri olmaya devam etmektedir. Ototosik ilaçları kullanan hastaların takibi, odyolojik incelemelerle toksik etkilerinin başladığının saptanması, ilacın kesilmesi ya da ilacın değiştirilmesi ve ototosik etkilerin rehabilitasyonunun sağlanması, üzerinde önemle durulması gereken konulardır.

Kullanılan bir toksik maddenin ototosik olduğunun söylenebilmesi için kriter, bilateral 250 ile 8000 frekansları arasında en az 10 dB kayba neden olmasıdır.

Ototosik maddelere bağlı olarak meydana gelen başlıca yakınmalar, işitme kaybı, çınlama, dengesizlik ve vertigodur. Bu yakınmalar arasında en sık ve çoğu zaman da ilk olarak karşılaşılan yakınma tinnitustur. Tinnitus ve işitme kaybı genellikle bilateral ve simetriktr. Ancak, tek taraflı bulgular ile nadir de olsa karşılaşılabılır. Vestibüler belirtiler, orta dereceli dengesizlikten bulantı-kusma ile seyreden ciddi vertigo ve hatta ossilopsiya kadar giden değişken bir klinik tablo ortaya çıkartabilir. Ancak, toksik maddelerin cinsine, alım şekli ve süresine bağlı olarak total vestibüler kayıp ta söz konusu olabilir.

Böbrek ya da karaciğer yetmezliğinde, bağıışıklık sistemi baskılanmış olgularda, yaşlı hastalarda, daha önce ototoxisite ortaya çıkmış olgularda, birden fazla ototosik ilacın bir arada kullanıldığı hastalarda, daha önceden sensörinöral işitme kaybı (SNİK) mevcut olan olgularda ve kollajen damar hastalığı olan olgularda ototoxisite daha sık ortaya çıkmaktadır. Bu olgularda ototosik olarak bilinen ilaçlar dikkatli bir biçimde ve kontrollü olarak verilmelidir. Ayrıca yukarıdaki listede yer almasa bile koklear implantlı çocuklarda ve erişkinlerde ototosik ilaçların kullanılmaması önerilmektedir (1).

Ototoxisitede semptomlar ilaç alımı sonrası hemen başlayabileceği gibi günler ve haftalar içinde de gelişebilir. Ototoxisiteye bağlı işitme kaybı daima sensorinöral

karakterdedir. Klinikte en sık kullanılan ototoksik ajanlar, aminoglikozid antibiotikler, platinyum bileşiği kemoterapötikler, loop diüretikleri, makrolid antibiotikler ve antimalaryallerdir (2).

2.2.2. Cisplatin Ototoksitesisi

2.2.2.1. Cisplatin

CP olarak bilinen “cis-diamminedikloroplatinium II” klinikte kullanılan kemoterapötikler arasında en önemlilerinden biridir (1). 1965’te Rosenberg ve arkadaşları, inorganik platinyum bileşiklerinin *Escherichia coli* proliferasyonunu inhibe ettiğini gözlediler. Daha sonra, deneysel olarak CP’nin tümörlerde en aktif platinyum bileşiği olduğu belirlenmiş ve 1970’lerde klinik onkolojide kullanılmaya başlanmıştır (13). 1978 yılında en potent platinium kemoterapötik ajan olarak ABD’de FDA (Federal Drug Administration) onayı almıştır (14). Geniş bir spektruma sahiptir (1) ve baş-boyun kanserleri, santral sinir sistemi kanserleri, testis, over, mesane, serviks, uterus, akciğer, kemik ve özofagus kanserlerinde olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılır (5,7,8). Erişkinlerde olduğu kadar çocuklardaki malign tümörlerde de yaygın kullanımı vardır. Bu nedenle CP çocukluk çağı için önemli bir kemoterapötik maddedir (1).

2.2.2.2. Cisplatin ototoksitesisinin klinik özellikleri

CP ototoksitesisi klinik çalışmalar ve hayvan deneyleriyle kanıtlanmıştır. Sistemik uygulamada, progresif, irreversibl, bilateral SNİK ve tinnitusa yol açabilmektedir. Daha az sıklıkla vestibüler bozukluklara da neden olduğu gösterilmiştir (9). Ayrıca kemik iliği supresyonu ve gastrointestinal bozukluklar da oluşabilmektedir (15).

Tinnitus CP terapisinin bir sekeli olarak hastaların %60’ında oluşur. Ancak işitme kaybının bir habercisi değildir. Tinnitus geçici olarak görülebilir ve kemoterapinin kesilmesinden sonra kaybolabilir. Genellikle bilateral ve kalıcı da olabilir. Genellikle

yüksek frekanslardaki işitme kaybı ile birlikte veya herhangi bir işitme bozukluğu belirtisi olmaksızın var olabilir (13,14).

CP mide ve barsak kanalından absorbe edilmediği için yalnızca intravenöz uygulanır. Plazma proteinlerine %90 oranında ve kısmen irreversibl olarak bağlanan CP, dokulara da bağlanır. Eliminasyon yarı ömrü 60 saat kadardır.

CP'nin; myelosupresif etkinliği orta derece olduğu için kombinasyonlar için elverişli bir ilaçtır. İntravenöz infuzyon ve yavaş intravenöz enjeksiyon şeklinde tek başına 100 mg/m² dozunda, kombinasyon içinde ise 20 mg/m² dozunda uygulanır. CP'nin plazmadan atılım yolu üriner yoldur (14). Fakat alımını takiben ancak %35-50'si 5 günde atılır (13). Geri kalan kısmı daha uzun peryotta yavaşça atılır (14). 4 ay süre ile böbrek dokusunda saptanabilir (13).

Akut tübüler nekroz ve glomerüler filtrasyonda bozulma, doza bağlı olarak en ciddi yan etkisidir. SNİK yapabilir (4,7,16). Kemik iliği deprese edici etkisi orta derecededir. Hemen hemen tüm hastalarda doza bağlı bulantı kusmaya yapar. Periferik motor ve sensöral nöropatiye neden olabilir. Hemoliz ve ateş gibi alerjik reaksiyonlar yapabilir (16,17). Mutajenik, teratojenik ve ayrıca karsinojeniktir (16,17,18).

CP'nin ototoksisite profili iyi bilinmektedir (13). İnsandaki ototoksisite insidansı ve derecesi oldukça değişkendir. Hastanın yaşı, ilacın dozu, ilacın verilme sıklığı, süresi ve şekli, böbrek fonksiyonlarının durumu, tümörün yeri, daha önce işitme kaybı olup olmadığı, birden fazla ototoksik ilacın aynı anda kullanılması, kronik gürültüye maruziyet, daha önce kranial radyasyon alımı ototoksisitenin insidans ve derecesini etkileyen faktörlerdir (4,7,13,14).

Artan kümülatif dozlar işitme kaybının şiddetini artırır ancak bazen tek bir bolus uygulamadan sonra ciddi işitme kaybının görülmesi, CP ototoksisitesinde kişisel yatkınlığın da etkili bir faktör olduğunu düşündürür (2,13).

CP, doza bağımlı olarak işitme yollarındaki metabolik aktiviteyi yavaşlatarak ve merkezi sinir sisteminde bozulmaya yol açarak, uyarılmış beyin sapı potansiyellerinde değişikliklere ve hatta retrokoklear özellikte SNİK'e neden olmaktadır. Bu yüzden, özellikle çocuklarda, CP'ye bağlı SNİK ve sesi ayırt etme skorunda önemli kayıplar ortaya çıkmaktadır.

Retrokoklear özelliği nedeniyle, CP toksisitesinin BİUP ile erkenden saptanmasının mümkün olacağına ilişkin çalışmalar vardır. CP, ayrıca vestibuler siniri de etkilemekte ve periferik sinirlerde de hasara yol açarak proprioseptif ve duysal hislerde değişimlere neden olmaktadır. CP kullananlarda, doza bağımlı olarak karıncalanmalar, derin tendon reflekslerinde azalma ve ataksi bildirilmiştir. Daha nadir olmakla birlikte motor parezilerle de karşılaşmıştır. Ayrıca, otonom sinir sistemi bozuklukları da bildirilmiştir (1).

Antitümör etkileri maksimuma çıkartıp yan etkileri minimize indirmek için farklı doz uygulamaları denemesiyle ayrıca hidrasyon ve tuz yükleme ile nefrotoksisiteyi engellemede başarılı olursa da ototoksisite üzerine bu önlemlerin etkisi tespit edilmemiştir (3,14).

CP'nin neden olduğu işitme kaybı bilateral, doza bağımlı, progresif, irreversibl ve yüksek frekanslarda başlayıp zamanla düşük frekansları da etkileyen sensörinöral tipte işitme kaybıdır. Genellikle simetriktir ancak %20 olguda unilateral işitme kaybı da görülebilmektedir. Araştırmacıların çoğu, CP tedavisinin kesilmesini takiben ototoksik işitme kaybının çoğunlukla düzelmediğini bildirmişlerdir. Bu nedenle CP ototoksisitesi kalıcı olarak kabul edilir. Ancak işitme eşik değerlerinde kısmi düzelme olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (3,13,19). CP kullanımı sonrası erişkinlerde ortaya çıkan ototoksisite insidansının %20-90 arasında değişebildiği bildirilmekle beraber (5), yüksek frekans odyometrisi kullanıldığında işitme eşiği değişikliği oranının %100'e ulaştığı

belirtilmiştir (2). Kemoterapi rejimlerindeki, ototoksisitenin tanımlanmasındaki ve işitmenin değerlendirilmesindeki farklılıklar ototoksisite epidemiyolojisindeki sonuçların değişkenliğinde rol oynar (13).

Erişkinlerde olduğu kadar çocuklardaki malign tümörlerde de yaygın kullanımı vardır. Bu nedenle CP çocukluk çağı için önemli bir toksik maddedir (1). CP'nin osteosarkom, nöroblastom gibi pediatrik solid tümörlerde kullanımının artmasıyla çocuklarda ototoksisitenin önemi artmıştır. Buna ilaveten CP'nin indüklediği işitme kaybı pediatrik popülasyonda daha ciddi boyuttadır. Yapılan çalışmalarda bu oran %50-100 arasında bildirilmiştir ve üçte biri işitme cihazı kullanmak durumunda kalmaktadır. Ancak bu hastalarda ortaya çıkan işitme kaybı eşlik eden veya önceden uygulanmış olan radyoterapi nedeniyle artmış olabilir (14).

CP vestibülotoksisitesi birçok çalışmaya konu olmasına rağmen açık ve tutarlı bir kanıt bulunamamıştır. Vestibülotoksik etkiler sadece, CP kemoterapisinden bağımsız olarak vestibüler sistemleri daha önceden haraplayıcı bir ajana (yaşlanma veya aminoglikozid antibiyotik tedavisi) maruz kalan kanserli hastalarda görülmüştür (13).

2.2.2.3. Cisplatinin ototoksik etki mekanizması

Yapılan ultrastrüktürel incelemeler CP ototoksisitesinin etkilediği primer bölgenin kokleanın bazal ve orta kısımlarındaki DTH'ler olduğunu göstermiştir. Tüylü hücre hasarı tabandan apekse, 3. sıra DTH'lerden 1. sıra DTH'lere ve daha sonra İTH'lere doğru progresyon gösterir. Destek hücreleri ve stria vaskularis genellikle korunmuştur. Spiral ganglion hücrelerindeki değişiklikler de yine DTH hasarının en şiddetli olduğu bazal kıvrımlarda görülür. DTH hasarının şiddetinin işitme kaybının şiddetiyle, hasar lokalizasyonunun ise işitme kaybının görüldüğü frekanslarla yakın ilişkili olduğu bulunmuştur. Kobaylarda CP ototoksisitesinde elde edilen elektrokokleografi sonuçlarında, koklear mikrofoniklerdeki değişikliklerin endokoklear potansiyel değişikliklerden çok

daha belirgin olması da, etkilenen bölgenin DTH'ler olduğunu göstermiştir (7,19,20). DTH hasarı ile sesin mekanoelektriksel transdüksiyon işlevinde bozulma ortaya çıkar; bu da kokleanın sensitivite ve frekans selektivite fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyerek koklear amplifikatör mekanizmanın işleyişini ortadan kaldırmaktadır (21).

CP sitotoksitesinin hücresel mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle toksisite mekanizmasını anlamak amacıyla, CP'nin etkisi çeşitli hayvan modelleri üzerinde çalışılmıştır. CP toksisitesinden sorumlu birden fazla mekanizmanın olduğu düşünülmektedir. Hücre içerisine difüzyon yoluyla giren CP, antitümoral ve hatta toksik etkisini, hücre içinde reaktif platin türlerine hidrolize olarak gösterir. CP, DNA ile etkileşerek, zincir içi ve zincirler arası çapraz bağlar oluşturur. Bu bağların ortaya çıkışı ise DNA transkripsiyon ve replikasyonunu inhibe eder. CP'nin modifiye ettiği DNA, yeterince yenilenemediğinden, ortaya çıkan DNA hasarı apoptozisi başlatır. Bu hasar onarılamayacak boyuttaysa, hücre tarafından tolere edilemez ve hücrenin ölümüne neden olur (22). Yapılan bir çalışmada, DTH'lerin, destek hücrelerinin, stria vaskülaris marjinal hücrelerinin ve bazal kıvrımdaki spiral ligamentteki hücrelerin nükleuslarında CP uygulaması sonucunda oluşan platinlenmiş DNA'ların bulunduğu görülmüştür. Bu bulgular CP toksisitesi için bu hücrelerin hedef olduğunu düşündürse de platinium-DNA bileşiklerinin primer lokalizasyonunun stria vaskülaris marjinal hücreleri olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (23).

