



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HAYDARPAŞA NUMUNE

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KLİNİĞİ

**SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ İLE OLUŞTURULMUŞ
SIÇAN MODELİNDE GLUTATYONUN KORUYUCU
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Egehan Yıldız

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2024



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HAYDARPAŞA NUMUNE

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KLİNİĞİ

SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ İLE OLUŞTURULMUŞ
SIÇAN MODELİNDE GLUTATYONUN KORUYUCU
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Egehan Yıldız

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Selçuk Yıldız

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2024

TEŞEKKÜR

İhtisasım boyunca bilgi ve tecrübelerini titizlik ve disiplini ile bana aktaran, her zaman meslek etiğine uygun davranmamı aşıl原因, ve eğitimimiz için büyük bir titizlikle uğraşan kıymetli hocam Prof. Dr. Sema Zer Toros'a,

Asistanlık hayatım boyunca dikkati ve tecrübesiyle bana çok şey katan, şefkatli yaklaşımıyla bizlere her zaman destekleyici önerilerde bulunan ve benden yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Çiğdem Tepe Karaca'ya,

Tecrübesi, ve kendisini sürekli geliştiren yapısıyla bana örnek olan, kibarlığı ve sabrı ile bana katkıda bulunan kıymetli hocam Doç. Dr. Ayşegül Verim'e,

Akademik hayatımın her anında yardımcı olan, ağabey gibi benimle ilgilenen, tez sürecimde desteğini her an hissettiğim tez danışmanım Doç. Dr. Selçuk Yıldız'a,

Uzmanlık eğitimim süresince tecrübelerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen Op. Dr. Önder İhvan'a, Op. Dr. Taner Özdemir'e, Op. Dr. Lütfü Şeneldir, Op. Dr. Ömer Çağatay Ertugay, Op. Dr. Emre Gürkan, Op. Dr. Fatma Gülüm İvgin Bayraktar, Op. Dr. Özgür Karamişe, Op. Dr. Nihal Alkan Taşçı'ya,

Tez çalışmamın histopatolojik incelemelerini gerçekleştiren Uzm. Dr. Ayşe Nur İhvan'a,

Tez çalışmamın DPOAE ölçümlerinde yardımcı olan Uzm. Odyolog Sami Aktaş'a,

Birlikte geçirdiğim beş yıl süresince gösterdikleri özveri ve dostlukları için tüm asistan arkadaşlarıma,

KBB kliniğimizin değerli hemşirelerine, sekreterlerine ve personellerine,

Tez sürecimin başından sonuna kadar hayatımın her anını güzelleştiren ve zorlu zamanlarda bana hep destek olan sevgili nişanlım Gökce Sobay'a

Bugünlere gelmemi sağlayan ve hayatımın her anında desteklerini her zaman arkamda hissettiğim aileme,

Sonsuz şükranlarımı sunarım.

Dr. Egehan Yıldız

İstanbul- 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGE VE KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.1. Dış Kulak	2
2.1.2. Orta Kulak.....	3
2.1.2.1. Timpanik Membran:.....	3
2.1.2.2. Orta Kulak Boşluğu:	4
2.1.2.3. Kemikçik Zincir ve Orta Kulak Kasları:.....	5
2.1.3. İç Kulak.....	5
2.1.3.1. İç Kulak Damarları:.....	8
2.1.3.2. İç Kulak İnervasyonu:	8
2.2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ.....	8
2.2.1. İstirahat (endolenfatik) potansiyeli	11
2.2.2. Koklear mikrofonik.....	11
2.2.3. Birikim (Summasyon) Potansiyeli:.....	12
2.2.4. Bileşik Aksiyon Potansiyeli	12
2.2.5. İşitme Siniri Fizyolojisi.....	12
2.2.6. Santral İşitme Sistemi	14
2.2.7. İşitsel Korteks	15
2.2.8. İşitsel Beyin Sapı ve Efferent Sistemler.....	16
2.3. SIÇANLARIN KULAK ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ	16
2.3.1. Sıçanlarda İşitmenin Değerlendirilmesi.....	18
2.4. OTO AKUSTİK EMİSYONLAR	19
2.4.1. Spontan Otoakustik Emisyon (SOAE).....	19

2.4.2. Geçici Uyarılmış (Transient Evoked) Otoakustik Emisyonlar (TEOAE)	20
2.4.3. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE).....	21
2.5. OTOTOKSİSİTE	22
2.5.1. Sisplatin Ototoksitesisi.....	23
2.6. GLUTATYON(GSH)	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. DENEYSEL MODEL	27
3.2. ELEKTROFİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER.....	28
3.2.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE).....	28
3.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	30
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	31
4. BULGULAR VE SONUÇLAR	32
4.1 OTOAKUSTİK EMİSYON SONUÇLARI.....	32
4.2. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	41
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇLAR	58
7. KAYNAKLAR.....	59

SİMGE VE KISALTMALAR

DB	: Desibel
DKY	: Dış Kulak Yolu
DPOAE	: Distortion Product Otoacoustic Emission, Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon
GPX	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
İP	: İntraperitoneal
OAE	: Otoakustik Emisyon
ROS	: Reaktive Oxygen Species, Reaktif Oksijen Ürünleri
SNR	: Signal/ Noise Rate, Sinyal/ Gürültü Oranı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPL	: Sound Pressure Level, Ses Basınç Seviyesi
TM	: Timpanik Membran

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Kontrol Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)	32
Tablo 2: Glutasyon Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL).....	33
Tablo 3: Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL).....	34
Tablo 4: Glutasyon+ Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)	35
Tablo 5: Tüm Grupların Tüm Frekanslardaki 0. Gün ve 8. Gün Ortalama DPOAE değerleri (dB SPL)	37
Tablo 6: 0. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL).....	38
Tablo 7: 8. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL).....	39
Tablo 8: DPOAE SNR Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması (dB SPL).....	40
Tablo 9: DPOAE Ortalama Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması (dB SPL) 41	
Tablo 10: Grupların Histopatolojik Parametrelerinin Derecelendirilmesi	47
Tablo-11: Grupların Histopatolojik Parametrelerinin Karşılaştırılması	48

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: İç Kulak Anatomisi.....	6
Şekil 2: Sıçan Temporal Anatomisi	18
Şekil 3: Çalışmamızdaki Sıçanlarda DPOAE Örneği.....	22
Şekil 4: Glutasyon Metabolizması	25
Şekil 5: Sıçanlarda DPOAE için “Prob” Yerleştirilmesi	28
Şekil 6: DPOAE Cihazı ve Sıçanlarda DPOAE Ölçümü	29
Şekil 7: Kontrol Grubu DPOAE Örnekleri.....	30
Şekil 8: Kontrol Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)	33
Şekil 9: Glutasyon Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL).....	34
Şekil 10: Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL).....	35
Şekil 11: Glutasyon + Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL).....	36
Şekil 12: 0. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL)	38
Şekil 13: 8. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL)	40
Şekil 14: DPOAE Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması (dB SPL).....	41
Şekil 15: Kontrol Grubu Normal Morfolojide Koklear Yapılar (H&E, 100x)	42
Şekil 16: Normal Morfolojide Korti Organı ve Stria Vaskularis Görünümü (H&E, 100x).....	43
Şekil 17: Sisplatin Grubu Koklea Görüntüsü (H&E, 100x).	44
Şekil 18: Sisplatin Grubu Koklea Görüntüsü (H&E, 100x)	44
Şekil 19: Glutasyon Grubu Normal Morfolojide Koklea Görünümü (H&E, 100x)..	45
Şekil 20: Sitoplazmik Vaküolizasyon ve Dejenerasyon	46
Şekil 21: Sinir Dejenerasyonu, Hücre Kayıpları ve Dilatasyonlar (H&E, 100x).....	46

ÖZET

Amaç: Platin grubu kemoterapötiklere bağlı oluşan işitme kaybı önemli bir sorun teşkil etmektedir. Platin grubu kemoterapötik ototoksisitesine karşı kanıtlanmış herhangi bir koruyucu tedavi bulunmamaktadır. Bu çalışmada antioksidan etkinliği olan Glutasyon (GSH)'un sisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Metot: Çalışmamızda 300-500 gram ağırlık aralığında olan, sağlıklı, 3-5 aylık, 28 adet sağlıklı Sprague Dowley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, otoskopik muayene ile kulak zarı sağlam olduğu değerlendirildikten sonra rastgele 4 gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki sıçanların koklear fonksiyonu 0. Günde Otoakustik Emisyon (DPOAE) ile değerlendirildi. Kontrol grubu olan ilk gruba 7 gün boyunca 10 mililitre intraperitoneal salin enjeksiyonu uygulandı. İkinci gruba 7 gün boyunca 200 mg/kg GSH intraperitoneal uygulandı. Üçüncü gruba ototoksisite modelini oluşturmak için 3. günde intraperitoneal tek doz 15 mg/kg sisplatin uygulandı. Dördüncü gruba ise 3. günde tek doz 15 mg/kg intraperitoneal sisplatin ve koruyucu etkiyi gözlemlemek amacıyla 0. Günden itibaren 7 gün boyunca intraperitoneal 200 mg/kg GSH uygulandı. Uygulama sonrasında 8. Günde DPOAE ile işitme eşikleri kaydedildi. Ardından tüm sıçanlar sakrifiye edilerek çıkarılan kokleaları histopatolojik olarak değerlendirildi. Histopatolojik incelemeler; sitoplazmik vaküolizasyon, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apoptotik hücreler ve sinir dejenerasyonu gibi parametreler ile ışık mikroskobu kullanılarak kör bir şekilde derecelendirildi. Derecelendirme 0 = normal, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = orta-ileri, 4 = ileri düzeyde dejenerasyon olarak yapıldı.

Bulgular: 0. günde ve 8. günde ölçülen her frekanstaki DPOAE değerlerinin ortalaması gruplar içinde karşılaştırıldı. Sisplatin grubunda ve glutasyon+sisplatin grubunda 0. günde ve 8. günde ölçülen DPOAE sonuçları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş vardı ($p<0.05$). Histopatolojik olarak kontrol grubu ile sisplatin grubu arasında gruplar arasında hücre dejenerasyonu ve sinir dejenerasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Sonuç: GSH'nin sisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu olduğu elektrofizyolojik olarak tespit edildi. Ancak histopatolojik olarak GSH'nin koruyucu etkisi kanıtlanamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Glutasyon, Ototoksisite, Sisplatin, Antioksidan



ABSTRACT

Aim: Hearing loss caused by platinum-based chemotherapeutics is a significant problem. Currently, there is no proven protective treatment from platinum-based chemotherapeutic ototoxicity. In this study we aim to investigate the protective effect of glutathione (GSH) against cisplatin ototoxicity.

Method: The study commenced with 28 Sprague Dawley male rats, healthy, aged 3-5 months and weighing 300-500 grams. The rats were divided into 4 groups, randomly. Cochlear function of rats in all groups was evaluated with Otoacoustic Emission (DPOAE) on day 0. The first group received 10 milliliters of intraperitoneal saline injections for seven days. The second group received 200 mg/kg GSH intraperitoneally for seven days. The third group received on day three a single dose of cisplatin 15 mg/kg intraperitoneally to induce an ototoxicity model. The fourth group received on day three a single dose of cisplatin 15 mg/kg intraperitoneally and received 200 mg/kg GSH intraperitoneally for seven days. After all the injections were made, we evaluate the DPOAE procedure on the 7th day. Following the procedures, all rats were sacrificed, and their cochleas were histopathologically analyzed. Histopathological analyses, conducted blindly using a light microscope, assessed parameters such as cytoplasmic vacuolization, cell degeneration, dilatation, apoptotic cells, and nerve degeneration. Scoring as follows: 0 = normal, 1 = mild, 2 = moderate, 3 = moderate-to-severe, 4 = severe degeneration.

Results: The average of DPOAE values at each frequency measured on day 0 and day 8. There was a statistically significant decrease in DPOAE results measured on day 0 and day 8 in the cisplatin group and glutathione + cisplatin group. Histopathological analysis revealed a statistically significant difference in cell and nerve degeneration between the control and cisplatin groups.

Conclusion: The protective effect of GSH against cisplatin-induced ototoxicity was confirmed electrophysiologically; however, its protective effect has not been proven histopathologically.

Keywords: Glutathione, Ototoxicity, Cisplatin, Antioxidant



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ototoksisite, bazı ilaçlar veya kimyasal maddeler aracılığıyla işitme ve denge sistemlerinde oluşan toksik hasarı tanımlar. Ototoksisite, genellikle geri dönüşümsüz işitme kaybı, tinnitus ve denge sorunları ile belirti verir. Ototoksik etkiler iç kulakta ototoksik maddenin uygulanması sonrası meydana gelir ve yan etkileri açısından yakın takip gerektirmektedir.

Sisplatin baş, boyun, akciğer ve ürogenital sistem tümörleri başta olmak üzere çeşitli kanser türlerinin tedavisinde etkili bir ilaçtır (1). Sisplatin' in işitme kaybı, nefrotoksisite, nörotoksisite, miyelosupresyon ve bulantı-kusma gibi toksik yan etkileri literatürde tanımlanmıştır (2). Sisplatin 'in ototoksik etkileri, geri dönüşsüz ve iki kulakta da görülebilen ilerleyici sensörinöral işitme kaybı ile yüksek frekansta tinnitus ile ortaya çıkmaktadır (3).