Bunun yanı sıra birçok çalışmada, CP toksisitesinin patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı görülmüştür. CP'ye bağlı ototoksistide reaktif oksijen radikalleri aracılı hasar antioksidanların azalması ve lipid peroksidasyonunun artması sonucunda oluşur. Süperoksit anyonunda ve hidrojen peroksitte artma koklear hücrelere kalsiyum iyonu akışına ve patolojik değişikliklere neden olur (24). CP, gerek süperoksit iyonlar gerekse hidroksil radikalleri gibi aktif oksijen türlerini üretebilir, dokudaki

antioksidan enzimleri inhibe edebilir. Aynı zamanda lipid peroksidasyonunun bir indikatörü olan MDA (malondialdehit) seviyelerinde artışa neden olabilir. (22,23,24).

Radikal oksijen türlerini temizleyen ve modifiye eden antioksidan enzimler ve yanı sıra küçük moleküller (vitamin E, β -karoten, askorbat, ve glutatyon -GSH-) hücrel hasarı sınırlandırmada rol oynar. Bu sistem ökaryotik hücreleri sadece H_2O_2 (hidrojen peroksit) gibi reaktif oksijen radikallerinden değil aynı zamanda eşlenmemiş elektronları olan serbest radikallere bağlı hasardan da korur. Üretilen reaktif oksijen radikalleri eğer kontrol edilmezse, protein, DNA ve doymamış yağlar gibi çeşitli hücrel komponentlerle reaksiyona girerek hücre ölümüyle sonuçlanabilecek kimyasal modifikasyonlara ve metabolik, yapısal değişikliklere neden olur (19).

Antioksidan koruyucu sistem, sitozolik ve membran bağlı küçük moleküllerden, oksidasyon-redüksiyon yollarına katılan değişik enzimlerden, hidrojen peroksiti ve serbest radikalleri temizleyen veya modifiye eden gama-glutamil siklusundan oluşur (19).

CP toksisitesinin moleküler mekanizmalarını açıklayan teorilerden biriside ATPaz, adenilat siklaz, sitokrom P-450 mikrozomal enzimleri ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz gibi bazı kilit enzimlerin inhibisyonudur. Bu teoriye göre ayrıca lizozomal enzim aktivitelerinde değişiklikler, mitokondrial oksijen transportunda ve/veya kalsiyum homeostazisinde bozulmalar olmaktadır (19).

2.2.3. Reaktif Oksijen Metabolitleri

Reaktif oksijen metabolitleri oksijen merkezli serbest radikallerdir veya serbest radikallerin indirgenme ürünleridir. Reaktif oksijen metabolitleri (süperoksit anyon O_2^- , hidroksil radikali $OH^\cdot$, H_2O_2) normal metabolizma süresince üretilmektedir. Ancak, iyonize radyasyon, oksitleyici özellik taşıyan ajanlar (bazı ilaçlar, örn; antineoplastikler, bazı antibiyotikler), hücreye yabancı olan maddeler (ksenobiyotikler), hiperoksi, enflamasyon, hava

kirliliği, kanser, diyabet ve yaşlanma gibi durumlarda reaktif oksijen metabolitlerinin üretimi artabilir ve hücrel hasara neden olabilir (25).

Bu maddeler, sitoplazmik membranın ve hücre-içi organel membranının lipidlerinin peroksidasyonuna ve membran permeabilitesinin artmasına, enzimlerin ve sitostrüktürel proteinlerin sülfidril gruplarının oksitlenmesine ve çapraz bağlanmasına, enzimlerin inaktivasyonuna ve bu arada antiproteazların inhibisyonu sonucu dirençli proteolitik enzimlerin aktivasyonuna, DNA yapısının bozulmasına ve kırılmasına (mutasyona) ve mukopolisakkaritlerin depolimerizasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu sonucunda membran yapısının bozulmasının yanı sıra, oluşan lipid peroksitler, iltahap hücrelerine karşı kemotaktik oldukları için, bu hücreleri dokuya çekerek inflamatuvar reaksiyon oluştururlar.

Radikaller proteoglikan ve glikozaminoglikan moleküllerinde de oksidatif zedelenme yaparlar. Hücrede iyon transportunu ve transmembranal potansiyeli bozarlar. Radikal oluşma hızının derecesine, antioksidan savunma mekanizmalarının etkinlik derecesine ve diğer özelliklere göre, hücre türlerinin reaktif oksijen radikallerinin toksisitesine duyarlılığı farklıdır (16,26).

2.2.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

İnsanlarda serbest radikallerin tahribatını önleyen, sınırlayan ve kısmen tamir eden antioksidan mekanizmalar mevcuttur (27). Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında sınırlı miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler ancak hiperoksijenasyon, iskemi ve sonrası reperfüzyon, radyasyon, stres, dokularda reaktif oksijen radikallerini oluşturan ksenobiyotiklere (sigara dumanı, ozon, asbest, v.b gibi) maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofiller eozinofiller ve makrofajların dokuda toplanması gibi durumlarda oksidan/antioksidan

dengesi bozularak antioksidan mekanizmalar tükenir. Sitotoksik radikal etkinliği artar hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar (16).

Antioksidan Etki Tipleri:

- a.. Toplayıcı etki
- b. Bastırıcı etki
- c. Onarıcı etki
- d. Zincir kırıcı etki

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine "toplayıcı etki" denir. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya "bastırıcı etki" denir. Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak (hemoglobin gibi) zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye "zincir kırıcı etki" denir (25).

Antioksidanlar; endojen ve ekzojen kaynaklı olmak üzere başlıca iki grupta sınıflandırılabilir.

Endojen Antioksidanlar

1. Enzimatik antioksidanlar: Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz, Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon Redüktaz, Glutasyon-S-transferaz, Mitokondrial sitokrom oksidaz, Hidroperoksidaz

2. Enzimatik olmayan antioksidanlar:

I. Makromoleküller: Seruloplazmin, Transferin, Ferritin, Hemoglobin, Miyoglobin

II. Mikromoleküller: Vitamin E, Vitamin C, Vitamin A, Tiyo İçerenler (Glutasyon, N-Asetil Sistein, Metiyonin, Kaptopril), Glikoz, Ürik Asit, Bilirubin, Albumin, Ubiquinon, Melatonin, Selenyum, Lipoik asit

Eksojen Antioksidanlar: Ksantin Oksidaz İnhibitörleri (Allopürinol, Oksipürinol, Folik Asit), NADPH Oksidaz İnhibitörleri (Adenozin, Lokal Anestezikler, Ca Kanal Blokörleri, Nonsteroid Antienflamatuar İlaçlar), Nötrofil Adezyon İnhibitörleri, Soya Fasülyesi İnhibitörleri, Rekombinant Human-SOD, Trolox-C, Endojen Antioksidan Aktiviteyi arttıran maddeler (Ebselen, Asetilsistein), Non-enzimatik Serbest Radikal Toplayıcıları (Mannitol, Dimetil Sülfoksit), Demir Şelatörleri (Desferroksamin, Dimetiltiyöüre), Sitokinler (Tümör Nekroz Faktörü, İnterlökin-1), Barbitüratlar, Flavonoidler.(28,29,30)

Hücre içerisindeki antioksidan savunmanın belkemiğini oluşturan enzimatik antioksidanlar, aktif merkezlerinde Cu, Zn, Mn, Fe, Se gibi metalleri içerirler. Düzeyleri genetik kontrol altındadır. Hücre içerisinde fazla miktarda bulunanları; SOD, katalaz ve GSH-Px'tir (28).

Ferritin, transferin, laktoferrin ve seruloplazmin, hidroksil radikali oluşmasını sağlayan haber-weiss reaksiyonunu katalize eden demir ve bakır iyonunu hücrede ve plazmada bağlayarak, mitokondrial sitokrom oksidazlar ise mitokondrilerde doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyerek etkili olurlar.

Enzim olmayan antioksidanlardan E vitamini, lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir ve hücre membranında lokalizedir (16). Vitamin A ve β -karoten singlet oksijeni baskılayıp superoksit radikalini temizleyerek ve peroksi radikalleri ile direk etkileşerek antioksidan özelliklerini gösterir (31). Askorbik asit (vitamin C) güçlü bir redükleyici ajan ve antioksidan olup süperoksit anyon, peroksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyonu sonucu metaboliti olan dehidroaskorbik asit oluşturur (32).

2.3. MELATONİN:

Pineal bezin ana hormonu olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) bir indolamin türevidir (33). Tüm canlılarda gece daha fazla miktarda salgılanan melatoninin

sirkadiyen ritimde salgılandığı kabul edilir, insanda normal şartlarda gece serum melatonin düzeyi gündüz değerinden 5 ile 10 kat fazladır (34,35). Canlılarda melatonin sentezi periferik sempatik sinir sistemi yolu ile ışık karanlık döngüsünün kontrolü altındadır. Pineal bezden sirkadiyan ritimde salgılanan melatoninin en iyi bilinen etkisi uyku-uyanıklık döngüsünün sağlanması ve üreme fizyolojisi ile ilgili olan hipotalamus-hipofiz-gonadlar aksı üzerine inhibitör etkisi olmak üzere immün sistem aktivitesinin modülasyonu, vücut ısısının düzenlenmesi, yaşlanma-antiaging hormon, antimitotik aktivite ve maligniteye etkisi, strese cevap ve genel adaptasyon-antistres hormonu, hücre çoğalması, antioksidan gibi etkileri bilinmektedir (34,35,36).

Melatonin dolaşıma geçtikten sonra plazma albüminine bağlanır. Melatoninin yarılanma ömrü 20-40 dakika arasında olup karaciğerden ilk geçişte %90'ı metabolize olur. Başlıca karaciğerde metabolize edilmekle birlikte böbrekte de metabolize edilir ve 6-OH melatonine dönüştürülerek metaboliti idrar yolu ile atılır (36,37).

2.3.1. Melatoninin Antioksidan Etki Mekanizması

Melatoninin prekürsörleri olan triptofan ve 5-OH triptaminin antioksidan aktivitesi gösterilmiş bir gerçektir. Bu aktivite serbest oksijen radikallerini yakalayan moleküldeki indol yapısına dayanır (37). Melatoninin bir antioksidan olduğu literatürde ilk kez 1991 yılında Ianas ve ark. tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla desteklenmiştir. Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde melatoninin antioksidan özelliği üç ana başlık altında toplanabilir.

Direkt antioksidan etki

Melatoninin hidroksil radikali, hidrojen peroksit, peroksinitrit anyonu, hipokloröz asit gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (38). Melatoninin antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Fizyolojik

şartlarda pek çok indol, melatonine benzer şekilde yıkılsa da O_2 varlığında melatoninin pirol halkasının indolamin 2,3 dioksijenaz ile enzimatik ya da hemin ile nonenzimatik olarak yıkımı yüksek reaktiviteye sahip N-asetil-N-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Melatoninin H_2O_2 varlığında da AFMK oluşturduğu ve bu metabolitin radikal tutucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (38,39).

AFMK oluşumuna yol açan diğer bir mekanizma ise, yüksek bir affinite ile OH radikalini bağlayabilen melatoninin indolil katyon radikalini oluşturması ve bu radikalın de O_2 'yi yakalayarak AFMK'ye dönüşmesidir. AFMK, daha sonra arilamin formamidazın katalizlediği reaksiyonla N-asetil-5-metoksikinüramin (AMK)'e çevrilmektedir. Diğer taraftan indolil radikal, HO varlığında siklik 3-hidroksimelatonin oluşturmakta ve bu metabolitin idrar düzeyleri, radikal üretimin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Çeşitli antioksidanların gücünü belirlemek amacıyla yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, melatoninin en güçlü antioksidanlardan biri olduğunu göstermektedir. Askorbat, α -tokoferol ve GSH gibi zincir reaksiyonlarını kırabilen diğer antioksidanlardan farklı olarak, melatonin yayılmakta olan lipid peroksidasyonunu peroksil radikalini yakalayarak sonlandırmaktadır (37). Melatoninin bu antioksidanlardan daha güçlü olduğu, GSH'tan 5 kat ve mannitolden 14 kat daha güçlü bir şekilde OH radikalini yakaladığı in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. 5-OH-triptofan, 5-OH-triptamin ve serotonin ile kıyaslandığında, melatoninin, NO oluşumunu azaltan en güçlü indol olduğu saptanmıştır. In vitro şartlarda melatoninin doza bağımlı bir şekilde, ONOO'nun yol açtığı oksidasyonu önlediği ve ayrıca kendisi nitrasyona uğrayarak ONOO'yu detoksifiye ettiği; in vivo enflamasyon modelinde de nitrotirozin oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (38).

Antioksidan enzim aracılı etki

Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki melatoninin, SOD, GSH-Px, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve γ -glutamilsistein sentetaz gibi bazı

antioksidan enzimlerin ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir (37,40,41).

Prooksidan enzim aracılı etki

Melatoninin bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yolla da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir. In vivo ve in vitro şartlarda NO ve daha ileri aşamada ONOO oluşumuna neden olan nitrik oksit sentetaz aktivitesinin, fizyolojik melatonin konsantrasyonlarında inhibe edildiği bildirilmektedir (38,40). Melatoninin bu antioksidan özelliklerini destekleyecek şekilde; oksidatif doku hasarına yol açan kainik asit, L-sistein, CP, adriamisin, alloksan, streptozotosin, sentetik seks steroidleri ve siklosporin gibi toksinlerle indüklenen oksidatif stresin melatonin ile önlenbildiği, in vivo çalışmalarla da gösterilmiştir(41).

Bunların dışında melatonin, hem suda ve hem de lipid fazda çözünebildiğinden, organizmada çok geniş alanda antioksidan etki gösterebilmektedir. Kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçebilen melatonin için, bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, melatoninin tüm intrasellüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilmesini sağlamaktadır. Böylece melatonin, hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilmektedir. Hücre membranı ile temas ettiğinde, fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunan melatonin, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur. Melatonin varlığında, mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan O_2 , H_2O_2 , OH gibi radikallerin üretimi de azalmaktadır. Çekirdeğe kadar ulaşabilme özelliği, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında melatonine bir üstünlük sağlamaktadır (36,38,40). Daha da önemlisi, diğer antioksidanların aksine, çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve 5 yıl gibi uzun süre kullanımda bile melatoninin toksik bir etki göstermemesidir.

Melatonin gibi güçlü bir antioksidanın, patogenezinde serbest radikal hasarı olduğuna inanılan Alzheimer hastalığı, sepsis, iskemi/reperfüzyon, ultraviyole radyasyonuna bağlı eritem, demir ve eritropoetin uygulaması ve tardiv diskinezi gibi patolojilerde, klinik kullanıma da girdiği bildirilmektedir (40).

2.4. α -LİPOİK ASİT

ALA fizyolojik sistemlerde bulunan, tiyol grubu içeren ve antioksidan aktivitesi olan önemli bir moleküldür (42). Nispeten küçük bir moleküldür (Molekül ağırlığı: 206). Yükseltgenmiş formunda intramoleküler disülfid bağı oluşturan, disülfid türevi bir oktanoik asittir. ALA'nın okside olmuş ditiyolan halkası çevresel şartlara bağlı olarak moleküle yüksek bir indirgeme özelliği kazandırmaktadır. ALA ve DHLA'nın (dihidrolipoik asit) kimyasal reaktivitesini sağlayan da ditiyolan halkasıdır. Bu yapı ALA'yı bilinen tiyol içeren diğer biyomoleküller arasında özgün kılmaktadır (43).

ALA insan diyetinde yeterli miktarda bulunmasına rağmen, de novo olarak mitokondride lipoik asit sentaz tarafından sentezlenmektedir. Hem lipid hem de sulu ortamda çözünür, kolayca emilir ve hücrelere taşınarak, DHLA'ya indirgenir. ALA hücreye girdikten sonra sitozolik enzimler olan GSH redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz ve mitokondrial enzim E₃ tarafından indirgenmektedir. ALA barsaktan emildikten sonra, çeşitli dokularda metabolik değişikliğe uğradıktan sonra salgılanır. Lipoat metabolizmasındaki katabolik süreç pentanoik asit yan zincirinin β -oksidasyonu üzerinden gerçekleşmektedir. ALA metaboliti olan 3 ketolipoat, serbest ALA'nın β -oksidasyonla salgılandığını göstermektedir (42,44).

Sitrik asit siklusundaki multienzim dehidrogenaz kompleksinin (piruvat dehidrogenaz ve α -ketoglutarat dehidrogenaz) kofaktörüdür. ALA ekzojen verildiğinde serbest radikal temizleyici, metal şelasyon ve vitamin E, askorbik asit ve glutatyonun rejenerasyonu gibi antioksidan özellikler gösterir (45). DHLA'nın, ALA'ya göre antioksidan etkisi daha

fazladır (44). ALA'nın iki ayrı izomerik konfigürasyonu vardır. R formu doğal, S formu ise sentetiktir (45). Redükte DHLA ve okside ALA formlarının her ikisi de $\cdot\text{OH}$ 'i, HOCl (hipoklorik asit) ve $^1\text{O}_2$ 'yi (singlet oksijen) doğrudan temizler, H_2O_2 'yi ise redükler. ALA ve DHLA doğal olarak fizyolojik sistemlerde bulunduklarından ideal terapötik antioksidan olduğu düşünülebilir. ALA, antioksidan etkiye ilaveten bazı metabolik yollarda enzim aktivitelerini de etkileyebilir. Hepatik mikrozomal enzimlerden sitokrom P_{450} redüktaz ile disülfid-tiyol değişimi yoluyla P_{450} redüktazı inhibe edebilir. Nitrik oksit sentaz ile sitokrom P_{450} redüktaz homologdur. Bu yüzden ALA nitrik oksit sentazı da inhibe edebilir (42).

DHLA'nın antioksidan etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen özellikle demirin varlığında prooksidan etki gösterebilir. Dihidrolipoik asit in vitro hem ferrik hem ferröz demir ile şelat oluşturur. Bu nedenle demirin oksidatif hasarını önler. Ancak ferritinden demirin ayrılmasını ve Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye dönüşümünü azaltarak oksidatif hasarı arttırabilir (45).

ALA ve DHLA'nın antioksidan ve prooksidan olarak fonksiyon gösterme yeteneği oksidan stresin tipi ve fizyolojik şartlar tarafından belirlenmektedir. Tiyol bileşikler tarafından oluşturulan prooksidan etkilerin çoğu O_2^- , H_2O_2 ve $\cdot\text{OH}$ oluşmasına bağlanmaktadır (44).

2.5. BIUP

İlk kez 1875 yılında Caton tarafından hayvan deneyi ile beyinde elektriksel olayların varlığı ortaya konmuştur. Berger, 1929 yılında insan beyinde elektriksel beyin aktivitesini (EEG) kaydetmiştir. Bu spontan aktiviteler yanında çeşitli uyarılar göndererek uyarılmış nörolojik potansiyellerin kaydı da yapılmıştır. BIUP ise ilk kez 1971 yılında Jewett ve Wilson tarafından tanımlanmıştır (46). Günümüzde işitme eşiklerinin ve işitmenin periferden santrale kadar uzanan yol boyunca oluşan patolojilerin belirlenmesinde en objektif yöntemdir. İşitsel klik uyarısı takiben 1-12 msn sonra dalgalar oluşmaya başlar.

Koklear sinir distalinden işitme korteksi dahil santral işitme yollarından 7 adet dalga formu oluşur. Bu dalgaların köken aldıkları lokalizasyonlar:

- 1.Dalga: Sekizinci sinir distali
- 2.Dalga: Koklear nükleus
- 3.Dalga: Superior oliver kompleks (lower pons)
- 4.Dalga: Lateral lemniscus (med.pons)
- 5.Dalga: İnferior colliculus (mezensefalon)
- 6.Dalga: Medial genikulat ganglion (talamus)
- 7.Dalga: Serebral işitsel korteks

Klik uyararı; BİUP'ta en sık kullanılan uyarandır. Kare yada dikdörtgen şeklinde 0.1 msn süreli uyarandır. En çok kullanılan klik “alternan klik”tir. Alternan klik'te artefektlerin bir bölümü elimine olur. Klik stimulusun da çok geniş frekans spektrumu bulunur. İç kulağa erişen klik kokleayı tabandan tepeye kadar tüm baziller membran boyunca tarar ve işitsel yoldaki tüm nöronlar senkronize şekilde uyarılmış olur.

Filtreler: Belirli frekansları geçiren alt ve üst sınırdakileri geçirmeyen sistemlerdir. Alt sınır 100-150 Hz, üst sınır 200-300 Hz arasındadır. Etraftaki manyetik dalga ve gürültü etkisini önlemek için filtre gereklidir. Ayrıca elektromanyetik dalgalardan korunmak için hasta faraday kafesine konmalıdır. Hasta faraday kafesine bulunduğu kardiak ve muskuler aktiviteler nedeniyle artefaktlar ortaya çıkar. Bu esnada filtreler devreye girer.

BİUP'ta Kullanılan Parametreler:

Mutlak dalga latansı: Akustik stimulus başlangıcı ile ortalama cevap piki arasındaki zaman periyodu olarak tamamlanır. 1.dalga latansı 1.7 msn'dir. Bundan sonraki dalgalar arasında 1 msn fark vardır. Buna göre I. dalga 1.7msn, II. dalga 2.8msn, III. dalga

3.8msn, IV. dalga 4.7msn, V.dalga 5.8msn'dir. I-III interpik latans (IpL) intervali 2msn, III-V arası interpik latans intervali 2msn, I-V interpik latans intervali 4msn'dir.

Dalga amplitüdü: Dalganın pozitif pikten negatif pikine kadarki yüksekliğine dalganın amplitüdü denir ve mikrovolt olarak ölçülür ve komponentinin hacmini yansıtır. Değerlendirmeler V/I dalga amplitüd oranına göre yapılır. Yani V.dalga her zaman I. dalgadan büyüktür. V/I oranı birden küçük ise retrokoklear patoloji mevcuttur. Normalde V.dalga dik olarak iner.

Dalga amplitüd ve morfolojisini etkileyen faktörler:

1) Yaş: Yaşamın her dekadı için V.dalga latansı 0.1 msn artar. Yenidoğan ve süt çocuğunda latanslar uzundur. I.dalga 3-4 ayda, V.dalga 3-4 yaşta normale döner, yaşlıda uzundur.

2) Cinsiyet: Kadınlarda kafanın küçük, beyin sapının kısa olması sebebiyle latanslar kısadır.

3) Isı: Hipotermi latansı uzatır.

4) Farmakolojik ajanlar.

İşitsel beyin sapının değerlendirilmesinde en çok I., III. ve V. dalgaların amplitüdüleri, latansları, V/I amplitüd oranları tanısal indeks gibi kullanılır. Bazı yazarlar tarafından çok labil oldukları kabul edilerek interpik ve interaural latanslar değerlendirilmiştir (1,47,48).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi KBB Anabilim dalında, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen ratlarla yapılmıştır. Çalışmada Sprague-Dawley soyunda 60 adet sağlıklı 3 aylık erişkin dişi rat kullanılmıştır. Ratların ağırlığı 180-220 gr. arasında olup ortalama ağırlıkları 200 gr. olarak tespit edildi. Ratlar tüm çalışma boyunca 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodunda, 20 ± 2 °C sıcaklık ve 50 ± 10 nisbi nem sağlanmış, saatte 15 kez hava sirkülasyonu olan odalarda tutulmuştur. Yem ve su ad libitum olarak verilmiş, polikarbonat malzemeden yapılmış, 1820 cm² taban alanına sahip kafeslerde (Tecniplast Company, Italy) beşerli gruplar halinde barındırılmışlardır.

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı (tarih:30.5.2007, sayı:2007/18) alındıktan sonra çalışmaya başlandı.

Ratlar 6 gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol Grubu -K-; n=10): Diğer gruplarda oluşan enjeksiyon stresini karşılamak için 8 gün boyunca i.p. 1 mg/kg dozunda serum fizyolojik uygulandı.

Grup 2 (Cisplatin Grubu -CP-; n=10): Bir defaya mahsus olmak üzere i.p. 10 mg/kg CP (Cis-Diammineplatinum II chloride) uygulandı.

Grup 3 (Melatonin Grubu -Mel-; n=10): 8 gün boyunca i.p. 4 mg/kg melatonin (Melatonine for synthesis C₁₃H₁₅ N₂O₂, M: 232.28 g/mol Merck, Germany) uygulandı.

Grup 4 (α -lipoik asit Grubu -ALA-; n=10): 8 gün boyunca i.p. 100 mg/kg α -lipoik asit (DL- α - lipoic acid > 98.0 % HPLC Fluka) uygulandı.

Grup 5 (Cisplatin + Melatonin Grubu -CP+Mel-; n=10): Bir defaya mahsus olmak üzere i.p. 10 mg/kg CP uygulandı ve CP enjeksiyonundan 1 gün önce başlamak kaydı ile 8 gün boyunca i.p. 4 mg/kg melatonin uygulandı.

Grup 6 (Cisplatin + α -lipoik asit Grubu -CP+ALA-; n=10): Bir defaya mahsus olmak üzere i.p. 10 mg/kg CP uygulandı ve CP enjeksiyonundan 1 gün önce başlamak kaydı ile 8 gün boyunca i.p. 100 mg/kg α -lipoik asit uygulandı.

Tüm gruplarda ilk enjeksiyonlara başlamadan 30 dk. önce BİUP ölçümü yapıldı. ilk cisplatin enjeksiyonlarının yapıldığı gün, gün 0 olarak alınmış, kontrol grubu dışındaki tüm gruplara 3., 7. ve 15. günde olmak üzere toplam 4 kez, kontrol grubuna ise 7. ve 15. günlerde olmak üzere toplam 3 kez BİUP ölçümü yapıldı.