Glutasyon (GSH), hem oral hem de parenteral formda uygulamaları olan bir antioksidan moleküldür. GSH, insan vücudundaki pek çok metabolik aktiviteye ve fizyolojik sürece katılır. En temel rolü, oksidan türlerini temizleyerek hücrelerdeki oksidatif stresi önlemek ve redoks dengesini korumaktır. Daha önce GSH ile antioksidan etkinliğini araştırmak üzere yapılan çalışmalar mevcuttur (4–6). Ancak sisplatin ototoksisitesi alanında parenteral GSH formunda denenmiş bir çalışma yoktur.

Biz de bu çalışmamızda antioksidan etkinliği olan GSH'nin sisplatin ile oluşan ototoksisitede koruyucu etkisinin olup olmadığını hem elektrofizyolojik olarak hem de histopatolojik olarak göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KULAK ANATOMİSİ

Kulak, dış, orta ve iç olmak üzere üç ana bölümden oluşur. Dış kulak, kulak kepçesi (aurikula) ve dış kulak yolu (meatus) olmak üzere iki kısımdan meydana gelir. Kulak kepçesini, kıkırdak doku oluşturmaktadır. Kıkırdak üzeri de deri ile çevrilidir; bu yapı heliks ve antiheliks olarak iki bölümden oluşmaktadır. Dış kulak yolunun dış 1/3'lük kısmını kıkırdak doku oluştururken iç 2/3'lük kısmını kemik yapılar oluşturmaktadır. Dış kulak kanalını çevreleyen deride serumen üreten bezler bulunmaktadır. Üretilen bu serumen kulak kiri ile birleşerek dış kulak yolu boyunca dışarı doğru hareket ederek kulağın kendi kendini temizleyebilen bir yapıya kavuşmasını sağlar. Timpanik membran (TM), orta kulak ile dış kulak yolunu ayırır. TM, Pars Tensa ve Pars Flaksida'dan oluşur. Pars Tensa en dışta deri, orta tabakada fibröz doku ve en içte orta kulak mukozasından oluşmaktadır. Malleus, incus ve stapes, sesi zardan kokleaya ileten üç küçük kemikçiktir. Malleus, Pars Tensa'nın lifli tabakasında yer alır ve baş kısmı, orta kulağın üst kısmında İncus ile birleşir. Stapesin tabanı oval pencereye oturur ve sesi iç kulaktaki perilenfe ileterek amplifiye eder (7).

2.1.1. Dış Kulak

Aurikula, fibroelastik kıkırdaktan oluşan, üzeri deri ve perikondrium ile kaplanmış kulağın en dışındaki yapısıdır. Dış yüzeyinde en belirgin olan kıvrım, heliks olarak adlandırılır ve bu kıvrım, aşağıya doğru uzanarak kıkırdak içermeyen lobülde sonlanır. Heliks'e paralel bir şekilde ilerleyen diğer bir kıvrım ise "Antiheliks" olarak bilinir. Bu kıvrımın önünde bulunan konkav ve düz alan "Kavum Konka" adını alır; bunun üstünde yer alan daha küçük bölge ise "Simba Konka" olarak adlandırılır. Bu iki konkav alan bir arada "Aurikular Konka" olarak bilinir. Kavum konka'nın kıkırdağı, dış kulak yolunun kıkırdak bölümüne doğru uzanır. Dış kulak kanalı ise konkal kıkırdaktan TM'e kadar uzanan kısma verilen isimdir. Uzunluğu, posterosuperior kısımda 25 mm, anteroinferior kısımda ise yaklaşık 30 mmdir. Kanalın dıştaki 1/3'lük bölümü kıkırdaktan, içteki 2/3'lük bölümü ise kemikten oluşur. Kıkırdak bölümün bütünlüğü, arka-üst kısmında tam değildir. Kemik kanalın ön ve alt duvarları ile arka duvarın alt kısmı, timpanik halkadan meydana gelir (8).

Aurikula ve Dış Kulak Yolu'nun (DKY) duyuşal sinirleri, V., VII. ve X. kranial sinirler ile 3. servikal sinir ile innerve edilir. Aurikula ve DKY'nin arterleri ise eksternal karotis arter ve dallarıdır. Aurikula'nın ana arterleri arasında posterior auriküler arter, oksipital arter ve yüzeysel temporal arter yer alır. Aurikula'nın venleri ise bu arterlere eşlik ederek juguler vene drene olur. Aurikula'nın lenfatik drenajı, parotis, retroauriküler ve yüzeysel servikal lenf nodlarına gerçekteşir. DKY'nin arteryel dolaşımı, internal maksiller arterin dalı olan derin auriküler arter ile sağlanır ve bu arter, DKY ile birlikte TM'nin dış yüzeysin de dolaşımını sağlar. DKY'nin venöz drenajı, yüzeysel temporal ven ve posterior auriküler ven ile gerçekteşirken, lenfatik drenajı Aurikula'nın lenfatik drenajına benzer şekilde yapılıdır (8).

2.1.2. Orta Kulak

Orta kulak 6 duvarı olan timpanik membrandan iç kulağa uzanan bir boşluktur. Yaklaşık 2cc hacindedir.

2.1.2.1. Timpanik Membran:

Orta kulağı dış kulaktan ayıran, çok katmanlı, şeffaf ve oval bir yapıdır. Dikey uzunluğu 9-10 mm, yatay uzunluğu ise 8-9 mm civarındadır. Timpanik membran, timpanik kemiğin anulusunda bulunan fibröz halkaya (Gerlach halkası) bağlanır.

Timpanik membran, anterior ve posterior malleolar ligamentler tarafından desteklenir ve bu yapı, üstte Pars Flaksida, altta ise Pars Tensa olmak üzere iki ana bölüme ayrılır. Pars Tensa genellikle yarı saydamdır, bu da İnkus'un uzun kolunun ve İnkudostapedial Eklem' in görünmesine neden olabilir. TM'nin kalınlığı yaklaşık 0.1 mmdir. Manibrium üzerinden geçen dikey hayali bir çizgi ve "Umbo" hizasında bu çizgiye dik olarak çekilen yatay bir hat, TMyi dört kadrana böler. TM'nin toplam yüzeysel alanı ortalama 73 mm² olup, en büyük alanı posterior süperior kadrana kaplar. Pars tensa, dışta skuamöz, ortada fibröz, içte ise mukozal tabakadan oluşur. Orta tabakada kollajen lifler yoğun bir şekilde bulunur ve hem radyal hem de sirkumferansiyel olarak dağılmıştır. Pars Tensa'nın kenarındaki liflerin kalınlaşması Fibröz Anulus'un oluşmasına neden olur. Pars Flaksida' da ise kollajen lifler daha az yoğunlukta ve daha seyrek dağılmıştır. Bu nedenle, Pars Flaksida' da fibröz bir

tabakanın pratikte mevcut olmadığı söylenebilir. Ancak kalınlık açısından, Pars Flaksida genellikle daha kalındır ve Fibröz Anulus içermez (9).

2.1.2.2. Orta Kulak Boşluğu:

Orta kulak boşluğu, temporal kemiğin merkezinde yer alan, düzensiz şekilli hava dolu bir boşluktur. Bu boşluk, dış kulak yolu ile iç kulak arasında yer alır. Ayrıca, iki önemli eksenin kesişim noktasında bulunur: Biri, Eksternal ve İnternal Akustik Meatus arasında yer alan latero-medial eksen, diğeri ise Mastoid Antrum ile Östaki Tüpü arasında uzanan postero-anterior eksen (10).

Timpanik boşluk dört duvarı, bir tavanı ve bir tabanı olan bir kutu gibi düşünülebilir. Medial duvarın dışa doğru çıkıntılı ve lateral duvarın içe doğru çukur olması nedeniyle orta kulak boşluğu merkezinde daralır. Orta kulak boşluğu, dış dünya ile lateral duvarı aracılığıyla temas eder ve alt kısımda Juguler Duvar, arka kısımda Mastoid Duvar, üst kısımda Tegmen Timpani, ön kısımda Karotis Duvar'ı ve nihayetinde medialde Koklear Duvar ile sınırlanmıştır.

Orta kulak boşluğu, superior ve inferior bölümlerde TM'ye teğet geçen iki yatay hayali çizgi ile üç ayrı boşluğa ayrılır: Epitimpanum (attik), mezotimpanum ve hipotimpanum. Tegmen Timpani ile TMnin üst sınırından geçen çizgi arasında kalan orta kulak bölgesine epitimpanum denir. Bu çizgi ile TMnin alt sınırından geçen çizgi arasında kalan bölgeye mezotimpanum adı verilir. TMnin alt sınırının altında kalan alan ise hipotimpanum olarak bilinir. TM, sadece mezotimpanumun lateral yüzeyini kaplar; epitimpanum ve hipotimpanumun lateral yüzeyleri ise, sırasıyla skutum ve juguler foramenin medialinde kalan kemik doku ile örtülüdür. TMnin önünden geçen dikey bir çizginin önünde kalan orta kulak boşluğuna protimpanum denir, TMnin arkasından geçen dikey bir çizginin arkasında kalan alan ise posterior mezotimpanum olarak adlandırılır. Orta kulak boşluğunun anteroposterior uzunluğu 15 mm, dikey uzunluğu ise 15 mmdir. Orta kulağın enine çapı epitimpanumda 6 mm, mezotimpanumda umbo seviyesinde 2 mm, hipotimpanumda ise yaklaşık 4 mmdir (5).

2.1.2.3. Kemikçik Zincir ve Orta Kulak Kasları:

TM ile birlikte, malleus, incus ve stapesten oluşan zincir, ses iletimini sağlayan mekanizmayı oluşturur. Memelilerin orta kulağına özgü olan bu üç kemik, malleo-incudal ve incudo-stapedial eklemlerle birbirine bağlanır (11).

Malleus, baş (Caput mallei), boyun (Collum mallei), kısa çıkıntı (Processus brevis) ve sap (Manubrium mallei) olmak üzere dört bölüme ayrılır. Malleus un manubriumu, TM ile gevşek bir şekilde bağlıdır ve kısa çıkıntısının ucunda küçük bir kırık bulur. Ancak, TM deki kollajen liflerin bir araya geldiği umbo bölgesinde bağlantı oldukça sağlamdır ve sadece keskin aletlerle kesilebilir. Malleus un başı, incus un gövdesiyle tipik bir eyer şeklindeki eklemlerle birleşir (11).

İncus, gövde (corpus incudis), kısa çıkıntı (crus breve) ve lentiküler proçes ile kaplı olan uzun çıkıntıdan (crus longum) oluşur. Lentiküler proçes, uzun çıkıntıya ince bir kemik pedikül ile bağlanır. Stapes ise baş (caput stapedis), iki bacak (crus anterior ve crus posterior) ve taban (basis stapedis) bölümlerinden oluşur. Stapesin başı, incusun lentiküler proçesiyle sığ bir küresel eklemlerle birleşir, tabanı ise oval pencerenin kenarıyla halkasal ligament aracılığıyla lifli bir bağlantı kurar. Tüm kemikçikler ve timpanik boşluk tek katlı bir epitel tabakasıyla kaplıdır (12).

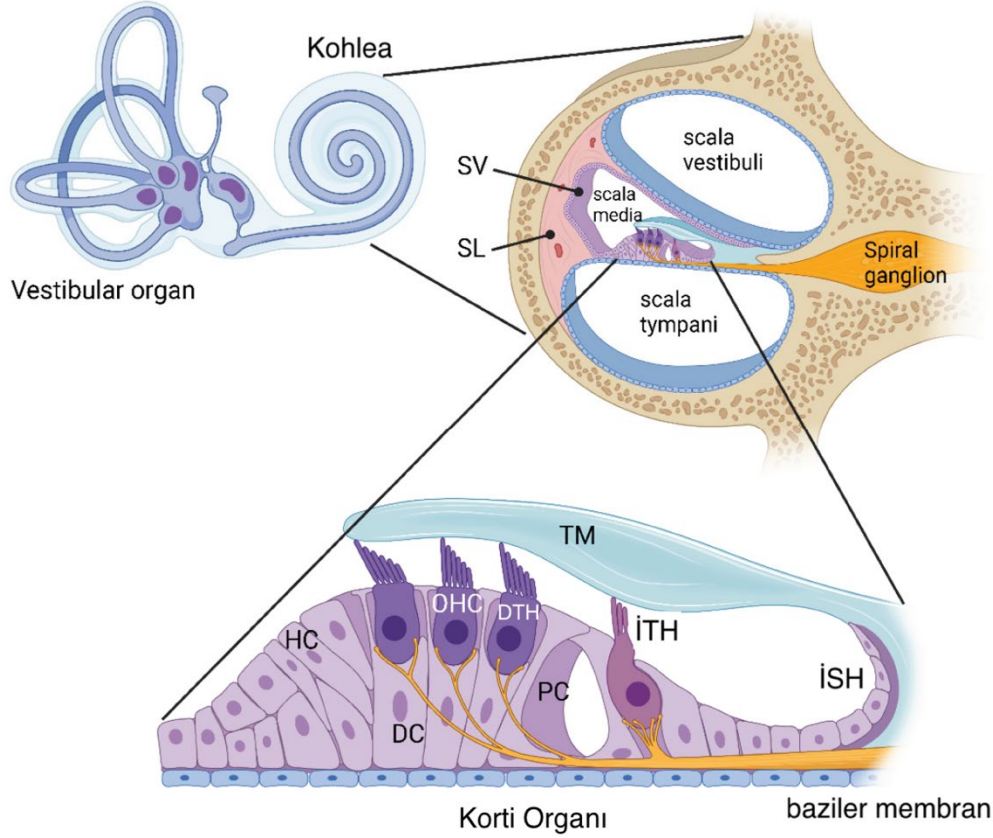
Kaslar, tendonlarıyla birlikte yalnızca kısmen timpanik boşluk boyunca uzanır. Tensor tympani kası, Östaki borusunun kırık ve kemik duvarından köken alır. Processus cochleariformiste, tendon 90° dönerek manubrium malleinin üst kısmına ulaşır. Tendonun kılıfı oldukça kalındır ve bu tendonun kollajen lifleri malleusu (ve TMnin merkezi kısmını) sabitleyen malleo-cochleariform ligamanı oluşturur (13).