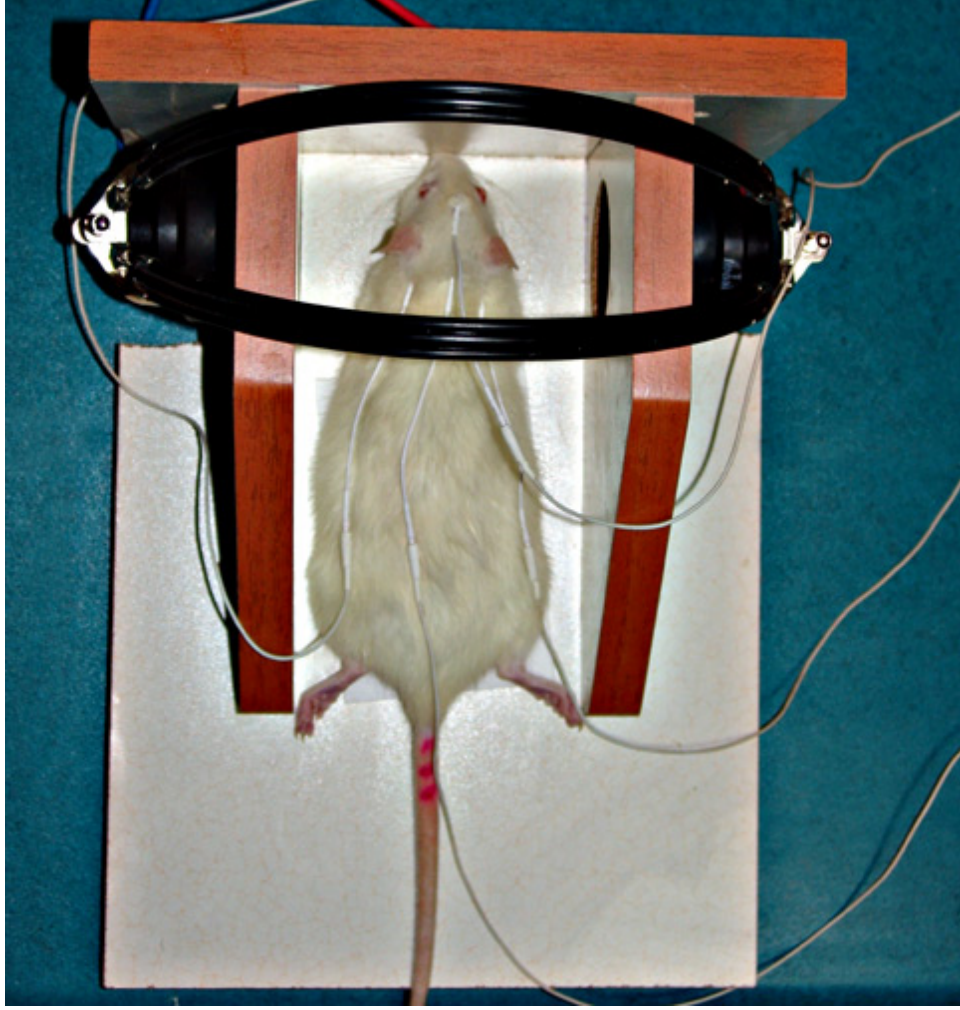
BİUP Uygulaması:

Deney hayvanlarına intramusküler ketamin hidroklorür (50 mg/kg) ve xylazine (10 mg/kg) yapılarak anestezi sağlandıktan sonra uyarılmış potansiyellerin elde edilmesi için, ratlar elektriksel ve akustik olarak yalıtılmış bir ortamda özel olarak hazırlanmış düzeneğe yerleştirildi (Resim 1).



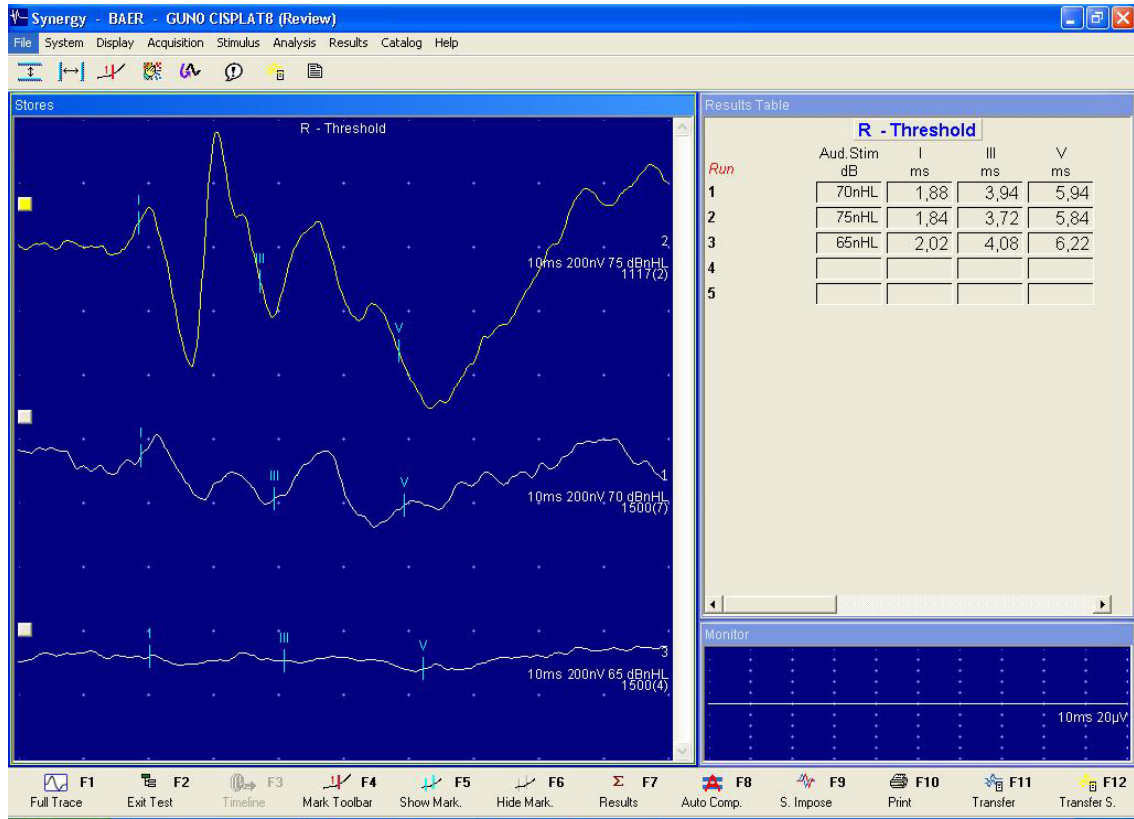
Resim 1. Ratta BİUP uygulaması

BİUP ölçümleri Oxford Instruments MedelecSynergy EMG and EP Systems ile yapıldı. Microphone TDH-49p kulaklık ve Viasys Healthcare TECA Needles subdermal iğne elektrotları kullanıldı. Aktif elektrotlar retroauriküler bölgeye, referans elektrot orta hatta vertekse ve nötral elektrot ise iki göz arası orta hatta yerleştirildi (Resim 2).

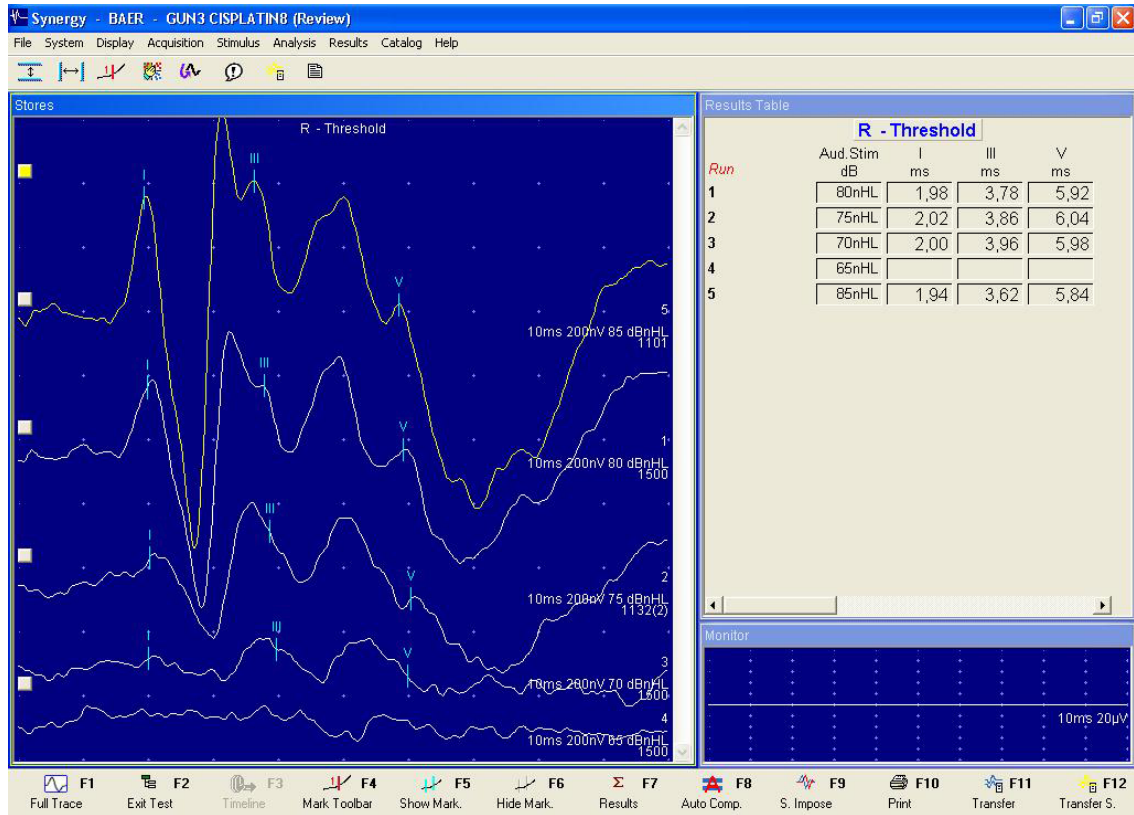


Resim 2. Elektrotların yerleşimi

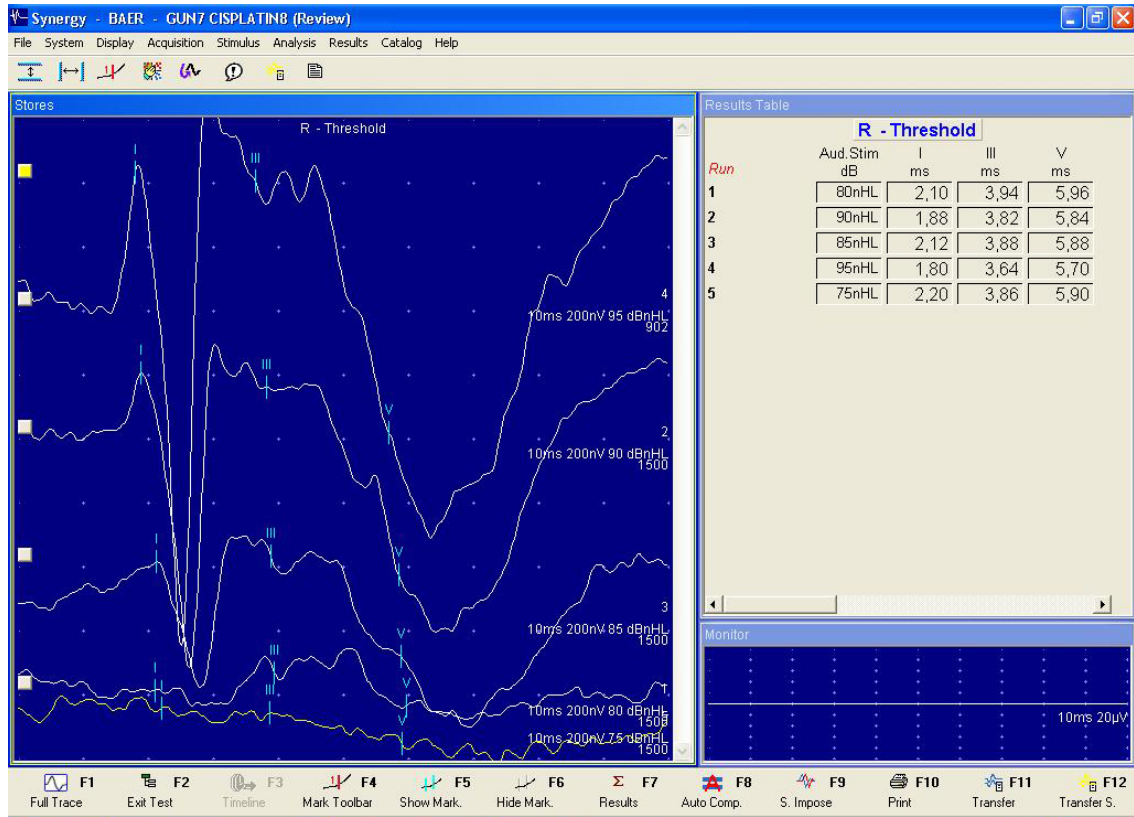
Uyarı her kulağa sırayla verildi ve stimulus olarak klik stimulus kullanıldı. Bir kulak uyarılırken diğer kulak beyaz gürültü ile maskelendi. Stimulus 15 Hz frekansta, analiz süresi 10 msn olarak seçildi. Eşik tespitinde stimulus şiddeti eşik üstü değerden başlanıp 10ar dB azaltılıp, eşik yakınında ise azaltmalar 5er dB olarak yapıldı. Her test için 1000-2000 klik uyarı verildi. Monitörde I., III. ve V. dalga formasyonları elde edildi. I., III. ve V. dalgaların latansları ve I-III, III-V ve I-V IpL intervalleri tespit edildi. BİUP kayıtları dalgaların latans-şiddet fonksiyonlarına göre değerlendirildi. Eşik değeri tespit edildi ve dalga formasyonundaki değişiklikler kaydedildi (Resim 3).



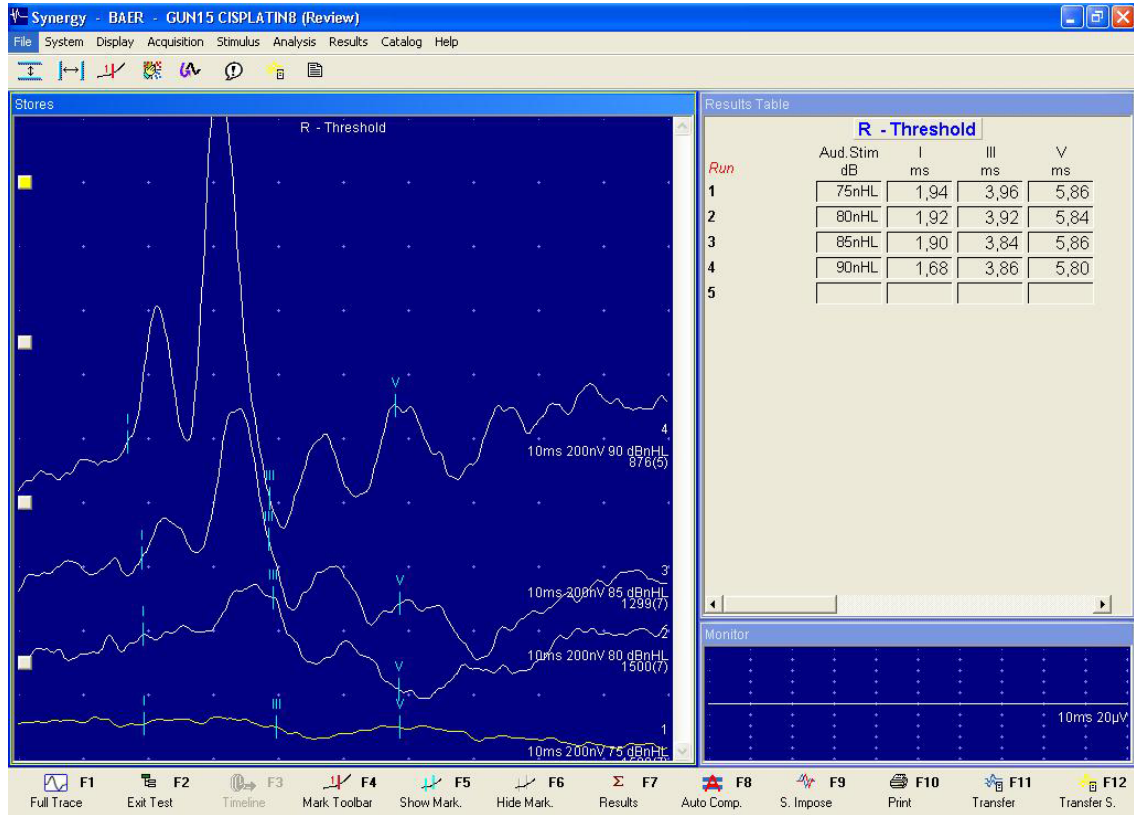
Resim 3a. CP uygulanan ratta 0. gün BİUP



Resim 3b. CP uygulanan ratta 3. gün BİUP



Resim 3c. CP uygulanan ratta 7. gün BIUP



Resim 3d. CP uygulanan ratta 15. gün BIUP

Veriler SPSS 13.0 bilgisayar programına girildi. Tanımlayıcı bulgular ortalama+standart sapma şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırma için tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Farklı çıkan ölçümlerde farklılığı yaratan grubu bulmak için post-hoc tukey testi kullanıldı. Grup içi tekrarlı ölçümlerin karşılaştırmalarında Wilcoxon t testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada Man-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki kare testi kullanıldı. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar grafik ve tablolar yardımıyla gösterildi.

4. BULGULAR

Çalışma ve kontrol gruplarının 0., 3., 7. ve 15. günlere ait I., III. ve V. dalga latans değerleri Tablo 1’de, I-III, I-V ve III-V IpL intervalleri Tablo 2’de, işitme eşik değerleri Tablo 3’te gösterilmiştir. Melatonin grubunda 3 adet rat 6. gün ve ALA grubunda 2 rat 8. günde peritonit nedeniyle kaybedilmiştir.

CP uygulanan ratlarda 3. gün V. dalga latansının anlamlı derecede uzadığı görüldü ($p<0.05$). Diğer dalga latanslarında günler arasında anlamlı derecede fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 1).

ALA uygulanan ratlarda I. dalga latansının 3. ve 15. gün istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaldığı tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 1).

Melatonin uygulanan ratlarda III. dalga latansının 3. ve 7. günlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede uzadığı tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 1).

CP+ALA grubunda ise I. dalga latansında 0. ile 3., ve 7. günler arasında, III. ve V. dalga latanslarında 0. ile 3., 7. ve 15. günler arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 1).

CP+Melatonin grubunda I. ve III. dalga latansları 0. ile 3., 7. ve 15. günler arasında, V. dalga latansı ise 0. ile 7. ve 15. günler arasında anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo 1).

I. ve III. dalga latanslarına bakıldığında CP ile CP+Melatonin ve CP+ALA grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak CP+Melatonin ile CP+ALA grupları arasında I. dalga latansında anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 1).

CP uygulanan ratlarda V. dalga latansının CP+Melatonin ve CP+ALA verilen ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+Melatonin ve CP+ALA grupları arasında da anlamlı derecede fark saptandı ($p<0.05$) (Tablo 1).

Kontrol grubuna göre ALA ve CP+Melatonin gruplarının III. dalga latansının istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma ve kontrol gruplarının I., III. ve V. dalga latanslarının günlere göre dağılımı

	0. gün	3. gün	7. gün	15. gün	<i>p</i>
	(Ort±ss)	(Ort±ss)	(Ort±ss)	(Ort±ss)	
I. Dalga					
Kontrol	1.75±0.17		1.80±1.12	1.78±0.13	
CP	1.75±0.18	1.79±0.13	1.72±0.14	1.72±0.11	
ALA	1.73±0.15*	1.71±0.14*	1.71±0.09	1.71±0.12*	.013 / .047
Mel	1.83±0.13	1.79±0.13	1.84±0.10	1.79±0.15	
CP+ALA	1.74±0.17*	1.79±0.12*	1.82±0.07*	1.71±0.12	.001 / .000
CP+Mel	1.67±0.18*	1.76±0.10*	1.76±0.14*	1.72±0.12*	.000/ .000 / .005
III. Dalga					
Kontrol	3.78±0.18		3.70±0.17	3.65±0.17	
CP	3.78±0.27	3.75±0.12	3.80±0.21	3.73±0.12	
ALA	3.84±0.36	3.83±0.10	3.84±0.09	3.79±0.10	
Mel	3.71±0.18*	3.79±0.09*	3.84±0.11*	3.71±0.09	.000 / .002
CP+ALA	3.90±0.29*	3.74±0.15*	3.79±0.12*	3.69±0.15*	.000 / .000 / .000
CP+Mel	3.90±0.21*	3.83±0.17*	3.76±0.13*	3.75±0.11*	.005/ .000 / .000
V. Dalga					
Kontrol	5.76±0.23		5.82±0.10	5.70±0.14	
CP	5.71±0.14*	5.73±0.42*	5.71±0.26	5.73±0.10	.020
ALA	5.74±0.16	5.75±0.09	5.79±0.12	5.82±0.28	
Mel	5.76±0.14	5.79±0.14	5.76±0.28	5.82±0.05	
CP+ALA	5.71±0.13*	5.75±0.11*	5.85±0.07*	5.76±0.08*	.009 / .000 / .003
CP+Mel	5.81±0.15*	5.81±0.11	5.86±0.05*	5.74±0.10*	.000 / .000

* : $p < 0.05$

CP grubunda III-V IpL intervalleri arasında 0. gün ile 3. ve 7. günler arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 2).

ALA grubunda 0. ile 15. günler arasında I-V IpL intervalleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo 2).

Melatonin grubunda I-V IpL intervallerinde 0. ile 15. günler arasında, I-III IpL intervallerinde 0. ile 3. ve 7. günler arasında, III-V IpL intervallerinde ise 0. ile 3., 7. ve 15. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 2).

CP+ALA grubunda I-V IpL intervalleri arasında 0. gün ile 15. günler arasında, I-III ve III-V IpL intervalleri arasında 0. gün ile 3., 7. ve 15. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 2).

CP+Melatonin grubunda I-V, I-III ve III-V IpL intervalleri 0. ile 3., 7. ve 15. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 2).

CP verilen ratlarda CP+Melatonin verilen ratlara göre I-V IpL intervallerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilirken ($p<0.05$), CP+ALA verilen grupla istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$). CP+Melatonin grubunun CP+ALA grubuna göre I-V IpL intervallerinin anlamlı derecede farklı olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 2).

CP verilen ratlarda CP+Melatonin verilen ratlara göre I-III IpL intervallerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilirken ($p<0.05$), CP+ALA verilen grupla istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$). Yine CP+Melatonin grubunun CP+ALA grubuna göre I-III IpL intervallerinin anlamlı derecede farklı olduğu tespit edildi. ($p<0.05$) (Tablo 2).

I-III IpL intervalleri göz önüne alındığında kontrol grubu ile ALA, CP+Melatonin ve CP+ALA grupları arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Ayrıca kontrol ve

CP+Melatonin grupları arasında I-V IpL intervallerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu saptandı ($p<0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışma ve kontrol gruplarının I-III, I-V ve III-V IpL intervallerinin günlere göre dağılımı

	0. gün	3. gün	7. gün	15. gün	p
	(Ort±ss)	(Ort±ss)	(Ort±ss)	(Ort±ss)	
I-V IpL					
Kontrol	4.01±0.27		4.00±0.16	3.92±0.21	
CP	3.95±0.25	4.02±0.15	3.97±0.31	4.00±0.14	
ALA	3.99±0.21*	4.05±0.12	4.10±0.12	4.10±0.30*	.002
Mel	3.94±0.15*	3.98±0.21	3.91±0.23	4.03±0.16*	.017
CP+ALA	3.98±0.22*	3.95±0.15	4.02±0.10	4.04±0.14*	.000
CP+Mel	4.14±0.20*	4.02±0.22*	4.11±0.16*	4.03±0.15*	.000 / .051 / .000
I-III IpL					
Kontrol	2.03±0.29		1.89±0.19	1.86±0.21	
CP	2.05±0.33	1.94±0.20	2.05±0.23	2.00±0.15	
ALA	2.10±0.43	2.11±0.18	2.13±0.12	2.08±0.14	
Mel	1.88±0.23*	2.00±0.12*	2.00±0.11*	1.91±0.18	.007 / .050
CP+ALA	2.16±0.30*	1.95±0.17*	1.96±0.12*	1.97±0.13*	.000/ .000/ .000
CP+Mel	2.19±0.24*	2.07±0.21*	2.00±0.17*	2.03±0.16*	.000/ .000/ .000
III-V IpL					
Kontrol	1.97±0.22		2.12±0.18	2.05±0.17	
CP	1.90±0.27*	2.07±0.15*	1.98±0.24*	2.00±0.12	.000 / .049
ALA	1.90±0.35	1.93±0.13	1.95±0.12	2.03±0.28	
Mel	2.04±0.14*	1.97±0.16*	1.91±0.28*	2.11±0.09*	.001/.002/.001
CP+ALA	1.82±0.35*	2.00±0.18*	2.07±0.14*	2.08±0.17*	.000/ .000/ .000
CP+Mel	1.91±0.22*	2.01±0.16*	2.10±0.13*	1.99±0.13*	.000/ .000/ .001

* : p<0.05

CP grubunda 0. ile 3., 7. ve 15. günler arasında işitme eşiği değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 3).

ALA grubunda 0. ile 3., 7. ve 15. günler arasında işitme eşikleri açısından anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 3).

Melatonin grubunda işitme eşiği değerleri açısından 0. ile 3., 7. ve 15 günler arasında anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 3).

CP+ALA grubunda ise işitme eşiği değerleri açısından 0. ile 7. gün arasında anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 3).

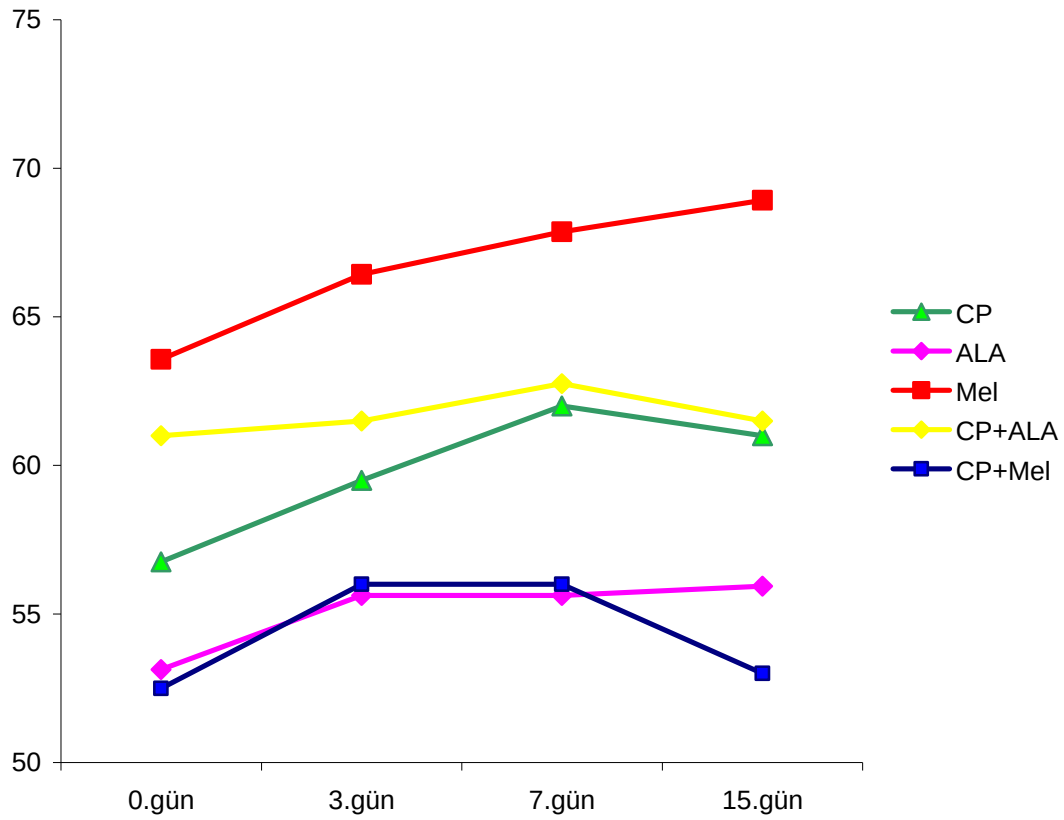
CP+Melatonin grubunda işitme eşiği değerleri açısından 0. ile 3., ve 7. günler arasında anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 3).