Tensor tympani kası, mandibular sinirin motor dalı tarafından kontrol edilir. Bu kasın kasılması, genellikle akustik olmayan uyarıcılar ile tetiklenir(14). Tensor kasının kasılması sonucu malleus kolunun içe doğru hareketi, malleo-incudal ve incudo-stapedial eklemlerde kaymaya neden olur, bu da hava basıncındaki değişikliklere benzer bir etki yaratır (15).

2.1.3. İç Kulak

İç kulak, üç ana bölüme ayrılmaktadır: semisirküler kanallar, vestibül ve koklea. Bu yapılar temporal kemik içinde bulunur. Yarım daire kanalları, vestibüle bağlanarak utrikül ve sakkül ile birleşir. Bu yapıların temel işlevi işitme değil, dengeyi

sağlamakla ilgilidir (vestibüler sistem). Vestibüler sistemin duyuşal reseptör hücreleri, işitme sisteminde olduğu gibi tüylü hücrelerden oluşur (16).



Şekil 1: İç Kulak Anatomisi

SV: Stria Vaskularis, SL: Spiral Ligament, TM: Tektoryal Membran, DTH: Dış Tüylü Hücreler, İTH: İç Tüylü Hücreler, DC: Destek Hücre, HC: Hensen Hücre, PC: Pillar Hücre, İSH: İç Sulkus Hücre (Vlajkovic ve ark. yazısından adapte edilmiştir.) (17)

a. Kemik Labirent: Kemik labirent, vestibül (Sakkül ve utrikül), semisirküler kanallar ve koklea gibi, periost ile kaplı boşluklardan oluşur ve içinde membranöz labirent bulunur. Kemik, petroz kemik diğer kısımlarına göre daha yoğun ve serttir (18).

b. Vestibül: Vestibül, iç kulağın merkezi boşluğunu oluşturur. Ön-arka ve yukarı-aşağı yönlerinde, yaklaşık 5 mm derinliğinde ve 3 mm genişliğindedir. Vestibülün lateral kısmı oval pencere ile sınırlıdır; bu pencere, orta kulak boşluğuna bakan duvarda yer alır. Stapesin taban kısmı oval pencereye bağlanır. Vestibül, vestibüler sistemin duyu organları olan utrikül ve sakkülü içerir (13).

c. Sakkül: Vestibülün tabanında yer alan küresel bir veziküldür. Sakkülün alt kutbundan başlayan ductus reuniens, onu kokleaya bağlarken, utrikülo-sakküler kanal ise utriküle ulaşır. Sakkülün duyu organı olan makula, sakkülün medial yüzeyinde bulunur ve düzlemi dikeyle 30°lik bir açı oluşturur.

d. Utrikül: Elips şeklindedir ve makulası tabanın ön kısmında yer alır. Bu düzlem, başın yatay düzlemine yaklaşık 30°lik bir açıyla yerleşmiştir. Böylece, iki otolit organının düzlemleri birbirine yaklaşık dik açı yapar (19).

e. Semisirküler kanallar: Semisirküler kanallar, vestibülün arka ve üst kısmında yer alır. Üç kanaldan oluşurlar: horizontal, posterior ve superior kanallar. Bu kanalların iki ucu vestibüle açılır, ancak sadece beş açıklık vardır. Bunun nedeni, superior kanalın posterior kısmının posterior kanalın üst kısmıyla birleşerek utriküler resese girmeden önce ortak bir yapı oluşturmasıdır (15).

f. Koklea: Koklea, labirentin en ön kısmında yer alan, yaklaşık 33 mm uzunluğunda bir spiral kanaldır. Kokleanın merkezi, konik şekilli bir kemik yapı olan modiolustur ve spiral kanal bu yapı etrafında döner. Modiolustan çıkan ince bir kemik çıkıntı (osseöz spiral lamina), spiral kanalı kısmen bölerek koklea kanalını oluşturur. Kokleanın içerisinde, üç boylamasına kanal bulunur: orta kanal olan koklear kanal (skala media), modiolusun tepesine kadar kör ucu olan bir yapıdır. Kokleanın duyuşal epitelini oluşturan Korti organı, baziler membranın üzerinde yer alır. Skala media'nın üst kısmında ince vestibüler membran (Reissner membranı) ve alt kısmında ise skala tympani ile skala mediayı ayıran basiler membran bulunur. Oval pencere, skala vestibulinin tabanında yer alırken, yuvarlak pencere skala tympaniyi timpanik boşluktan ayırır. Modiolusun geniş tabanı, iç kulak yoluna bitişik olup, buradan koklea siniri dalları geçer. Spiral ganglionun bulunduğu Rosenthal kanalı, bu kemik spiral lamina boyunca devam eder (14).

g. Endolenfatik Kanal: Endolenfatik kanal, kemik yapıları vestibüler akuadukt içinde ilerleyerek distalde genişler ve endolenfatik keseyi oluşturur. Bu kese değişken boyutlarda olup, petroz temporal kemiğin arka yüzeyindeki dura katmanları arasında sigmoid sinüs yakınlarında sonlanabilir. Utrikulosakküler duktus ile endolenfatik kese bağlantısını sağlar (14).

2.1.3.1. İç Kulak Damarları:

İç kulak esas olarak labirentin arterden beslenir. Ayrıca, oksipital arter ya da posterior aurikular arterin stilomastoid dalı da semisirküler kanalları besler. Labirentin arter baziler arterden veya anterior inferior serebellar arterden çıkar. Bu arter, internal akustik meatusun tabanında koklear ve vestibüler dallara ayrılır. Koklear dal, modiolustaki kanallardan geçen ve kokleanın spiral lamina, baziler membran, stria vaskularis ve diğer yapılarına dağılan 12-14 küçük dala ayrılır. Vestibüler dallar ise utrikül, sakkül ve semisirküler kanalları besler (14).

İç kulağın venöz drenajının tanımları genellikle çelişkilidir, muhtemelen hem normal varyasyonları hem de damarlar arasındaki bağlantıları yansıtarak kollateral dolaşım potansiyelini gösterir. Vestibül ve semisirküler kanalları drene eden damarlar arterlerle birlikte seyrederek ve vestibüler akuaduktun venini oluşturmak için utriküle doğru ilerler. Bu damar ya sigmoid sinüse ya da inferior petrozal sinüse boşalır. Koklear akuaduktun veni (inferior koklear ven) genellikle inferior petrozal sinüse veya internal juguler venin üst bulbuna boşalır. Kokleanın büyük bir kısmının venöz drenajı, anterior ve posterior spiral venlerin birleşmesiyle oluşan ortak modiyolar ven ve anterior ile posterior vestibüler venlerin birleşmesiyle oluşan vestibulokoklear ven tarafından sağlanır (14).

2.1.3.2. İç Kulak İnervasyonu:

Vestibulokoklear sinir beyin sapının serebellopontin açığı bölgesinden çıkar. Fasiyal sinir, nervus intermedius ve labirentin damarsal yapıları ile birlikte posterior kranial fossadan geçerek, porus acusticus yoluyla iç kulak yoluna girer. Burada koklear sinir olarak anterior, vestibüler sinir olarak posterior iki dala ayrılır. Hem koklear hem de vestibüler sinirler, merkezi yönlü bipolar nöron aksonlarını ve az sayıda efferent lif içerir. Vestibulokoklear sinirin intratemporal kısmı, merkezi glial bölge ve Schwann hücrelerinin desteklediği periferik bölge olmak üzere iki farklı histolojik kısımdan oluşur.

2.2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Ses, titreşen nesnelere tarafından oluşturulan ve katı, sıvı veya gaz gibi maddesel bir ortamda, sıkışma ve gevşeme hareketleri şeklinde yayılan bir enerjidir. İşitme,

bu ses enerjisinin kulağın çeşitli bölümlerinde işlendikten sonra, elektriksel sinyaller şeklinde beyne iletilmesi ve beyinde algılanması sürecidir. Mekanik dalgalar olan ses dalgaları, yayılmak için bir maddesel ortama ihtiyaç duyarlar, bu nedenle ses boşlukta yayılmaz. Sesin dalga boyu, moleküllerin sıkışma ve gevşeme hareketi sırasında kat ettikleri mesafeyle, frekansı ise bir saniyede gerçekleşen titreşim sayısıyla belirlenir (9).

İnsan kulağı, 20 Hertz (Hz) ile 20.000 Hz aralığındaki frekansları algılayabilir. Frekansa göre saf bir tonun duyulma eşiği değişiklik gösterir. Günlük hayattaki konuşmalar genellikle 500-4000 Hz aralığındadır. İnsan kulağı 0 ile 120 desibel (dB) arasındaki sesleri işitebilir. Günlük bir konuşma yaklaşık 65 dB (50-70 dB) şiddetindedir, fısıldama ise 20-25 dB civarında olur. 120 dBden yüksek sesler, örneğin jet motoru veya yakın mesafedeki silah sesi, kulak zarı ya da iç kulakta hasara neden olabilir (9).

İşitme organı fonksiyonel olarak iki ana bölümde incelenir. İlk bölüm, dış kulak yolundan başlayıp oval pencereye kadar uzanan iletim yoludur. İkinci bölüm ise koklea, işitme siniri ve beyin işitme merkezi tarafından oluşturulan sensörinöral yoldur. Sesin kokleaya iletimi iki şekilde gerçekleşir: Kulak zarı ve orta kulak kemikçikleri aracılığıyla olan hava yolu iletimi ile kokleayı saran kemik yapılar üzerinden gerçekleşen kemik yolu iletimi (9).

Kulak kepçesi, 135 derece yay biçiminde bir yapı olup, sesleri dış kulak yoluna yönlendirir. Konka bölümü megafon gibi çalışarak ses dalgalarını yoğunlaştırır ve yaklaşık 6 dB'lik bir artış sağlar. Dış kulak yolu ise 3-3,5 cm uzunluğundadır ve rezonatör gibi davranarak, 3500 Hz frekansındaki bir sesi 15-20 dB kadar güçlendirir.

Kulak zarı ve kemikçikler ise empedans eşitlemesi yapan bir transformatör görevi görür. Suyun akustik empedansı havaya kıyasla çok daha fazladır ve bu nedenle, hava ortamından su ortamına geçen ses enerjisinin büyük bir kısmı geri yansır. Ancak kulak zarı ve kemikçik sistemi, yüzey alanı farkı ve kaldıraç mekanizması sayesinde bu enerji kaybını önler ve sesi 22 kat artırarak, yaklaşık 24 dB kazanç sağlar. Orta kulakta kemikçikler bulunmadığında ise yaklaşık 30 dB yerine, 40-60 dB işitme kaybının ortaya çıkmasının sebebi "faz farkı" ile açıklanır. Ses dalgaları oval ve yuvarlak pencerelere aynı anda ulaştığında, bu dalgalar birbirini büyük ölçüde yok eder ve koklea, sadece bu fark kadar uyarılabilir (9).

İç kulak, otik kapsül adı verilen kemik bir boşluk içinde yer alır ve biri oval, diğeri yuvarlak olmak üzere iki hareketli pencereye sahiptir. İç kulak, işitme ve denge fonksiyonlarını yerine getirir. İşitmeden sorumlu olan kısım koklea, dengeden sorumlu olan bölümler ise semisirküler kanallar, utrikül ve sakkül olarak adlandırılan vestibüler organlardır. Koklea, spiral biçimde kıvrılan ve salyangozu andıran bir yapıya sahiptir. Spiral yapının merkezine modiulus denir. Kokleanın oval pencereye en yakın kısmı bazal bölge, en uzak kısmı ise tepe noktası olarak adlandırılır. Koklea, sıvı dolu üç bölümden oluşur: scala tympani, scala media ve scala vestibuli. Scala tympani ile scala media, baziler membran ile ayrılırken, scala media ile scala vestibuli Reissner membranı ile ayrılır. Scala tympani ve scala vestibuli, kokleanın tepe noktasında helikotrema adı verilen açıklıkta birleşir (20).

Scala media, baziler membran üzerine yerleşmiş olan Korti organını içerir. Korti organı ve baziler membranda tüylü hücreler bulunmaktadır. İnsan kokleasında, yaklaşık 3000 iç tüy hücresi tabandan tepeye doğru tek sıra halinde dizilirken, 12.000 civarında dış tüy hücresi üç veya dört sıra halinde düzenlenmiştir. Tüy hücreleri, apikal yüzeylerinde bulunan ve stereosilia adı verilen ince saç benzeri çıkıntılar nedeniyle bu ismi alırlar. Bu stereosilialar, tüy hücrelerinin sinyal iletim özelliklerinde önemli bir rol oynar (20).

Scala vestibuli ve scala tympani, hücre dışı sıvıya benzeyen bir yapıya sahip olan perilenf ile doludur; bu sıvı sodyum açısından zengin ve potasyum açısından fakirdir. Buna karşılık, scala media endolenf ile doludur ve bu sıvının yapısı hücre içi sıvıya benzer; düşük sodyum ve yüksek potasyum içeriğiyle karakterizedir. Scala medianın bu özel elektrolit bileşimi, perilenfe kıyasla +60 ile +100 milivolt(mV) arasında değişen büyük bir elektrokimyasal gradyan oluşturur. Bu gradyanın korunmasını sağlayan yapı ise, scala medianın dış duvarında, modiolustan uzakta bulunan stria vaskülaristir. Stria vaskülaris, aktif iyon kanalları barındırır ve endolenfin kimyasal bileşimi ile pozitif elektriksel potansiyelini düzenler (20).

Ses titreşimleri, stapesin oval pencereye bağlı olan tabanından scala vestibuliye girer. Bu plaka oval pencerenin kenarlarına gevşek bir bağ ile tutturulmuş olup, ses titreşimlerine bağlı olarak içeri ve dışarı doğru hareket edebilir. Plakanın içe doğru hareketi, scala vestibuli ve scala media içindeki sıvının ileriye hareket etmesine, dışa doğru hareketi ise sıvının geri hareket etmesine neden olur(21).

Kokleanın elektriksel iletiminde dört adet ekstraselüler elektriksel potansiyel mevcuttur:

2.2.1. İstirahat (endolenfatik) potansiyeli

Stapes kemiği tarafından başlatılan sıkışma dalgasına cevap olarak koklear bölmenin sapması, tüy hücrelerinin stereosilyaları ile tektoryal membran arasında kesme kuvveti oluşturur. Bu kuvvet, stereosilyaların sapmasına neden olur ve bu yapılar, yüksekliklerine göre düzenli sıralar halinde dizilmiştir. Stereosilyaların uçları arasında elastik iplikler olan “Tip” bağlantıları bulunur. Stereosilyalar en uzun sıraya doğru sapınca, bu tip bağlantıları gerilir ve bu da stereosilya üzerinde bulunan gerilmeye duyarlı katyonik kanalların açılmasını sağlar.

Bu kanalların açılması, hücrelerin apikal yüzeyi boyunca büyük bir elektrokimyasal gradyan sayesinde pozitif iyonların içeri akmasına yol açar. Bu iyon akışı, tüy hücrelerinin depolarizasyonuna neden olur. Tüy hücrelerinin en uzun sıradan uzağa sapması ise tip bağlantılarını gevşetir ve kanalların açılma olasılığını azaltarak hücrelerin hiperpolarizasyonuna yol açar. Ancak, stereosilyaların sapma derecesi ile hücre depolarizasyonu/hiperpolarizasyonu arasındaki ilişki simetrik ve doğrusal değildir; depolarizasyon yönünde daha büyük bir yanıt üretilir (20).

Kokleadaki endolenf sıvısı, perilenfe göre yaklaşık +80 mV’lik pozitif bir potansiyel farkına sahiptir ve bu fark, endokoklear potansiyel olarak adlandırılır. Ayrıca tüylü hücrelerin iç kısmındaki elektriksel potansiyel, çevresindeki sıvıya göre -60 mV civarındadır. Bu fark, tüylü hücreler ile arasında yaklaşık 140 mV’lik büyük bir potansiyel farkı oluşturur. Bu durum, kokleanın uyarılmamış durumda bile önemli bir elektriksel potansiyele, yani bir dinlenme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (8).

2.2.2. Koklear mikrofonik

Tüy hücrelerinin stereosilyalarının hareketlenmesi ve buna bağlı depolarizasyon veya hiperpolarizasyon, mekanik bir sinyalin (iç kulaktaki sıvı dalgası) elektrokimyasal bir sinyale dönüştüğü önemli bir adımdır (20).

Endolenfteki başlıca katyon potasyum olduğundan, potasyum akımının tüy hücrelerinde sinyal iletim sürecini tetikleyen önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

İç tüy hücreleri depolarize olduktan sonra, voltaj bağımlı kalsiyum kanalları açılır. Bu kanallar, tüy hücrelerinin bazolateral yüzeyinde, primer işitsel sinir lifleriyle olan sinaptik temas noktalarının bulunduğu bölgelerde yoğunlaşmıştır. Bu voltaj bağımlı iyon kanalları tarafından yönetilen kalsiyum akımı, sinir hücrelerinde nörotransmitter salınımını tetikleyerek işitsel sinir liflerini aktive eder. Bu süreçte rol oynayan nörotransmitter tam olarak tanımlanmamış olsa da, glutamat ile yakından ilişkili bir molekül olduğu düşünülmektedir (20).

2.2.3. Birikim (Summasyon) Potansiyeli:

Koklea içinde ses dalgasının en yoğun olduğu noktadan ölçülen bir potansiyeldir. Bu potansiyel, büyük ölçüde iç tüylü hücrelerdeki elektriksel aktiviteye dayanan bir akım tarafından üretilir (8).

2.2.4. Bileşik Aksiyon Potansiyeli

Bu potansiyel, işitme sinirindeki liflerden kaynaklanır. Aksiyon potansiyelinin genliği, uyarı eşiğinin 40-50 dB üzerinde yükselir; ancak uyarı yoğunluğu arttıkça azalma eğilimi gösterir. Bu sırada, işitme sinirindeki taşıyıcı nöronların toplam aksiyon potansiyelleri, o andaki genel işitme sinirinin aksiyon potansiyelini oluşturur (8).

2.2.5. İşitme Siniri Fizyolojisi

Kokleadaki mekanik titreşimlerin elektrokimyasal sinyallere dönüştürülmesi, işitme sürecinin kritik bir aşamasıdır. Tüylü hücreler tarafından başlatılan bu dönüşümden sonra, sinyaller afferent işitme sinirleri aracılığıyla beyne iletilir. Bu afferent nöronlar, işitme yolundaki ilk nöronal bağlantılardır ve bipolar yapıya sahiptirler; yani hücre gövdeleri (spiral ganglion hücreleri) Rosenthal kanalında yer alır. Nöronlar, bir uçlarıyla tüylü hücrelerle sinaps yaparken, diğer uçlarıyla merkezi sinir sistemine sinyal iletirler.

İnsanlarda yaklaşık 30.000 spiral ganglion hücresi vardır: Tip I ve Tip II spiral ganglion hücreleri. Tip I spiral ganglion hücreleri miyelinlidir ve tüm spiral ganglion hücrelerinin %90'ını oluşturur. Bu hücrelerin her biri tek bir iç tüylü hücreye bağlanır ve işitme sinyallerinin hızlı iletilmesinde kritik bir rol oynar. İç tüylü hücrelerin, işitme

yolundaki asıl sensörler olduğu göz önüne alındığında, Tip I hücrelerin işitme hassasiyeti üzerindeki etkisi büyüktür. Tip II spiral ganglion hücreleri ise miyelinsizdir ve birden fazla dış tüylü hücreyle bağlantı kurar. Bu, dış tüylü hücrelerin esas olarak sesin amplifikasyonunda rol oynadığını göstermektedir.

İşitme sistemindeki bu nöronal düzenleme, baziler membran ve tüylü hücrelerdeki tonotopik organizasyonla uyumludur. Koklea, farklı frekanslara duyarlı bölgelerden oluşur ve bu frekans duyarlılığı, işitme sinir liflerinde de korunur. Her işitme sinir lifi, belirli bir frekansa en duyarlı olacak şekilde düzenlenmiştir ve bu frekansa "karakteristik frekans" adı verilir. Bu tonotopik düzenleme, sesin frekans bileşenlerinin analiz edilmesini sağlar ve frekans bilgisi, işitme yolunun tüm aşamalarında korunarak merkezi sinir sistemine iletilir.

Bu sürecin hassasiyeti, işitme sisteminin verimliliğini artırır. Örneğin, insan işitme sistemi, çok küçük bir titreşimle oluşmasına rağmen -10 dB Ses Basınç Seviyesi (SPL) gibi düşük ses basınç seviyelerini algılayabilir. Bu, işitme sisteminin ne kadar hassas olduğunu gösterir. İşitme nöronları, farklı ses basınç seviyelerine farklı tepkiler verir. Ses basıncı arttıkça nöronlar daha hızlı iletme başlar, ancak bu ilişki doğrusal değildir; belirli bir ses basıncının üzerinde, nöronlar iletim hızlarını doyumluğa ulaştırır. Bu durum, her nöronun belirli bir dinamik aralığı olduğunu gösterir (20).

Koklea içinde düşük frekanslı sesler, baziler membranın tepe (apeks) bölgesinde en fazla uyarıma neden olurken, yüksek frekanslı sesler baziler membranın tabanında (kokleanın başlangıç kısmında) maksimum aktivasyon oluşturur. Orta frekanslı sesler ise bu iki uç arasında bir yerde, uygun bir noktada baziler membranı uyarır. İşitme sisteminin ses frekanslarını algılama yöntemi, baziler membranın en fazla uyarıldığı bölgeyi tespit etmeye dayanır. Bu prensip, merkezi sinir sisteminin belirli ses frekanslarını nasıl ayırt ettiğini açıklar.

Baziler membranın apikal ucu (helikotrema' ya yakın bölgesi) 200 Hzin altındaki tüm frekanslarla uyarılabilir. Düşük frekanslı (20-200 Hz arası) sesler sinir impulslarını aynı frekansta tetikleyebilir ve bu impulslar koklear sinir aracılığıyla beyne iletilir. Koklear çekirdekler, bu impulsların frekanslarını ayırt edebilme yeteneğine sahiptir. Bu açıklamalar ışığında, kokleanın apikal kısmının hasar görmesi düşük frekanslı seslerin tamamen algılanmasının kaybına yol açmaz.

Sesin yüksekliği, işitme sistemi tarafından üç yolla algılanır. İlk olarak, ses şiddeti arttıkça, baziler membran ve tüylü hücrelerin titreşim genliği de artar, bu da sinir uçlarını daha hızlı uyarmalarına neden olur. İkinci olarak, titreşim genliği yükseldikçe, baziler membranın rezonansa giren bölgesinin kenarlarındaki tüylü hücreler de uyarılmaya başlar. Bu durum, çok sayıda sinir lifinin uyarılmasına yol açarak, sinirsel impulsların toplanmasını sağlar. Üçüncü olarak ise, dış tüylü hücreler yüksek şiddetteki seslere kadar uyarılmazlar, bu hücrelerin uyarılması sinir sistemine sesin yüksek olduğunu bildirir.

Desibel birimi, ses şiddeti aralığını ifade etmek için kullanılır. Ses enerjisinde 10 kat artış 1 bel olarak tanımlanır ve bunun onda biri, yani 0,1 bel 1 desibele eşittir. 1 desibel, ses enerjisinde 1,26 kat artış anlamına gelir. Ses şiddetini belirlemede 1 dB değişikliğin ayırt edilmesi güçtür (21).

2.2.6. Santral İşitme Sistemi

Üst olivary çekirdekten çıkan işitsel sinyaller, lateral lemniskus boyunca ilerlerken bazıları lateral lemniskus çekirdeğinde sonlanır, ancak çoğu sinir lifi bu bölgeyi geçerek inferior kollikulusa ulaşır. Burada hemen hemen tüm sinyaller işlenir. Daha sonra sinyaller, medial genikulat çekirdeğinde tamamen sinaps yaptıktan sonra, işitsel yol aracılığıyla temporal lobdaki işitsel kortekse iletilir.

Bu işitsel yolun birkaç önemli özelliği dikkat çeker. Birincisi, her iki kulaktan gelen işitsel bilgiler beyin hemisferlerinin her iki tarafına da iletirse de çoğunlukla karşı taraf üzerinden geçiş baskındır. Beyin sapındaki üç noktada işitsel yollar arasında çapraz geçiş gerçekleşir:

- 1-Trapezoid cisim,
- 2-Lateral lemniskus çekirdekleri arasındaki bağlantı ve
- 3-Inferior kollikuluslar arasındaki komissürler bu geçişin gerçekleştiği bölgelerdir.

İkincisi, işitsel yolların bazı yan kolları doğrudan beyin sapındaki retiküler aktivasyon sistemine gider ve burada tüm sinir sistemi, ani ve yüksek seslere tepki olarak hızla harekete geçirilir. Diğer yan yollar ise, aniden ortaya çıkan sesler karşısında hemen tepki veren serebelluma yönelir.

Son olarak, işitsel yol boyunca ses frekanslarının işlenmesi, kokleadan işitsel kortekse kadar belli bir düzenle korunur. Koklear çekirdeklerde, inferior kollikuluslarda ve işitsel kortekste frekanslara göre ayrılmış özel bölgeler bulunur. Bu bölgeler, seslerin frekanslarını hassas bir şekilde ayırt etmeye yardımcı olur (21).

Koklear çekirdeklere giren işitsel sinir lifleri, saniyede 1000'e kadar uyarım yapabilir ve bu hız büyük oranda sesin şiddetine bağlıdır. 2000 ile 4000 Hz arasında değişen ses frekanslarında, sinir impulsları genellikle ses dalgalarıyla senkronize olur, ancak her dalga mutlaka bir impuls oluşmayabilir.

Beyin sapındaki işitsel yollarda, uyarım genellikle ses frekansı ile senkronizasyonunu kaybeder, sadece 200 Hz nin altındaki frekanslarda bu senkronizasyon devam edebilir. Inferior kollikulusun ötesinde ise bu senkronizasyon neredeyse tamamen kaybolur. Bu durum, ses sinyallerinin doğrudan kulaktan beyne bozulmadan iletilmediğini gösterir; aksine, ses sinyallerine ait bilgiler daha alt seviyelerden, özellikle koklear çekirdeklerden itibaren işlenmeye başlanır. İşitsel sinyallerin beyin korteksindeki yansıma bölgesi, işitsel korteksin çoğunlukla superior temporal girusun supratemporal düzleminde bulunduğunu, ancak bunun yanı sıra temporal lobun yan yüzeyine, insular korteksin geniş bir bölümüne ve parietal operkulumun lateral kısmına doğru yayıldığını ortaya koymaktadır (21).