İşitme eşikleri değerlendirildiğinde sadece CP verilen ratlarda CP+Melatonin verilen ratlara göre eşik değerinin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Ancak CP verilen ratlarla CP+ALA alanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP+Melatonin verilen ratlarda CP+ALA verilen gruplara göre eşik değerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. ($p<0.05$) (Tablo 3).

Tablo 3'te kontrol ve çalışma gruplarının 0., 3., 7. ve 15. günlerine ait işitme eşik değerleri verilmiştir.

Tablo 3. Kontrol ve çalışma gruplarının eşik değerlerinin günlere göre dağılımı

Eşik	0. gün	3. gün	7. gün	15. gün	p
Değeri	(Ort±ss)	(Ort±ss)	(Ort±ss)	(Ort±ss)	
Kontrol	56.25±6.46		56.75±4.94	57.00±5.48	
CP	56.75±11.80*	59.50±11.54*	62.00±12.24*	61.00±10.69*	.001/.000/.000
ALA	53.12±5.31*	55.62±5.00*	55.62±4.67*	55.94±4.44*	.000/.00/.000
Mel	63.57±8.22*	66.43±9.83*	67.86±9.31*	68.93±10.51*	.000/.000/.000
CP+ALA	61.00±10.95*	61.50±11.12	62.75±12.94*	61.50±10.18	.000
CP+Mel	52.50±7.36*	56.00±7.21*	56.00±8.79*	53.00±6.24	.000/.000

**Grafik 1.** Çalışma gruplarının eşik değerlerinin günlere göre dağılımı

Dalga formları incelendiğinde ise CP grubunda 18 kulakta günler arası fark saptanmadı. Ancak 12 kulakta 3. günde, 6 kulakta 7. günde, 4 kulakta ise 15. günde dalga formunda bozulma izlendi.

Melatonin grubunda 3 kulakta 3. günde, 1 kulakta 7. günde, 1 kulakta ise 15 günde dalga formunda bozulma saptandı. 3. ve 7. günlerde bozulma saptanan 4 kulaktan 3'ünde 15 günde dalga formu düzelmiş olarak tespit edildi.

ALA grubunda 7. gün ölçümlerinden sonra ölen 2 rata ait 4 kulağın birinde, 3. günde dalga formunda bozulma saptandı. Kalan 16 kulağın 14'ünde bozulma saptanmadı. 2 kulakta 3. günde bozulma tespit edildi ve 7. günde de devam eden deformasyon 15. günde normale döndüğü görüldü.

CP+Melatonin grubunda 20 kulağın 15'ünde bozulma saptanmadı. 5 kulakta 3. günde bozulma saptandı. 3. günde bozulma saptanan 5 kulağın 2'sinde 15. günde düzelme saptandı.

CP+ALA grubunda 20 kulağın 10'unda bozulma olmadı. Kalan 10 kulağın 3'ünde 3. gün, 4'ünde 7. gün, 3'ünde 15. gün bozulma saptandı. 3. ve 7. günde bozulma saptanan 7 kulağın 6'sında 15. günde dalga formunun düzelmiş olduğu saptandı.

5. TARTIŞMA

CP, hem erişkin hem de çocuklarda kullanılabilen önemli bir antineoplastik ajandır. Pek çok organ kanserlerinin tedavisinde kullanılabildiği gibi baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde de günümüzde en çok kullanılan ve en etkili kemoterapötik ajan olma özelliğini korumaktadır (1,5,7,8). CP tedavisi komplikasyonları arasında bulantı kusma, böbrek ve karaciğer toksisitesi, myelosupresyon ve ototoksikite vardır. Klinisyenlerin en önemli görevleri terapinin etkinliğini artırmanın yanısıra yan etkilerin azaltılması ve yaşam kalitesinin korunmasıdır. CP'in en önemli yan etkisi olan bulantı-kusma serotonin antagonistleri ile çok iyi kontrol altına alınmıştır. Myelosupresyon yan etkisi granülosit stimüle edici faktörlerin kullanılması ile azalmıştır. Renal toksisite tedavi öncesi ve sonrası hidrasyon ile azaltılabilir. Malesef günümüze kadar CP'in ototoksik etkisini tam olarak önleyici herhangi bir metod bulunamamıştır (2,4,15,16,17).

CP kullanımı ile ortaya çıkan ototoksikite geçici veya kalıcı tinnitus ile birlikte bilateral sıklıkla irreversibl işitme kaybı şeklindedir (9,13,14). İşitme kaybı yüksek frekanslardan başlar zamanla düşük frekansları da içerir. Yapılan farklı çalışmalarda CP ototoksisitesi % 20 ile % 90 arasında değişen oranlarda bulunmuştur (5,13). İşitmenin bozulmasına yönelik ilk bulgular genellikle ilk CP dozundan 3-4 gün sonra görülür. CP ototoksitesinin hücresel düzeyde 3. günde başladığı 7-10 gün içinde maksimum düzeye eriştiği gösterilmiştir (14). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda ototoksik etkinin gecikmeli olarak 5. gün en üst düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Kobaylarda CP ile oluşturulan ototoksitenin OAE (Otoakustik Emisyonlar) ve BİUP ile incelenmesi sonucunda; ototoksik etkinin 2. günden sonra ortaya çıktığı, 5. günde maksimuma ulaştığı, 5. gün ile 14. günde elde edilen OAE ve BİUP kayıtları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ve 14. günden sonra ototoksik etki nedeniyle alınan yanıtın değişmediği bildirilmiştir (21). Lopez-Gonzalez ve ark. CP'ye bağlı ototoksitenin 7 ila 10 günde maksimuma ulaştığını

ve 1 ay içerisinde normal değerlere döndüğünü bildirmişlerdir (4). Bizim çalışmamızda CP grubunda 0. gün eşik değerleri ile 3., 7. ve 15 günlere ait eşik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit ettik. ($p<0.05$). Ayrıca bu grupta eşik değerleri ortalamaları Lopez-Gonzalez ve ark.'ın bildirdiği gibi 3. gün ve 7. gün ölçümlerinde 0. gün ölçümlerine göre giderek artmakta ancak 15. gün ölçümlerinde ise 7. güne göre bir miktar azalma göstermekle birlikte 0. gündeki değere dönmediği görülmüştür. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Stengs ve ark., CP ototoksisitesini incelemiş, DTH'lerin onarımı veya yenilenmesi ile elektrofizyolojik değişikliklerin spontan olarak düzelebildiğini bildirmişlerdir (49).

Fonksiyonel çalışmalarda CP'nin hem yüksek dozlarda hem de düşük kümülatif dozlarda koklear hasara yol açtığı, gerek BIUP gerekse de endokoklear potansiyelin ölçüldüğü elektrokokleografik yöntemlerle gösterilmiştir (50). Anatomik çalışmalarda ise kokleada hasara uğrayan bölgenin DTH kaybının eşlik ettiği korti organı olduğu ve bu hasarın bazal kıvrımda daha yoğun olmakla birlikte kokleanın tüm kıvrımlarında oluşabildiği gözlenmiştir (7,19,20). CP'nin dış tüy hücrelerinde stereosilyalarının mekanoelektrik transdüksiyon mekanizmasını etkilediği düşünülmektedir. İyonik transdüksiyon kanalları voltaja bağımlıdır. CP, koklear DTH'lerinde depolarizasyon esnasındaki kalsiyum çıkışını bloke eder. Artan intraselüler kalsiyum mitokondrial disfonksiyona sebep olur. Na-K-ATPaz gibi önemli enzimleri bloke edip sodyum reabsorbsiyonunu inhibe etmesi sonucunda sitozolik sodyum artar ve sodyum kalsiyum değişimi azalır. Bu iyonik dengesizlik sonucunda plazma membranından glikoproteinler ayrılır ve lizozomlar artar. Ağır metaller lizozomların parçalanmasını ve sitozole hidrolitik enzimlerin salınmasını indükler. Bunun sonucu olarak tüy hücrelerinde ölüm gerçekleşir. İleri sürülen bir diğer mekanizma ise; CP'nin hücre içi serbest oksijen radikallerini artırması ve buna bağlı olarak tüy hücresi membranında lipid peroksidasyonuna neden

olmasıdır. Lipid peroksidasyonundaki artış ise DTH'lerinde hasar ile sonuçlanır (14). Öne sürülen bu mekanizmalar hücre membranındaki kalsiyum kanallarının işleyişinin düzenlenmesi ve hücre içi serbest radikal oluşumunun önüne geçilmesi veya lipid peroksidasyonun önlenmesi halinde dış tüy hücresi ölümünün önüne geçilebileceği fikrini akla getirmektedir.

Ototoksisite, CP kullanımının majör güçlüğü oluşturmaktadır. Hastanın hayat kalitesini düşürür ve tedavi protokolünü sınırlar. Ayrıca, CP kullanımının primer doz kısıtlayıcı faktörü olduğu kabul edilir (51). CP'nin etkinliği ve klinikte vazgeçilmez ilaçlardan biri olduğu göz önüne alındığında başta ototoksik ve nefrotoksik etkisini azaltmak ve bu sayede CP kullanımında ve dozunda artış sağlanarak ilacın etkin antikemoterapötik doza ulaşabilmesini sağlamak amacıyla CP ile birlikte birtakım protektif ajanların kullanımı gündeme gelmiştir ve bu konuda artarak süren bir ilgi söz konusudur. Memelilerde kokleadaki DTH'in çoğalabilme kabiliyeti olmadığından, bu tür bir proteksiyon özellikle önem kazanmaktadır ve bu amaçla sitoprotektif etkisi olduğu bilinen pek çok ajan kullanılmıştır. Bu ajanlar N-Asetil Sistein, sodyum tiosülfat, glutatyon, D ve L-metionin, dietilditiokarbamat, metiltiobenzoik asit, ALA, amifostine, fosfomisin, ebselen, deferoxamine, salisilat, caspase inhibitörleri, bazı nörotropinler, E vitamini, süperoksit dismutaz, alfa melanosit stimulan hormon, adenosin reseptör agonistleri, pifithrin, melatonin olarak sayılabilir (4,13).

CP'nin yol açtığı ototoksisite çoğu zaman önlenememekle birlikte odyolojik olarak monitörize edilebilmektedir. Ototoksisiteyi ve ototoksisiteyi önleyici protektif ajanların etkisini hem deney hayvanlarında hem de insanda ölçebilmek için kullanılan yöntemler arasında yüksek frekans odyometri gibi standart odyolojik metodlar, immitansmetri, koklear hasarı gösteren BIUP ile sumasyon ve koklear mikrofonic potansiyellerin ölçüldüğü elektrokokleografi sayılabilir. Retrokoklear özelliği nedeniyle

CP toksisitesinin BİUP ile erkenden saptanmasının mümkün olacağına ilişkin çalışmalar vardır (1). De Lauretis ve ark. CP'ye bağlı ototoksitenin erken dönemde tespitinde BİUP'un konvansiyonel odyometriye göre üstün olduğunu belirtmişlerdir (52). Yine CP'nin öncelikle kokleadaki DTH'leri etkilediği gözönüne alındığında OAE'nin koklear hasarı saptamada basit, hızlı ve etkili bir yöntem olabileceği ve ototoksik etkinin bu yöntemle monitörize edilebileceği düşünülmüştür. Angelo M ve ark. Guinea Pig'lerde CP'nin ototoksik etkisinin protektif ajanlarla önlenip önlemeyeceğini OAE ve elektron mikroskop kullanarak araştırmışlar, protektif ajan verilsin yada verilmesin CP alan tüm hayvanlarda OAE'nin saptanmadığını, dolayısıyla da otoprotektif etkinin saptanmasında OAE'nin duyarlı olmadığını ve deney hayvanları söz konusu olduğundan elektrofizyolojik testlere ihtiyaç duyulduğunu belirtilmişlerdir (53). Bundan dolayı çalışmamızda CP'nin ototoksik etkisini ve antioksidanların etkisini göstermede oldukça duyarlı bir yöntem olan BİUP kullanıldı.