2.2.7. İşitsel Korteks

İşitsel korteksin ana bölümü temporal lobda, Sylvian fissürüne yakın bir bölgede yer alır. Bu bölgede işitsel işlemlerden sorumlu iki temel merkez bulunmaktadır: Primer işitme alanı ve Sekonder İşitme alanı. Primer işitme alanı, temporal lobun üst yüzeyinde (Heschl girusu) konumlanmış olup, Brodmann alanı 41'e karşılık gelen A1 bölgesi olarak bilinir. Sekonder işitme alanı ise A2 bölgesi olarak adlandırılır ve Brodmann'ın 22 ve 42 numaralı alanlarına denk gelir. Primer işitme alanı, karmaşık ses sinyallerinin işlenmesi ve dilin anlaşılması gibi işlevlerde rol oynar. Primer işitme alanının yanında sekonder işitme alanı yer alır. Bu bölge aynı zamanda dil algılama bölgesi olan Wernicke Alanı'nın bir parçasıdır. Fonksiyonel görüntüleme çalışmaları, bu bölgenin konuşma algısında önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Primer işitme alanı ve Wernicke Alanı'na ek olarak, subkortikal yapılardan gelen işitsel bilgiler limbik sistemin bir parçası olan amigdala gibi bölgelere

de ulaşır. Bu durum duyulan bir sesin veya dinlenen bir müziğin duygusal tepkiler oluşturmaya yol açabilir (20).

2.2.8. İşitsel Beyin Sapı ve Efferent Sistemler

İşitsel beyin sapı, yalnızca daha yüksek işitsel işleme merkezlerine projeksiyon yapmaz, aynı zamanda iki temel inen sistem aracılığıyla kulağa efferent sinyaller gönderir: orta kulak kası refleks yolları ve olivokoklear (OK) refleks yolları.

a. Orta Kulak Kası Refleksi Yolları: Orta kulak kası refleksi, işitsel yollarla önemli bir geri bildirim sistemidir. Stapedius ve tensor timpani kasları, bu refleksin hedefleridir ve motor nöronlar tarafından innerve edilir. Ses uyaranlarına yanıt olarak bu kaslar kasılır ve kemikçik zincirinin empedansını artırır. Stapedius kası, özellikle insanlarda baskın olan işitsel bir refleks yolu olarak bilinir. Orta kulak kası refleksinin iki ana işlevi öne sürülmüştür:

(1) Kokleaya ulaşan akustik enerjiyi azaltarak orta kulağın empedansını düzenlemek ve

(2) Düşük frekanslı seslerin filtrelenmesi, böylece arka plan gürültüsünün konuşma frekanslarını maskeleymesini önlemek.

b. Olivokoklear Refleks Yolları: İki ana OK yol vardır: medial ve lateral olivokoklear yollar. Medial Olivokoklear Lifler, dış tüylü hücreleri innerve ederken, Lateral Olivokoklear Lifler iç tüylü hücrelerin altındaki işitsel sinirleri innerve eder. Medial Olivokoklear Lifler, kokleanın yanıtlarını azaltarak kulaktaki ses amplifikasyonunu kontrol eder. Aynı zamanda, arka plan gürültüsüne rağmen kısa süreli seslere daha iyi yanıt verilmesini sağlar (20).

2.3. SIÇANLARIN KULAK ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Otolojik araştırmalar, kulak yapıları insana benzeyen sıçan ve kobay gibi deney hayvanlarının kullanımını gerektirir (22).

Schneider ve ark. göre, tıbbi araştırmaların %90'ı fare, sıçan ve kobay gibi hayvanlarla yürütülmektedir. Oliveira ve ark., kobayın işitme ve denge sistemlerinin insana çok benzediğini, bu nedenle deneylerde ideal bir model olduğunu belirtmiştir. Öte yandan Santos ve ark., sıçanı pratik avantajları ve kulak yapısının insana benzerliği nedeniyle tercih etmiştir(22–25).

Sıçanların birçok organının işlevleri ve yapıları, kapsamlı deneysel çalışmalarla iyi bir şekilde ortaya konmuştur. Gen dizimleri de büyük ölçüde çözümlenmiştir. Bu nedenle, sıçanlar artık çeşitli tıbbi deneysel araştırmalarda kullanılmaktadır. İç kulakta ise gürültü ve ilaçlarla indüklenen ototoksisite modellerinde sıkça kullanılmaktadır (26).

Araştırmalarda kullanılan sıçanlar, ultrasonik frekans aralığında (≥ 80.000 Hz) işitme duyarlılığına sahiptir, bu da insan işitme aralığının (20-20.000 Hz) çok ötesindedir. Chinchilla, tavşan, kedi ve insan dışı primatlar gibi diğer memeliler ise, düşük frekanslardaki işitme duyarlılığı açısından insanlar ile benzerlik gösterir (27).

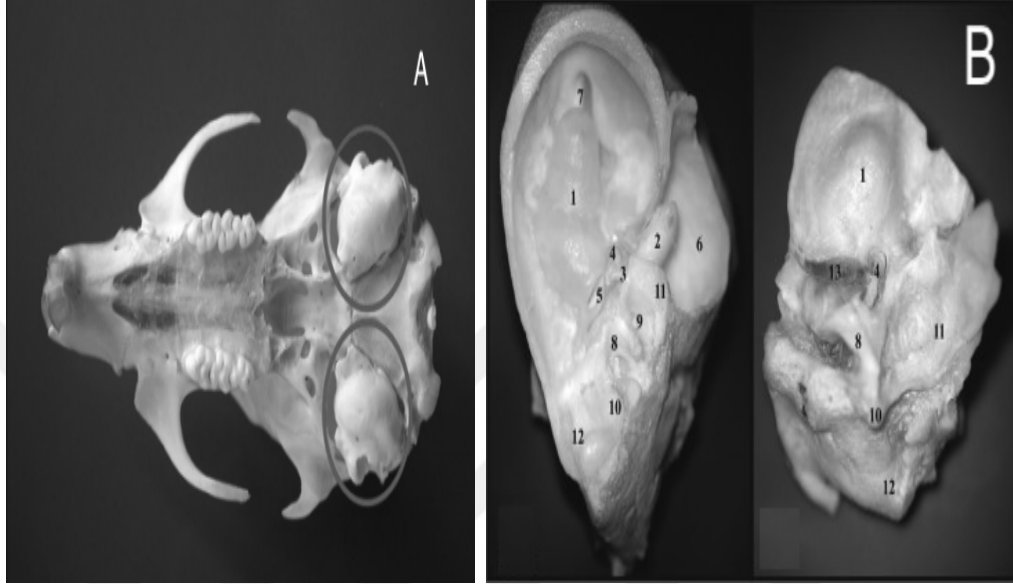
Sıçan temporal kemiği, diğer memelilerdeki gibi skuamoz, petroz, timpanik ve mastoid kemiklerden oluşur ve kafatasının yan tarafında bulunur. Üstte paryetal, altta ve içte sfenoid, önde zigomatik ve arkada oksipital kemiklerle komşudur. Skuamoz kemik, temporal kemiğin üst ve ön kısmını oluşturur ve zigomatik çıkıntısıyla maksilla kemiğiyle birleşerek zigomatik arkı oluşturur. Timpanik kemik, dış kulak kanalı ve timpanik bullayı içerir ve skuamoz ile mastoid kemiklerle bağlanır. Mastoid kemik, ince ve hava hücresi içermeyen bir yapıya sahip olup, sternomastoid kası tutunma bölgesidir.

Petrozal kemik, kafatası tabanının lateral kısmında yer alır ve arka kısımda oksipital kemikle birleşir. Üst arka çeyreğinde subarkuat fossa bulunur, bu bölge flocculonodular lobu barındırır. Sıçan temporal kemiği, insanlarda bulunan internal meatus fundusu gibi belirgin kemik bölmeleri içermez. Petrozal ve oksipital kemiklerin birleşiminde sigmoid sinüs bulunur ve önünde endolenfatik kese yer alır.

Temporal kemiğin alt kısmı, timpanik bulla, petroz kemiğin tabanı ve mastoid uçtan oluşur. Östaki borusunun farengal açıklığı, timpanik bullanın önünde yer alır (26).

Sıçan orta kulağında timpanik membran, kulak kanalını orta kulak boşluğundan ayırır. Bu zar, pars tensa ve pars flaksida olmak üzere iki bölüme ayrılır. Pars tensa, fibröz kıkırdakla timpanik sulkustaki anulusa bağlı olup, dış kısmı çok katmanlı yassı epitelden, iç kısmı ise orta kulak mukozasından oluşur. Timpanik kavitenin medial duvarı aynı zamanda iç kulağın lateral duvarını oluşturur. Bu duvarda kokleanın promontoryum çıkıntısı, oval ve yuvarlak pencereler bulunur. Oval pencere stapes tabanı ile, yuvarlak pencere ise yuvarlak pencere zarı ile kapatılmıştır. Ayrıca,

östaki borusu promontoryumun ön ve alt tarafında yer alır. Orta kulak boşluğunda malleus, inkus ve stapes olmak üzere üç işitme kemiği bulunur. İnsanlardan farklı olarak sıçanlarda stapediyal arter, stapesin ayak tabanı ile kolları arasından geçer ve kemikçikler, kaslar ve bağlar ile desteklenir (26).



Şekil 2: Sıçan Temporal Anatomisi

A: Sıçan kafa tabanındaki Timpanik Bulla görünümü, B: Timpanik Bulla'nın içerisine bakış. 1-Kohlea, 2-Malleus, 3-İnkusun uzun kolu, 4-Stapes tabanı, 5-Yuvarlak Pencere, 6-Mastoid, 7-Östaki Tüpü, 8-Lateral Semisirküler Kanal, 9-Fasial Kanal, 10-Posterior Semisirküler Kanal, 11-Süperior Semisirküler Kanal, 12-Posterior Sinüs, 13-Karotis Arter. (Albuquerque ve ark. yazısından alıntılanmıştır.) (22)

2.3.1. Sıçanlarda İşitmenin Değerlendirilmesi

İnsanların işitme aralığı 20-20.000 Hz iken, sıçanlarda bu aralık 200-90.000 Hz'dir. İnsanlar işitme yeteneğine anne karnında sahipken, sıçanlarda bu yetenek doğumdan sonra gelişir ve dış kulak kanalı ikinci haftada açılır. Sıçan kokleası, insan kokleasına benzer şekilde 2,5 spiral turdan oluşur ve benzer sinaptik bağlantılara sahiptir. Kokleada frekanslara duyarlı tüylü hücreler tonotopik olarak dizilmiştir. Sıçan kokleasında yaklaşık 1000 iç, 3500 dış tüylü hücre ve 16.000 spiral ganglion nöronu bulunurken, insanlarda bu sayılar sırasıyla 3500, 12.500 ve 35.000'dir. Bu farklar, işitme kaybı çalışmalarında test edilen gürültü tipini belirlemek için önemlidir (28).

2.4. OTO AKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonlar (OAE), kokleadan kaynaklanan ve kulak kanalına konulan bir mikrofon aracılığıyla kaydedilebilen seslerdir. Bu sesler, kokleanın dış tüylü hücrelerinin işitsel uyarılara verdikleri yanıtlar ile oluşur. OAE ler, koklear fonksiyonun sağlıklı olduğunu göstermede objektif ve invazif olmayan bir tetkiktir ve yenidoğan işitme tarama programlarında yaygın olarak kullanılır. OAE ler, farklı odyolojik tanılara katkıda bulunabilir, tedavi etkilerini izlemek için kullanılabilir ve işitme cihazları ile cerrahi seçeneklerin seçiminde yardımcı olabilir. OAE ler, bilimsel araştırmalarda da yaygın olarak kullanılır. Kokleanın mekanizmaları ve işleyişi hakkında yeni araştırmalara katkıda bulunmuştur (29).

OAE ölçümü sırasında, dış kulak yoluna yerleştirilen bir mikrofon aracılığıyla iç kulağa uyarın (örneğin klik sesi) gönderilir. Ses uyarını iç kulağa iletilirken, dış tüylü hücrelerde mekanik bir enerji oluşturur ve bu enerji oval pencereye doğru geri iletilir. Timpanik zarın hareketine bağlı olarak ortaya çıkan otoakustik emisyon, probda bulunan mikrofon aracılığıyla kaydedilir. Bu yöntemle, kokleanın ses uyarısına verdiği tepki ölçülerek dış tüylü hücrelerin işlevi hakkında bilgi elde edilir (9).

Otoakustik emisyonlar şöyle sınıflandırılabilir:

1-Herhangi bir uyarın olmadan istirahat halinde oluşan Spontan Otoakustik Emisyon (SOAE)

2-Akustik Uyarın ile İndüklenen Otoakustik Emisyonlar

a-Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar (TEOAE)

b-Distortion Product Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

2.4.1. Spontan Otoakustik Emisyon (SOAE)

SOAEler, herhangi bir akustik uyarına ihtiyaç duymadan kaydedilebilirler. SOAEler iki farklı yöntemle kaydedilebilir: Birinci yöntemde, kulak kanalına yerleştirilen hassas bir mikrofon ile hiçbir uyarın verilmeden ses basıncı kaydedilir. İkinci yöntemde ise, akustik uyarınlarla (klik sesleri) senkronize edilerek ses kaydedilir. Bu yöntem, uyarın sonrası devam eden ses salınımlarının tanınmasını sağlar (15).

İnsanlarda iki tip SOAE gözlenmiştir. "Düşük seviyeli" SOAE'ler, 1.000-2.000 Hz frekans aralığında, -10 ila 20 dB SPL arasında, işitme duyarlılığı normal olan bireylerin yaklaşık %70'inde görülür. "Yüksek seviyeli" SOAE'ler ise daha nadir görülür. Sensörinöral işitme kaybı ile ilişkilidir; bu emisyonlar 50 dB SPLye kadar çıkabilir. Testin yapıldığı ortamın etrafındaki kişiler de bu emisyonları işitebilir. SOAE'lerin varlığı genellikle o frekans aralığında işitmenin normal olduğunu gösterir. SOAE ölçümlerinin klinik kullanımı kısıtlıdır. Eğer düşük seviyeli SOAEler mevcutsa, bu frekans aralığında işitmenin 20 dB'den iyi olduğu varsayılabilir. Ancak SOAE'lerin yokluğu işitme kaybı olduğunu göstermez. Ayrıca, SOAE'ler tinnitus ile karıştırılmamalıdır. Klinik izlem amacıyla, özellikle ototoksik ilaçların etkilerini gözlemek için SOAE ölçümleri yararlı olabilir. Ancak bu amaçla "Uyarılmış OAE'ler (evoked OAE)" daha güvenilir bilgiler sağlar (30).

2.4.2. Geçici Uyarılmış (Transient Evoked) Otoakustik Emisyonlar (TEOAE)

Kısa süreli uyarılar ile elde edilir. TEOAElerin elde edilmesinde klik veya ton patlamaları kullanılır. En yaygın kullanılan "klik" tir. Bu uyarı, kokleanın çoğu bölgesini uyararak frekansa özgü farklı alanlardan yanıt alınmasını sağlar. Frekansa özgü bir bölgenin incelenmesi gerektiğinde ton patlamaları da kullanılabilir. Uyarılar genellikle 60-80 dB SPL seviyelerinde tutulur. Uyarı ve yanıt bileşenlerini ayırmak amacıyla bazı özel teknikler uygulanmaktadır. En yaygın uygulanan, nonlinear klikler ile uyarının iptal edildiği ve yalnızca kokleanın nonlinear yanıtının kaydedildiği tekniktir. Bu yöntemin avantajı, gürültü yükselse bile başarıyla uygulanabilmesidir. TEOAE, yorumlanmasında test sırasında gürültü seviyelerinin yüksekliği yanıtı engelleyebilir.

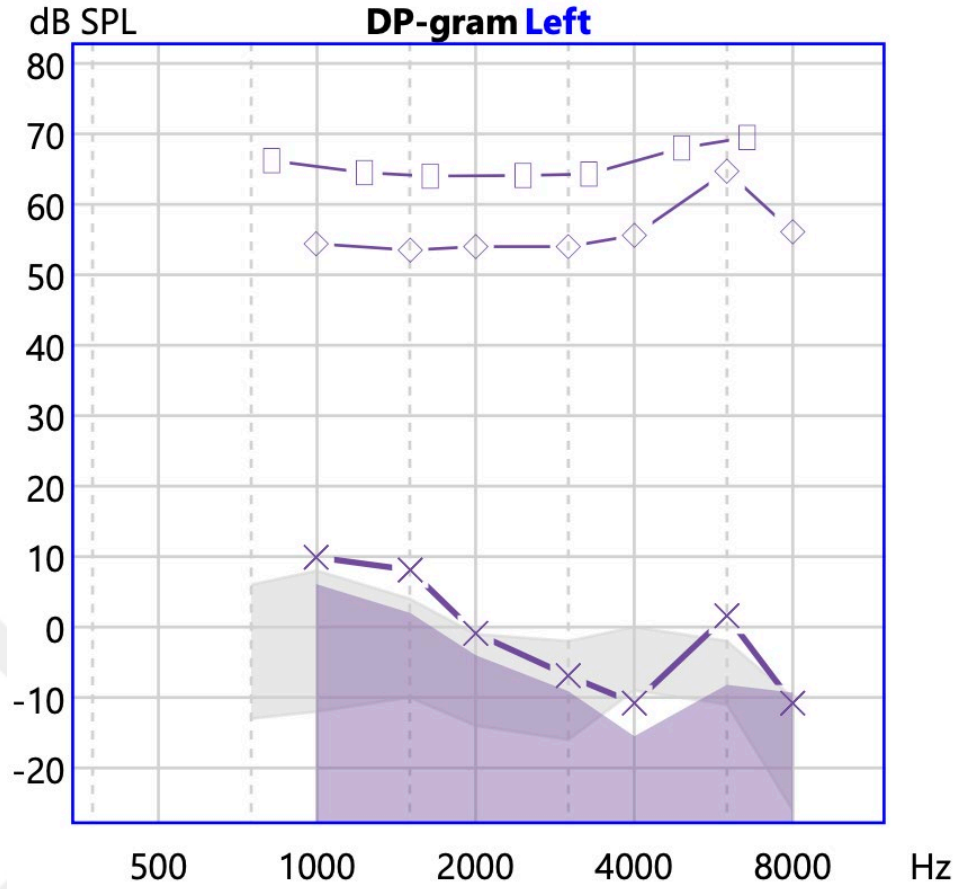
TEOAE sonuçları, işitme hassasiyetini değerlendirmede önemli bilgiler sağlar. Genel olarak, 250-8000 Hz aralığında 20 dB 'den daha iyi işitme seviyelerine sahip kişilerde TEOAE ler %99 oranında mevcuttur. 40 dB' nin üzerinde sensörinöral işitme kaybı olan kişilerde ise TEOAE ler genellikle bulunmaz (30).

2.4.3. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

DPOAE ler, iki farklı frekansta (f_2 ve f_1 , $f_2 > f_1$) aynı anda verilen tonlarla oluşturulur. Bu çift tonlu uyarı, yalnızca tek bir tonun kullanıldığı yöntemlere göre daha karmaşık bir mekanizma oluşturur. Bu iki ton ile baziler membran etkileşir ve kokleanın dış tüylü hücrelerinin non-lineer ses iletim süreci nedeniyle mekanik bir bozulma (distorsiyon) yaratır. Bu bozulma, kulak zarına iletilir ve dış kulak yolunda bir mikrofon ile ölçülerek DPOAE ler tespit edilir (31).

DPOAE nin oluşumunda f_2 frekansının karakteristik noktası önemli bir rol oynar. Maksimum DPOAE genliği elde edebilmek için f_2 ve f_1 frekanslarının oranı, ayrıca bu iki tona ait ses seviyeleri (L_2 ve L_1) büyük bir önem taşır. Optimal frekans oranı, $f_2/f_1=1,2$ olarak kabul edilir. Yüksek frekanslarda bu oran biraz daha küçülürken, düşük frekanslarda biraz daha büyür. Aynı zamanda, uyarıların genliği büyüdükçe bu iki dalganın kesişme alanı genişler ve bu, DPOAE nin amplitüdünü arttırır. Ancak, uyarı şiddeti arttıkça, en iyi sonuçlar için primer tonların seviyeleri eşit olmalıdır ($L_2 = L_1$) (31).

Bu yöntemle, dış tüylü hücrelerin fonksiyonları incelenebilir. Özellikle yüksek frekans ile yapılan DPOAE ölçümleri, erken dönemdeki işitme kayıplarını tespit etmekte yararlıdır. Bu yöntem, aşırı gürültüye maruz kalma veya ototoksik ilaç kullanımı gibi kokleanın hasar görmesine neden olabilecek durumlarda işitme kaybını erken teşhis etmek için oldukça değerlidir. Geleneksel ton odyometrisine kıyasla daha kısa sürede daha ayrıntılı bilgi verir (31).



Şekil 3: Çalışmamızdaki Sıçanlarda DPOAE Örneği

2.5. OTOTOKSİSİTE

Ototoksisite, iç kulağın yapısal ve duyuşal fonksiyonlarına zarar veren, koklea ve vestibüler yapıları hedef alan bir durum olarak tanımlanmaktadır. Bu duruma belirli ilaçlar, kimyasallar veya iyonize radyasyona maruz kalmak neden olabilir. Ototoksisite genellikle iç kulakta yoğunlaşır; ancak, ototoksik maddeler merkezi işitme yollarını da etkileyebilir ve bu nedenle nörotoksik olarak kabul edilir. Ayrıca ototoksik maddeler böbrek hasarına ve böbrek işlev bozukluğuna da yol açabilir (32).

Ototoksisite yüksek frekanslarda başlayıp (8000 Hz) daha düşük frekanslara doğru ilerleyen şekilde görülür. Bu kaybı tespit edebilmek için 8000Hz altındaki frekanslarda saf ses odyometri, 8000Hz üzerindeki frekanslarda yüksek frekanslı odyometri tetkiki kullanılmalıdır. Otoakustik emisyon, DPOAE başta olmak üzere, timpanometri gibi tetkiklerle ototoksisite tanısı desteklenebilir. Bir maddenin

ototoksik olarak tanımlanması için saf ses odyometride her iki kulakta 250-8000 Hz aralığında en az 10 dB kayıp olmalıdır (33, 34).

2.5.1. Sisplatin Ototoksitesisi

Sisplatin, çeşitli solid tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sisplatinle tedavi edilen tümörler arasında baş ve boyun kanserleri, testis, over ve akciğer kanserleri bulunan yetişkin hastalar yer almaktadır. Ayrıca sisplatin, nöroblastoma, osteosarkoma, hepatoblastoma, germ hücreli tümörler ve medulloblastoma gibi pediatrik kanserlerde de önemli bir kemoterapi ajanıdır. Sisplatin kemoterapisi gören çocukların %63 ila %77sinde kalıcı sensörinöral işitme kaybı görülmektedir. Sisplatin özellikle her iki kulakta yüksek frekansları etkilemekte ve bu işitme kaybı kalıcı olmaktadır. Bu tür bir işitme kaybı, özellikle küçük yaşta çocuklarda yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyebilir. İşitme kaybı, konuşma gelişiminin gecikmesine ve çok küçük çocuklarda bilişsel ve psikososyal gelişimi olumsuz yönde etkileyebilir (35).

Sisplatinle ilgili işitme kaybı genellikle ilerleyici, kalıcı ve iki kulakta simetrik olarak meydana gelir (36).

Sisplatin kaynaklı ototoksitesinin etkilediği bölgeler arasında Korti organı, stria vaskularis ve spiral gangliyon yer almaktadır. Bu bölgelerdeki olumsuz etkilerin aynı anda meydana geldiği öne sürülmekle birlikte, kokleada neresinin ilk hedef olduğu henüz tam olarak belirlenmemiştir. Sisplatin tedavisi, endokoklear potansiyel ve koklear mikrofoni potansiyel eşiklerinde düşüş, bileşik aksiyon potansiyeli eşliğinde artış ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyonların (DPOAE) azalması ile ilişkilidir. Endokoklear Potansiyel’deki azalma, Stria Vaskularis’teki işlev bozukluğuna işaret eder ve bu durum, kokleanın bazal laminasında ödem, şişme ve hücre kaybı ile karakterize edilir (37).

Sisplatin, kanda hidrolize uğrayarak başlıca sitotoksik etkilerinden sorumlu olan cisdiaminakuakloroplatinum (II) adlı bir metabolite dönüşür. Sisplatin koklear dokularla etkileşime girerek güçlü bir reaktif oksijen türleri (ROS) yanıtı oluşturur. Bu yanıt ile beraber süperoksitlerin nötralize edilmesi için gerekli olan antioksidan enzim sistemini tükettiği de gösterilmiştir. Kokleada artan ROS yükü, azalan antioksidan savunma mekanizması ile birleşerek hücre hasarına ve apoptoza neden olur.

Kokleadaki antioksidan enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPX) ve glutatyon redüktazı içerir. Bu enzimlerin down regülasyonu, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit ve okside glutatyon (GSSG) miktarlarında artışla seyreder. Koklea dokularında oluşan süperoksitler dış tüylü hücrelerde apoptoza neden olur (38).

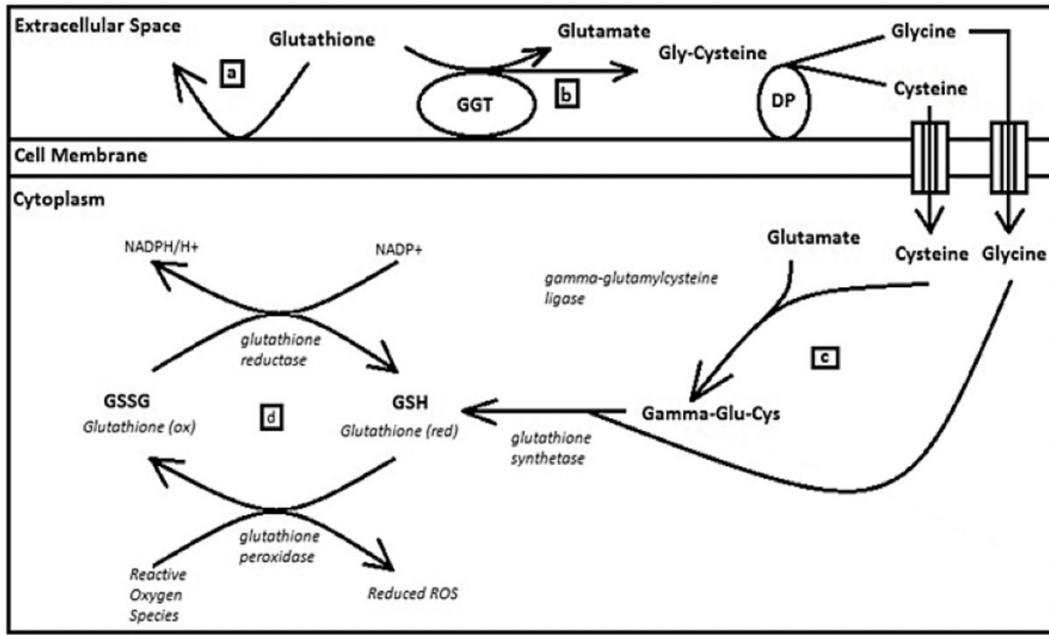
Sisplatinin iç kulakta oluşturduğu inflamatuvar yanıtın da işitme kaybına neden olabileceği düşünülmektedir. Proinflamatuvar sitokinler, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimini tetikleyerek fibroblast hasarına ve koklear disfonksiyona neden olabilir. Ayrıca, TNF- α nın inhibisyonu, sisplatin kaynaklı ototoksisiteyi önemli ölçüde azaltabilir. STAT6 sinyal yolu, sisplatin kaynaklı proinflamatuvar sitokin üretiminde ve ototoksistide kritik bir rol oynamakta ve bu süreç NF- κ B yolundan bağımsız işlemektedir (39).