Klinik çalışmalar için analiz edilen band genişliği seçiminde frekans spesifikliği ve güvenilirlik birlikte göz önüne alınmalıdır. Analiz edilen band genişliğinin dar olması frekans spesifikliği için optimaldir, ancak test sonuçlarının güvenilir olması için de (test-retest değişkenliğinin az olması) analiz edilen band daha geniş olmalıdır. Klik stimulusunda çok geniş frekans spektrumu bulunur. İç kulağa erişen klik kokleayı tabandan tepeye kadar tüm baziller membran boyunca tarar ve işitsel yoldaki tüm nöronlar senkronize şekilde uyarılmış olur (21). Bundan dolayı çalışmamızda ototoksiteyi değerlendirmek için BİUP kayıtlarında frekans spesifik tone-burst stimulus yerine klik stimulus tercih edildi.

Kingston, Lau ve Maiese gibi otörler, CP kemoterapisi alan baş-boyun kanserli hastalarda BİUP ile V. dalgada ve I-V IpL intervalinde uzama tespit edildiğini göstermişlerdir (54,55,56) Yine Mitchell ve ark. da, CP'in BİUP eşiklerinde , V. dalga

latansında ve dalga formunda değişikliklere neden olduğunu belirtmişlerdir (11). Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda CP verilen ratlarda V. dalga latanslarının 3. gün anlamlı derecede uzadığı ve işitme eşiklerinin 3., 7. ve 15. günlerde anlamlı derecede yükseldiği tespit edildi ($p<0.05$). Ayrıca CP verilen 10 rata ait 20 kulağın 6'sında 3. günde, 3'ünde 7. günde, 2'sinde ise 15. günde olmak üzere 11'inde dalga formunda bozulma saptadık. Kontrol grubunda görülmeyen dalga formundaki bu bozulma literatürle uyumlu idi.

Ratlarda küçük günlük CP dozları sonrasında elde edilen elektrokokleografi kayıtlarında, endokoklear potansiyellerde değişiklik görülmezken, tek ve büyük bir doz CP verilmesi ile endokoklear potansiyellerde anlamlı azalmaların ortaya çıktığı bildirilmiştir (49). Tek ve büyük bir doz subkutan CP verilmesini takiben yapılan başka araştırmalarda da; koklear mikrofoni, OAE, nöral sensitivite ve endokoklear potansiyel ölçümlerinde belirgin değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (21). Testis kanseri nedeniyle CP kullanan bir hasta grubunda yapılan çalışma sonucunda, aynı doz ilacın tek gün yerine 5 günde verilmesi ile ototoksik etkinin önlenebildiği bildirilmektedir (6). Literatürle uyumlu olarak (4,7), çalışmamızda, mortaliteye sebep olmadan ototoksik etkiyi oluşturacak şekilde yüksek bir doz olan 10 mg/kg CP tek seferde uygulandı.

ALA yapısında iki sülfür atomu bulunan kendi orjinal okside formunda ya da DHLA şeklinde redükte formda bulunabilen bir bileşiktir (57,58). Sülfür içeren bileşiklerin tercih edilmesindeki gerekçe, sülfür ligandlarının platinyum komplekslerine antitümör aktivitelerini azaltmaksızın yüksek affinite göstermeleridir (24). Çünkü ideal otoprotektif ajan, CP'nin antitümör etkisini engellemeden direk olarak ototoksisiteye spesifik olmalıdır (2,23).

Mitokondrial enzimler için esansiyel kofaktör olan ALA'nın potent bir radikal temizleyicisi ve biyolojik antioksidan olarak etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu ajanın eksojen

uygulamasında, nörodejeneratif bozuklarda, ağır metal zehirlenmelerinde, oksidatif doku hasarlarında terapötik potansiyeli olduğu bulunmuştur. Bir biyolojik antioksidan olan ALA'nın yaptığı otoproteksiyon, koklear antioksidan defans sisteminin ve BİUP eşiklerinin korunmasıyla ilgilidir.(24).

Rybak ve ark. yaptıkları bir çalışmada sadece CP verilen ratlarla, CP öncesinde dereceli dozlarda ALA verilen ratlar arasında, koklear GSH konsantrasyonu, antioksidan enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonunda bir son ürün olan MDA konsantrasyonu ve BİUP eşiklerini değerlendirmişler ve lipoik asitin doza bağlı olarak CP'ye bağlı BİUP eşiklerinde yükselmeyi ve koklear GSH konsantrasyonundaki azalmayı anlamlı derecede engellediğini ve bu şekilde kokleanın korunmasını sağladığını belirtmişlerdir (24). Husain ve ark. da diğer bir platinyum bileşiği olan karboplatin alan ratlarla kıyaslandığında, ALA+karboplatin alan ratlarda koklear antioksidan enzim aktivitesinin, enzim protein ekspresyonunun, ve MDA seviyesinin önemli ölçüde arttığını, işitme eşiğindeki yükselmenin azaldığını bulmuşlardır (59).

Conlon ve ark. birçok diğer serbest radikal aracılı hastalıklara karşı da nöroprotektif bir ajan olan ALA'nın, aminoglikozidlerin indüklediği hasara karşı da kokleayı önemli ölçüde koruduğunu, en iyi koklear proteksiyon için gerekli olan demir şelatörü ve radikal temizleyici özelliklerin ikisine de ALA'nın sahip olduğunu bildirmişlerdir (60).

Çalışmamızda CP grubunun CP+ALA grubuna göre V. dalga latanslarının anlamlı derecede uzun uzun olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aynı zamanda CP+ALA grubunda eşik değerleri açısından 0. gün ile 7 gün arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p<0.05$). Eşik değerleri açısından CP grubunda 0. ile 3. ve 15. günler arasında da fark bulunurken CP+ALA grubunda fark olmaması ALA'nın ototoksositeye karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. Bu ALA'nın ototoksosite

üzerine protektif etkisini konu alan çalışmalarla uyumlu idi. Kontrol grubu ile CP+ALA grubu arasında sadece I-III IpL intervali ortalamaları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Bu bulgularımız da CP ve karboplatine bağlı oluşan ototoksisite üzerine ALA'nın etkisini araştıran Rybak ve ark (24) ile Husain ve ark.'ın (59) çalışmalarıyla uyumlu idi. Lopez-Gonzalez ve ark. CP'ye bağlı ototoksisitenin bir ay içerisinde normale döndüğünü, fakat antioksidanların eklenmesi halinde normale dönüş süresinin 10. ile 15. günler arasında olduğunu göstermişlerdir (4). Bu çalışmayla uyumlu olarak bizim çalışmamızda CP+ALA grubunda 10 rata ait 20 kulağın 10'unda dalga formunda bozulma tespit edilmezken, kalan 10 kulağın 3'ünde 3. gün, 4'ünde 7. gün, 3'ünde ise 15. gün deformasyon saptandı. 3. ve 7. günlerde bozulma saptanan 7 kulağın 6'sında 15. günde düzelme olduğu görüldü.

Melatonin pineal bez tarafından sirkadiyan ritimde ve karanlıkta salgılanan bir hormondur. Vücutta endokrin sistemin düzenlenmesi, immun fonksiyonun artırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi birçok fizyolojik işlevlerde görev alır. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda, melatonin hormonunun güçlü bir antioksidan ve serbest radikal temizleyici olduğu, dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir. Melatonin hem yağda hem de suda çözünabilir özelliğe sahip olduğu için, nükleus dahil hücrenin her organeline ulaşabilir. Bu özellik, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında, melatonine bir üstünlük sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen, dolayısıyla beyin dokularında da antioksidan özelliği gösteren bir hormondur. Melatonin güçlü antioksidan etkisinin yanı sıra, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini de stimüle eder (4,61,62).

Literatürde, ratlarda CP'nin korti organı DTH'lerine karşı oluşturduğu ototoksisite DPOAE ile değerlendirilmiş ve 7 gün boyunca verilen 0.25 mg. melatoninin

korti organını koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada 7. ila 10. günler arasında maksimal olan ototoksisite, melatonin verilmeyen grupta bir ay içerisinde, melatonin verilen grupta ise 10. ila 15. günler arasında iyileşme göstermiştir (4). Lopez-Gonzalez ve ark.'ın aminoglikozidlerin oluşturduğu ototoksisiteye melatoninin etkisini araştırdıkları bir çalışmada, 7 gün boyunca verilen 0.25 mg. melatoninin peroksinitrit anyonunu ve serbest radikalleri temizleyici özelliğiyle birlikte nitrik oksit üretimine inhibitör etkisi sayesinde ototoksik hasara karşı rat korti organlarını koruyucu rolünü göstermişlerdir (63). Ayrıca bu çalışmada aminoglikozidlere bağlı ototoksisitenin 3. ila 5. günler arasında maksimal olduğunu ve melatonin verilmeyen grupta 2 hafta içerisinde, melatonin verilen grupta ise 5. günde normal değerlere dönüş olduğunu belirtmişlerdir. Erdem ve ark. ise 600mg/kg amikasin vererek ototoksisite oluşturdukları ratlarda, bir gruba 0.4 mg/kg diğer bir gruba ise 4 mg/kg melatonin 14 gün boyunca vermişler, düşük doz melatoninin iç kulağı ototoksisiteye karşı koruduğunu, ancak yüksek doz melatoninin amikasinine bağlı ototoksisiteyi hızlandırdığını ve arttırdığını belirtmişlerdir. Bunun sebebinin, muhtemelen, iç kulağa amikasinin artan akümülyasyonuna sebep olan yüksek doz melatoninin vazodilatatör etkisi olabileceğini belirtmişlerdir (62). Bu çalışmayla uyumlu olarak sadece CP verilen gruba göre CP+Melatonin alan grupta V. dalga latansı ve I-V IpL intervallerinin daha uzun olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda eşik değerleri açısından CP ve CP+Melatonin grupları arasında anlamlı fark tespit ettik ($p<0.05$). Bu sonuç Erdem ve ark.'ın yüksek dozlarda buldukları sonuçla uyumsuz bir bulguydu. CP+Melatonin grubunun 0. gün eşik değeri ortalaması 52.50 ± 7.36 , 3. gün ortalaması 56.00 ± 7.21 , 7. gün ortalaması 56.00 ± 8.79 , 15. gün ortalaması ise 53.00 ± 6.23 idi. Eşik değerlerinin CP grubunda olduğu gibi 0. günden sonra 3. ve 7. günlerde giderek artması daha sonra 15. günde bir miktar azalması uygulanan yüksek doz melatoninin CP'ye bağlı ototoksisiteyi hızlandırdığı ile ilgili Erdem ve ark.'ın

bulgularıyla uyumlu değildi. CP+Melatonin grubunda eşik değerleri açısından 0. gün ile 3. ve 7. günler arasında anlamlı fark tespit ederken ($p<0.05$) 0. gün ile 15. gün arasında fark tespit etmedik ($p>0.05$). Ayrıca CP+Melatonin grubunda 10 rata ait 20 kulağın 13'ünde dalga formunda bozulma olmadı. Kalan 5 kulakta 3. günde, 2 kulakta ise 15. günde bozulma saptandı.

CP ototoksisitesi, ve melatoninle ALA'nın ototoksisiteye etkisini araştırdığımız çalışmamızda BİUP ile elektrofizyolojik olarak değerlendirme yapılmıştır. Ancak hücresel düzeyde olan etkileşimi değerlendirmek amacıyla elektron mikroskobu ile yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Melatoninin ve ALA'nın insanlardaki etkisinin araştırılması, etkilerinin tedavi edici düzeyde olup olmadığının belirlenmesi için insanlar üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışmalar insanlar üzerinde yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

6. SONUÇLAR

1. CP grubundaki tüm ratlarda ortaya çıkarılan ototoksisite BIUP ile gösterilmiştir.
2. Çalışmamızda kullanılan 10 mg/kg CP dozu ratlarda ototoksisite oluşturmak için yeterli olmuştur. Çalışmamızda bu dozda denek kaybı görülmemiştir.
3. Sadece CP uygulanan ratlarda V. dalga latansının 3. gün anlamlı derecede uzadığı görüldü. Bu durum CP'nin ototoksik etkisinin 3. gün başladığını destekleyen bir bulgudur.
4. CP uygulanan ratlarda eşik değeri 3., 7. ve 15. gün istatistiksel olarak anlamlı derecede uzadığı tespit edildi. En yüksek eşik değeri 7. gün elde edildi. Bu durum CP'nin ototoksik etkisinin 7. gün maksimuma ulaştığını destekleyen bir bulgudur.
5. CP verilen ratlarda CP+Melatonin verilen ratlara göre eşik değerinin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilirken CP+ALA alanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bunun yanı sıra CP+Melatonin verilen ratlarda CP+ALA verilen gruplara göre eşik değerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Bu sonuçlar melatonin CP ototoksitesini önlemede etkili bir antioksidan ajan olduğunu göstermektedir.
6. Yalnızca CP uygulanan ratlarda dalga formasyonunda bozulmanın CP+Melatonin ve CP+ALA grubuna göre daha sık olduğu tespit edildi. Bunun yanı sıra CP alan ratlarda dalga formasyonunda bozulmanın çoğunlukla 3. gün meydana geldiği ve 15. güne kadar devam ettiği görüldü. Bunun aksine CP+Melatonin ve CP+ALA gruplarında ise 3. ve 7. günde bozulan dalga formasyonlarında 15. günde çoğunlukla düzelme tespit edildi. Bu sonuçlar da CP'nin ototoksik etkisi üzerine melatonin ve ALA'nın olumlu etkileri olduğunu desteklemektedir.
7. Ototoksisitenin monitörizasyonunda BIUP uygun ve güvenilir bir yöntem olarak değerlendirilmiştir.