2.6. GLUTATYON(GSH)

Tripeptit γ -l-glutamil-l-sisteinil-glisin olarak bilinen glutatyon (GSH), hücrelerde sentezlenen en önemli düşük moleküler ağırlıklı antioksidandır. Glutatyon, öncelikle glutamata sisteinin eklenmesi ve ardından glisin eklenmesiyle sentezlenir. Sisteinin sülfidril (-SH) grubu, indirgeme ve konjugasyon reaksiyonlarında rol oynar, bu da GSH'nin temel işlevlerinden biridir. Bu reaksiyonlar, peroksitler ve çeşitli yabancı maddelerin vücuttan uzaklaştırılmasını sağlar. Ayrıca GSH, hücre döngüsünün düzenlenmesinde de etkilidir (4).

GSH, insan vücudundaki pek çok metabolik aktiviteye ve fizyolojik sürece katılır. En temel rolü, oksidan türlerini temizleyerek hücrelerdeki oksidatif stresi önlemek ve redoks dengesini korumaktır. GSH, oksitleyici maddelerle doğrudan veya enzimatik yollarla reaksiyona girer ve bu sırada oksitlenerek okside glutatyon (GSSG) 'a dönüşür. Serbest radikaller ve ROS, GSH tarafından doğrudan etkisiz hale getirilebilir. Enzimatik olarak ise GSH, GPX in ortak substratı olarak hidrojen Peroksit'i (H₂O₂) Su (H₂O)'ya dönüştürür. Ayrıca, GSH'nin bir diğer önemli işlevi konjugasyondur. GSH yabancı maddeleri detoksifiye eder; bu işlem Glutatyon-S-Transferaz (GST) katalizörlüğünde gerçekleşir ve GSH ile birleşen maddeler hücre dışına atılır (40).

GSH'nin okside formunun redükte formuna indirgenerek daha zararsız hale getirilmesi hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli bir rol oynar. Ayrıca glutatyon katalizörü olduğu GST aracılığı ile de toksik maddelerin hücreden uzaklaştırılmasını sağlar (4). Ototoksisitenin oluşumunda oksidan maddelerin birikimi ile antioksidan dengesinin bozulması da suçlanmaktadır. Antioksidanlar bu oksidan maddeleri nötralize edip toksisitenin iyileşmesine katkıda bulunabilir (38).



Şekil 4: Glutasyon Metabolizması

(Hristov ve ark. yazısından alıntılanmıştır.) (41)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Kulak Burun Boğaz Kliniği'nde gerçekleştirilmiştir. Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından yapılan değerlendirmeler sonucunda 2024/16 kararı ile etik kurul onayından geçmiştir (EK-1).

Etik Kurulu onayı alındıktan sonra çalışmamızda 300-500 gram(gr) ağırlık aralığında olan, sağlıklı, 3-5 aylık, 28 adet sağlıklı Sprague Dowley cinsi erkek sıçan (*genus rattus*) kullanıldı. Sıçanlar sabit sıcaklıkta (22 ° C) ve nemde (%45 ± 5%) 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık döngüsünde tutuldu. 30x60x30cm boyutlarında 50dB altında arka plan gürültüsüne sahip kafeslerde barındırıldı. Kafeslerde altlık olarak ağaç talaşı kullanıldı. Deney öncesi ve süresince hayvanların suya ve gıdaya serbestçe erişmelerine izin verildi. Yem olarak sıçan yemi (pellet olarak), su ise cam biberonlarda çeşme suyu olarak verildi. Deneyler sırasında hayvan bakımı ve muamelesi ile ilgili uluslararası standartlara uyuldu. Deney hayvan temini, barınması ve tüm uygulamalar Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde (ACU-DEHAM) yapıldı.

Sıçanlar üzerinde orta kulağı değerlendirmek amacıyla otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri genel anestezi altında; 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) + 10 mg/kg Ksilazin hidroklorür (Rompun flakon, Bayer, İstanbul) intraperitoneal yolla uygulandı. Doz tekrarı ihtiyacında ise ilk dozun 1/3'ü kadar Ketamin hidroklorür intraperitoneal yolla verildi. Sıçanlar çalışmaya, otoskopik muayene ile dış kulak yolu ve timpanik membran muayenesi doğal ve otoakustik emisyon testi ile dış tüylü hücre fonksiyonu doğal olduğu gösterildikten sonra dahil edildi.

Çalışmada ototoksisite modelini oluşturmak için, 3. günde tek doz 15mg/kg Sisplatin (Cisplatin 50 mg/100 ml flakon, Koçak Farma) intraperitoneal yol ile uygulandı.

Intravenöz GSH ile yapılan çalışmalarda 200 mg GSH/kg dozun nöroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir (42). Çalışmamızda aynı dozu intraperitoneal olarak uyguladık.

3.1. DENEYSEL MODEL

Deney başlangıcında 28 sıçan (56 Kulak) olarak planlama yapıldı. Çalışmamız her bir denek için 8 gün olarak planlandı. Her denek 0. ve 8. günlerinde toplam 2 defa DPOAE ile değerlendirilmiştir. Deney 8. Günde uluslararası etik kurallara uygun şekilde sonlandırılarak histopatolojik incelemeler için örnekler alındı. Deney grupları ise şu şekilde oluşturulmuştur:

1.Grup Kontrol Grubu: Sıçanlara 0. gün otoskopik muayene ve DPOAE ile işitmesinin sağlam olduğu ortaya koyulduktan sonra 7 gün boyunca her gün 10 ml %0,9 NaCl (Serum fizyolojik) intraperitoneal (İP) uygulandı. 8. Günde tekrar otoskopik muayene ve DPOAE ile işitme düzeyinde değişim olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ardından yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulanıp sakrifiye edilen farelerin koklea epitelleri histopatolojik olarak incelenmiştir.

2.Grup GSH Grubu: 0. gün otoskopik muayene ve DPOAE ile işitmesinin sağlam olduğu ortaya koyulduktan sonra 7 gün boyunca her gün 200 mg/kg GSH, İP uygulandı. 8. Günde tekrar otoskopik muayene ve DPOAE ile işitme düzeyinde değişim olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ardından yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulanıp sakrifiye edilen farelerin koklea epitelleri histopatolojik olarak incelenmiştir.

3.Grup Sisplatin Grubu: Sıçanlara 0.gün otoskopik muayene ve DPOAE ile işitmesinin sağlam olduğu ortaya koyulduktan sonra çalışmanın 3. gününde 15 mg/kg tek doz Sisplatin İP uygulandı. 8. Günde tekrar otoskopik muayene ve DPOAE ile işitme düzeyinde değişim olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ardından yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulanıp sakrifiye edilen farelerin koklea epitelleri histopatolojik olarak incelenmiştir.

4.Grup Sisplatin ve Glutatyon Grubu: Sıçanlara 0.gün otoskopik muayene ve DPOAE ile işitmesinin sağlam olduğu ortaya koyulduktan sonra 7 gün boyunca her gün 200 mg/kg GSH ve çalışmanın 3. gününde 15 mg/kg tek doz Sisplatin İP uygulandı. 8. Günde tekrar otoskopik muayene ve DPOAE ile işitme düzeyinde değişim olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ardından yüksek doz anestezi verilerek

ötenazi uygulanıp sakrifiye edilen farelerin koklea epitelleri histopatolojik olarak incelenmiştir.

Çalışmamızda sonuçlar elektrofizyolojik ölçümler ve histopatolojik değerlendirmeler olarak iki aşamada değerlendirildi.

3.2. ELEKTROFİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER

Elektrofizyolojik ölçümler DPOAE ile 0. Ve 8. Günde yapıldı.

3.2.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE)

DPOAE ölçümleri, sessiz bir ortamda sıçanların dış kulak yoluna uygun bir prob yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5: Sıçanlarda DPOAE için “Prob” Yerleştirilmesi

Ölçümlerde Natus Otometrics Marka, Capella 2 Model, 2f1-f2 formüllü, cihazı kullanılmıştır. DPOAE yanıtları Etymotic Research, Inc. ER10D model transdüserler kullanılarak kaydedilmiştir. Cihazların prob göstergesi ve uyarıcı dalga formlarının

uygunluğuna dikkat edilmiştir. F2 frekansı 1000 Hz ile 8000 Hz arasında değişmekte olup, f2/f1 frekans oranı her iki uyaranda da 1,22 olarak belirlenmiştir.



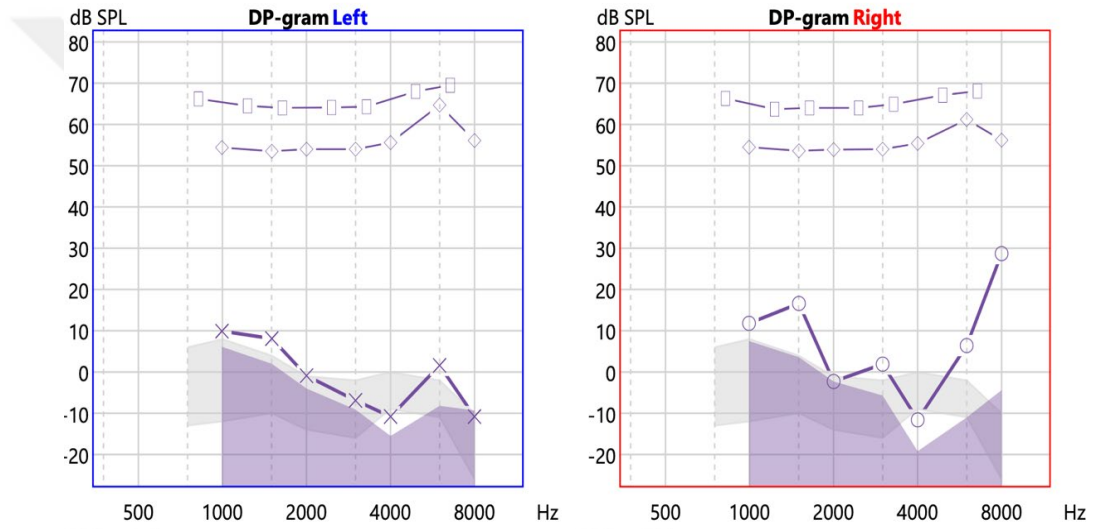
şekil 6: DPOAE Cihazı ve Sıçanlarda DPOAE Ölçümü

Her iki uyarının şiddeti, f1 frekansı için L1 ve f2 frekansı için L2 olacak şekilde ayarlanmış; bu seviyeler arasında 10 dB SPL (L1=65 dB SPL, L2=55 dB SPL) fark bırakılmıştır. Dış kulak kanalına f1 ve f2 uyarıları farklı hoparlörlerle verilmiş ve her iki cihazda da ortalama test süresi 60 saniye olarak belirlenmiştir. DPOAE

testinde “Signal/ Noise Rate” (Sinyal/ Gürültü Oranı) (SNR), 3 dB SPL ve üzeri değerler anlamlı kabul edilmiştir.

DPOAE sonuçları değerlendirilirken 2f₁-f₂ distorsiyon bileşenleri, f₁ ve f₂ nin geometrik ortalamaları (500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz) üzerinde kaydedilmiş ve bu frekanslardaki SNR oranı dikkate alınmıştır.

Tüm denekler için başlangıçta bazal DPOAE değerleri kaydedilmiş, ardından uygulamadan sekiz gün sonra tekrar DPOAE ölçümleri yapılarak her iki grup içi ve gruplar arası SNR oranları karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda, SNR oranları frekansa özgü olarak değerlendirilmiş ve her denek için SNR frekans eğrileri çizilmiştir.



Şekil 7: Kontrol Grubu DPOAE Örnekleri

3.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Çalışmamızın histolojik incelemesi kapsamında, tüm sıçanlar son DPOAE testinin tamamlanmasının ardından sekizinci günde sakrifiye edildi. Temporal kemikler dikkatlice disseke edilip aurikula ile beraber çıkarıldı ve %2,5 gluteraldehit solüsyonu yavaşça enjekte edilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Temporal kemikler, aynı solüsyonda +4°C'de bir gece bekletildi. Fiksasyon işlemi sonrasında temporal kemikler, dekalsifikasyon amacıyla %10'luk EDTA solüsyonunda +4°C'de 10 gün süreyle bekletildi.