8. Hücresel düzeydeki sonuçları görmek amacıyla elektron mikroskobu ile yapılacak ileri çalışmalar gerekmektedir.

7. ÖZET

Çalışmamızda ratlarda deneysel olarak CP ile oluşturulan ototoksisiteyi BİUP ile belirlemek ve izlemek, ayrıca ALA ve melatonin gibi antioksidan ajanların kullanımı ile ototoksisitenin azaltılabilir ya da önlenabilir olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışma 60 adet Sprague-Dawley cinsi rat üzerinde yapıldı. Her biri 10 rattan oluşan 6 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna 8 gün boyunca i.p. 1 mg/kg serum fizyolojik uygulandı. CP grubuna bir kez i.p. 10 mg/kg CP uygulandı. ALA grubuna 8 gün boyunca i.p. 100 mg/kg ALA uygulandı. Melatonin grubuna 8 gün boyunca i.p. 4 mg/kg melatonin uygulandı. CP+ALA grubuna bir kez i.p. 10 mg/kg CP uygulandı ve 8 gün boyunca i.p. 4 mg/kg melatonin uygulandı. CP+Melatonin grubuna bir kez i.p. 10 mg/kg CP uygulandı ve 8 gün boyunca i.p. 4 mg/kg melatonin uygulandı. Tüm gruplarda ilk enjeksiyonlara başlamadan 30 dk. önce ve enjeksiyondan sonra 3., 7. ve 15. günlerde BİUP ölçümü yapıldı.

CP uygulanan ratlarda V. dalga latansının CP+Melatonin ve CP+ALA verilen ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edildi. CP verilen ratlarda CP+Melatonin verilen ratlara göre I-V IpL intervallerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilirken, CP+ALA verilen grupla istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi. İşitme eşikleri değerlendirildiğinde sadece CP verilen ratlarda CP+Melatonin verilen ratlara göre eşik değerinin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Ancak CP verilen ratlarla CP+ALA alanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Çalışmamızda CP ototoksisitesini engellemede melatonin ve ALA'nın etkili olduğu bulunmuştur. Ancak hücresel düzeyde olan etkileşimi değerlendirmek amacıyla elektron mikroskobu ile yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: cisplatin, ototoksisite, melatonin, alfa lipoik asit, beyinsapı
işitsel uyarılmış potansiyeller

8. SUMMARY

THE EFFECTS OF MELATONIN AND ALPHA LIPOIC ACID IN CISPLATIN INDUCED OTOTOXICITY

The aim of study to evaluate whether melatonin and alpha lipoic acid (ALA) can reduce and prevent ototoxicity of cisplatin (CP) by using auditory brainstem response (ABR) in the rat.

The study group consist of 50 rats and the control group consist of 10 rats. Saline was administered intraperitoneally (i.p.) to control group through 8 days. CP (10 mg/kg, i.p.) was administered to CP group one time. ALA (100 mg/kg, i.p.) was administered to ALA-group and melatonin (4 mg/kg, i.p.) was administered to Mel-group through 8 days. CP (10 mg/kg/day, i.p., one day) and melatonin (4 mg/kg/day, i.p., 8 days) were administered to CP-Mel group. CP (10 mg/kg/day, i.p., one day) and ALA (100 mg/kg/day, i.p., 8 days) were administered to CP-ALA group. ABR were recorded in the each groups 30 minutes before injection and 3., 7. and 15. days after injection.

There was significant statistical difference in the latency wave V. between CP group and CP-Mel and CP-ALA groups. Although I-V interpeak latency interval and pure-tone thresholds were significant statistical difference relationship between CP group and CP-Mel group, they were no significant statistical difference relationship between CP group and CP-ALA group.

The results supported that melatonin and ALA can prevent from ototoxicity of CP. However, further studies are needed with larger groups by using electron microscope to evaluate cellular interactions.

Key words: cisplatin, ototoxicity, melatonin, alpha lipoic acid, auditory brainstem response

9. KAYNAKLAR

1. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi II Bilimsel Tıp yayınevi, 2002; 415-441
2. Rybak LP, Ramkumar V. Ototoxicity. *Kidney Int* 2007;72:931-5.
3. Sockalingam R, Freeman S, Cherny TL, Sohmer H. Effect of high-dose cisplatin on auditory brainstem responses and otoacoustic emissions in laboratory animals. *Am J Otol* 2000;21:521-7.
4. Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. *J Pineal Res* 2000;28:73-80.
5. Stocks RM, Gould HJ, Bush AJ, Dudney BW Jr, Pousson M, Thompson JW. Ototoxic protection of sodium thiosulfate: daily vs constant infusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:115-9.
6. Biro K, Baki M, Buki B, Noszek L, Jokuti L. Detection of early ototoxic effect in testicular-cancer patients treated with cisplatin by transiently evoked otoacoustic emission: a pilot study. *Oncology* 1997;154:387-390.
7. Sie KC, Norton SJ. Changes in otoacoustic emissions and auditory brain stem response after cisplatin exposure in gerbils. *Otolaryngology Head and Neck Surgery* 1997;116:585-592
8. Kalcıoglu MT, Kizilay A, Gulec M, et al. The protective effect of erdosteine against ototoxicity induced by cisplatin in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2005;262:856-63.
9. Liang F, Schulte BA, Qu C. et al. Inhibition of the calcium- and voltage-dependent big conductance potassium channel ameliorates cisplatin-induced apoptosis in spiral ligament fibrocytes of the cochlea. *Neuroscience* 2005;135:263-71.
10. Shujiro B, Minami, Su-Hua Sha and Jochen Schacht. Antioxidant protection in a new animal model of cisplatin-induced ototoxicity. *Hear Res* 2004;198:137-43.
11. Mitchell CR, Ellingson RM, Henry JA, Fausti SA. Use of auditory brainstem responses for the early detection of ototoxicity from aminoglycosides or chemotherapeutic drugs. *J Rehabil Res Dev* 2004;41:373-82.

12. Ekborn A. Cisplatin induced ototoxicity. Pharmacokinetics, prediction and prevention. Kongl Carolinska Medico Chirurgiska Institutet. Stockholm. 2003
13. Rutka R. Ototoxicity. BC Decker Inc. 2004;50-179
14. Çakıl B. Deneysel Olarak Oluşturulan Cisplatin Ototoksisitesini Önlemede Gingko Biloba Ekstresinin Etkinliğinin DPOAE Testi ile Araştırılması (uzmanlık tezi). Samsun: 19 Mayıs Ü. Tıp Fakültesi, 2007.
15. K. Barabas, R. Milner, D. Lurie, C. Adin. Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. Veterinary and Comparative Oncology 2008;6:1-18
16. Kayaalp SO. Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1 Hacettepe Taş Yayınevi 1987;826-91 / 954-1017
17. Brunton L, Parker K, Blumenthal D, Buxton I, Goodman&Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics McGraw-Hill Companies. 2005. 2008;867-68.
18. Aronson JK. Meyler's Side Effects of Drugs. Elsevier 2006;2849-72
19. Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D. Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. Am J Otol 1997;18:559-71.
20. Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. Otol Neurotol 2004;25:910-5.
21. Güneri EA. Kobaylarda Deneysel Olarak Cisplatinle Oluşturulmuş Ototoksisitede Pantotenik Asit Kullanımının OAE ile Değerlendirilmesi (yüksek lisans tezi). İzmir: Dokuz Eylül Ü. 1998
22. Kanter M, Tarladaçalışır YT, Uygun M. Cisplatin Nefrotoksisitesinde E Vitamininin Koruyucu Etkileri: Işık ve Elektron Mikroskopik Çalışma. Tıp Araştırmaları Dergisi. 2007;5:83-90
23. Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. Hear Res 2007;226:157-67.
24. 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;47:195-202.

25. Öncü M. Sıçan Böbrek Dokusunda Klorprifos-etil Toksisitesinde Oksidatif Hasarın Rolü ve Buna C ve E Vitamini Kombinasyonu ve Melatoninin Etkisi: Histolojik ve Biyokimyasal bir Çalışma (uzmanlık tezi). Isparta: S.D.Ü. Tıp Fakültesi, 2000.
26. Halliwell B, Gutteridge JM. Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update. FEBS Lett. 1992;307:108-12.
27. Ahsan H, Ali A, Ali R. Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. Clin Exp Immunol 2003;131:398-404.
28. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL. Oxygen radicals and human disease. Ann Intern Med. 1987;107:526-45.
29. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact 2006;160:1-40.
30. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutr Rev 1994;52:253-65.
31. Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. Arch Biochem Biophys 2001;385:20-7.
32. Awasthi D, Church DF, Torbati D, Carey ME, Pryor WA. Oxidative stress following traumatic brain injury in rats. Surg Neurol 1997;47:575-82.
33. Reiter R, Tan DX, Gitto E, Sainz R, Mayo J, Manchester L, et al. Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. Pol J Pharmacol 2004; 56:159-170.
34. Hazlerigg DG. What is the role of melatonin within the anterior pituitary? J Endocrinol 2001;170:493-501.
35. Sahna E, Parlakpınar H, Vardı N, Cığremis Y, Acet A. Efficacy of melatonin as protectant against oxidative stress and structural changes in liver tissue in pinealectomized rats. Acta Histochem 2004;106:331-336.
36. Kvetnoy I, Sandvik AK, Waldum HL. The diffuse neuroendocrine system and extrapineal melatonin. J Mol Endocrinol 1997;18:1-3.

37. Leon J, Castroviejo D, Sainz R, Mayo J, Tan DX, Reiter R. Melatonin and mitochondrial function. *Life Sci* 2004;75:765-790.
38. Karbownik M, Reiter R. Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation. *PSEMB* 2000;225:9-22.
39. Reynoso S, Leal C, Buen E, Castillo J, Solano F. Melatonin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2004;116:242-247.
40. Sener G, Jahovic N, Tosun O, Atasoy B, Yeğen B. Melatonin ameliorates ionizing radiation-induced oxidative organ damage in rats. *Life Sci* 2003;74:563-572.
41. Şener G, Şehirli Ö, Şatıroğlu H, Uysal M, Yeğen B. Melatonin improves oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns* 2002;28:419-425.
42. Liang JF, Akaike T. Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured mouse hepatocytes by α -lipoic acid. *Chem Biol Interact* 2000;124:53-60.
43. St. Clair D, Zhao Y, Chaiswing L, Oberley T. Modulation of skin tumorigenesis by SOD. *Biomed Pharmacother* 2005;59:4-14.
44. Çakatay U. Pro-oxidant actions of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Med Hypotheses* 2006;66:110-7.
45. Goralska M, Dackor R, Holley B, McGahan MC. Alpha lipoic acid changes iron uptake and storage in lens epiteial cells. *Exp Eye Res* 2003;76:241-8.
46. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi 2004 Güneş Kitabevi 73-87
47. Ballenger JJ, Snow JB. Otolaringoloji ve Baş Boyun Cerrahisi 15.Baskı Nobel Tıp Kitabevleri 2000;930-73
48. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi Turgut Yayıncılık 2002;1-30
49. Stengs CH, Klis SF, Huizing EH, Smoorenburg GF. Cisplatin-induced ototoxicity; electrophysiological evidence of spontaneous recovery in the albino guinea pig. *Hear Res* 1997;111:103-13.
50. Laurell G, Engström B. The ototoxic effect of cisplatin in guinea pigs in relation to dosage. *Hearing Res* 1989;58:871-875

51. Blumenreich MS, Woodcock TM, Jones M, Richman SP, Gentile PS, Kubota TT, Allegra JC. High dose cisplatin in patients with advanced malignancies. *Cancer* 1985;55:1118-1122
52. De Lauretis A, De Capua B, Barbieri MT, Bellussi L, Passali D. ABR evaluation of ototoxicity in cancer patients receiving cisplatin or carboplatin. *Scand Audiol* 1999;28:139-43.
53. Hyppolito MA, De Oliveira JA, Rossato M. Cisplatin ototoxicity and otoprotection with sodium salicylate. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006;263:798-803
54. Kingston JE, Abramovich S, Billings RJ, Malpas JS, Fuller AP. Assessment of the effect of chemotherapy and radiotherapy on the auditory function of children with cancer. *Clin Otolaryngol* 1986;11:403-9.
55. Lau SK, Wei WI, Sham JS, Choy DTK, Hui Y. Early changes of auditory brain stem evoked response after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. A prospective study. *J Laryngol Otol* 1992;106:887-92.
56. Maiese K, Walker RW, Gargan R, Victor JD. Intra-arterial cisplatin-associated optic and otic toxicity. *Arch Neurol* 1992;49:83-6.
57. Evans J, Goldfine ID. α -lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2000;2:401-13.
58. Packer L, Kraemer K, Rimbach G. Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 2001;17:888-95.
59. Husain K, Whitworth C, Somani SM, Rybak LP. Partial protection by lipoic acid against carboplatin-induced ototoxicity in rats. *Biomed Environ Sci* 2005;18:198-206.
60. Conlon BJ, Aran JM, Erre JP, Smith DW. Attenuation of aminoglycoside-induced cochlear damage with the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Hear Res* 1999;128:40-4.
61. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz HR, Türkoğlu AÖ, Pekmez H, Sarsılmaz M. Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13:1-7,
62. Erdem T, Ozturan O, Iraz M, Miman MC, Olmez E. Dose-dependent dual effect of melatonin on ototoxicity induced by amikacin in adult rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2005;262:314-21.

63. Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Torronteras R, Osuna C, Delgado F. Ototoxicity caused by aminoglycosides is ameliorated by melatonin without interfering with the antibiotic capacity of the drugs. *J Pineal Res* 2000;28:26-33.

10. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Dr. Mehmet Akif DÜNDAR