Dekalsifikasyonun ardından koklea spesmenleri etanol ile dehidratasyon işlemine tabi tutulup parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak hematoksilin-eozin ile boyama yapıldı. Her bir

sıçanın kokleasından en az 5 kesit mikroskop altında değerlendirildi. Histopatolojik incelemede, sitoplazmik vaküolizasyon, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apopitoz ve sinir dejenerasyonu gibi parametreler ışık mikroskobu kullanılarak kör bir şekilde derecelendirildi. Derecelendirme 0 = normal, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = orta-ileri, 4 = ileri düzeyde dejenerasyon olarak yapıldı.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için SPSS 21. Versiyon bilgisayar programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma, ortanca) kullanıldı. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen ikiden fazla bağımsız grupların karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi, bağımlı grupların karşılaştırmalarında Wilcoxon testi kullanıldı. İki den fazla grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlılık bulunması durumunda post-hoc Dunn-Bonferroni testi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR VE SONUÇLAR

4.1 OTOAKUSTİK EMİSYON SONUÇLARI

Çalışmamızda otoskopik muayenesi normal olan 28 sıçanın 56 kulağında DPOAE ölçümleri yapıldı.

Tüm gruplardaki sıçanlarla çalışmanın 0. Gününde ve çalışmanın 8. gününde DPOAE testi yapıldı. Elde edilen DPOAE test sonuçları grup içinde ve gruplar arası karşılaştırıldı.

Gruplar içinde sağ ve sol kulak arasında 0. gün ve 8. günde ölçülen otoakustik emisyon değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Kontrol grubunda 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo-1) (Şekil 8).

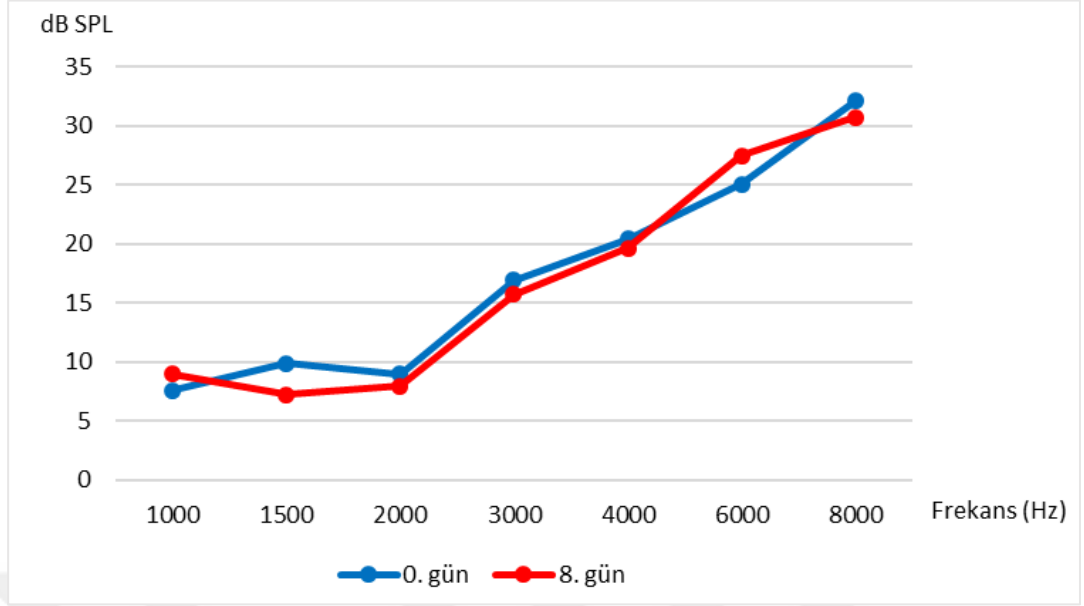
Tablo 1: Kontrol Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Frekans/ Zaman	0. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	8. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	P
1000 Hz	7,57 ± 4,47 (6,5)	9 ± 4,53 (9)	0,419
1500 Hz	9,85 ± 4,83 (11)	7,21 ± 4,15 (6)	0,130
2000 Hz	9 ± 6,34 (6,5)	7,93 ± 5,2 (8)	0,609
3000 Hz	16,93 ± 12,05 (17)	15,71 ± 8,22 (17)	0,504
4000 Hz	20,43 ± 12,88 (26)	19,62 ± 13,86 (28)	0,082
6000 Hz	25,07 ± 13,58 (28,5)	27,5 ± 15,53 (33)	0,157
8000 Hz	32,14 ± 17,82 (38,5)	30,71 ± 18,32 (41,5)	0,149

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Wilcoxon testi



Şekil 8: Kontrol Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Glutasyon grubunun 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından 2000 Hz’de istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,043$). Diğer frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo-2) (Şekil 9).

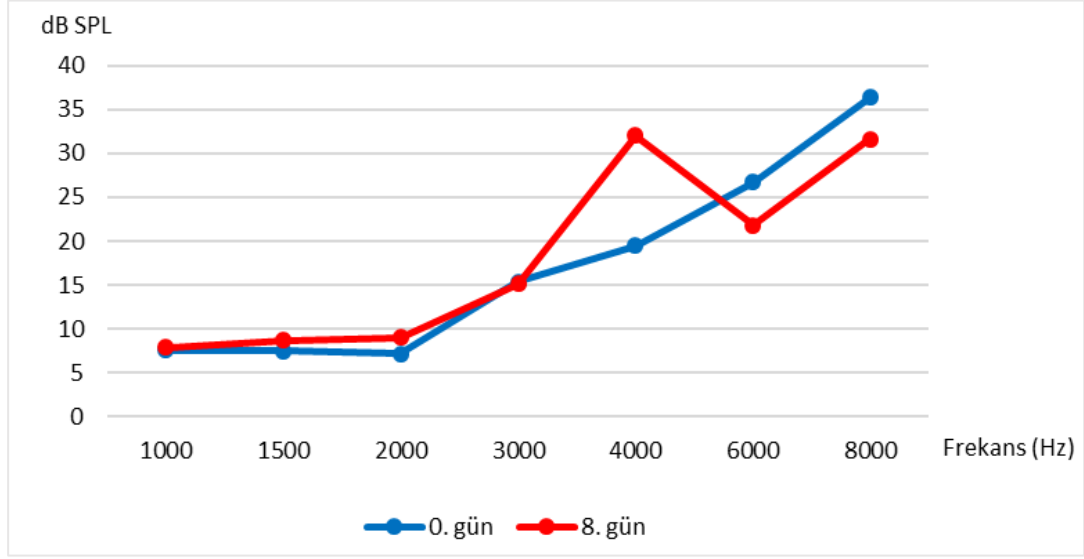
Tablo 2: Glutasyon Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Frekans/ Zaman	0. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	8. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	p
1000 Hz	7,54 ± 2,57 (7)	7,85 ± 3,02 (8)	0,665
1500 Hz	7,5 ± 2,65 (6,5)	8,71 ± 2,87 (8)	0,440
2000 Hz	7,11 ± 2,67 (7)	9 ± 4,52 (8)	0,043
3000 Hz	15,38 ± 7,11 (15)	15,14 ± 10,05 (11,5)	0,834
4000 Hz	19,5 ± 13,49 (23)	32 ± 7,83 (35)	0,091
6000 Hz	26,71 ± 14,47 (27,5)	21,79 ± 16,55 (16,5)	0,470
8000 Hz	36,42 ± 17,13 (45)	31,64 ± 21,22 (45)	0,345

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Wilcoxon testi



Şekil 9: Glutayon Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Sisplatin grubunun 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından tüm frekanslarda (1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$). Sekizinci günde yapılan DPOAE testlerinde işitme değerleri 0. güne göre tüm frekanslarda daha düşük saptandı (Tablo-3) (Şekil 10).

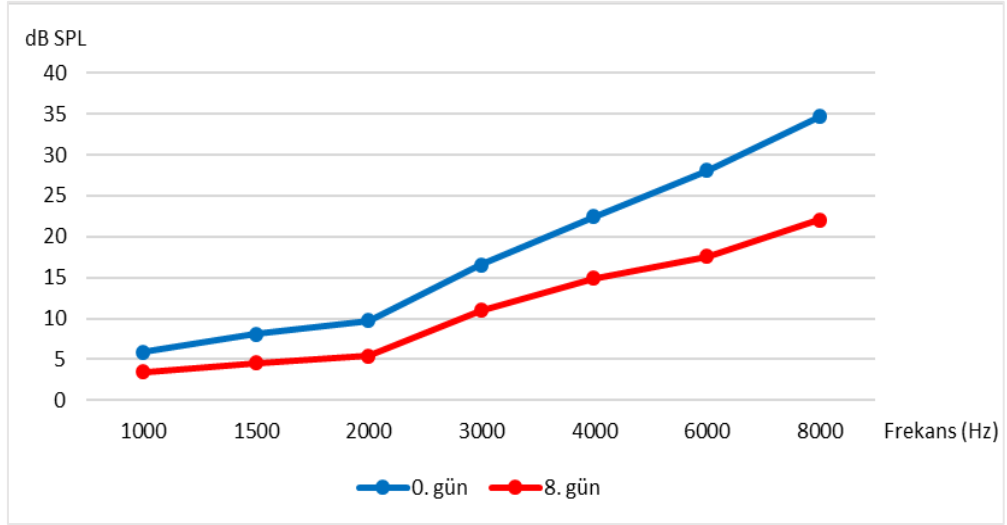
Tablo 3: Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Frekans/ Zaman	0. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	8. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	p
1000 Hz	5,91 ± 2,26 (6)	3,45 ± 0,69 (3)	0,007
1500 Hz	8,08 ± 3,88 (8)	4,54 ± 1,33 (5)	0,002
2000 Hz	9,77 ± 4,23 (10)	5,43 ± 1,7 (6)	0,005
3000 Hz	16,54 ± 10,51 (16)	11 ± 6,23 (9,5)	0,021
4000 Hz	22,45 ± 11,82 (28)	14,93 ± 7,12 (13)	0,032
6000 Hz	28,07 ± 15,39 (34,5)	17,57 ± 8,82 (15)	0,009
8000 Hz	34,69 ± 16,52 (43)	22,07 ± 8,57 (21)	0,01

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Wilcoxon testi



Şekil 10: Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Sisplatin+Glutasyon grubunun 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme değerleri 0. güne göre tüm frekanslarda daha düşük saptandı. 0. ve 8. Günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından sadece 1000 Hz ve 8000 Hz deki düşüşte istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,006$). Diğer frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo-4) (Şekil 11).

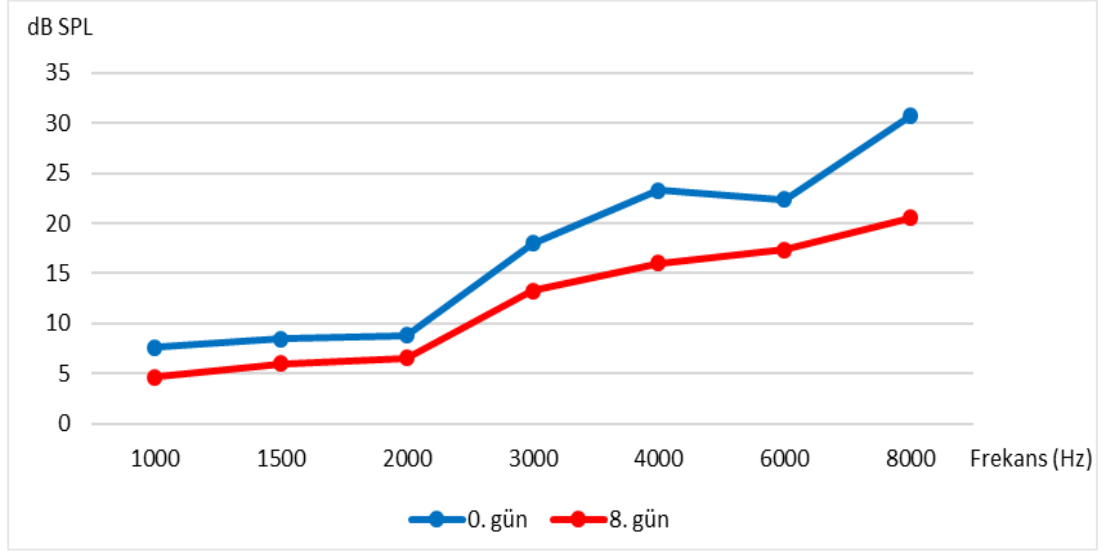
Tablo 4: Glutasyon+ Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Frekans/ Zaman	0. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	8. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	p
1000 Hz	7,64 ± 3,13 (7)	4,67 ± 1,83 (4)	0,007
1500 Hz	8,45 ± 4,28 (8)	6 ± 3,7 (5)	0,147
2000 Hz	8,82 ± 5,44 (6)	6,58 ± 3,85 (5)	0,439
3000 Hz	18 ± 10,77 (16)	13,25 ± 7,64 (11,5)	0,286
4000 Hz	23,25 ± 12,61 (26)	16 ± 10,27 (18)	0,446
6000 Hz	22,36 ± 15,81 (14)	17,36 ± 13,53 (10,5)	0,068
8000 Hz	30,67 ± 16,7 (33)	20,54 ± 14,97 (26)	0,006

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Wilcoxon testi



Şekil 11: Glutasyon + Sisplatin Grubu DPOAE Sonuçları (dB SPL)

Çalışmamızdaki tüm grupların 0. Gün ve 8. Gün arasındaki değişimlerini kıyasladık (Tablo-5).

Tablo 5: Tüm Grupların Tüm Frekanslardaki 0. Gün ve 8. Gün Ortalama DPOAE değerleri (dB SPL)

Gruplar/ Gün	0. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	8. Gün Ortalama± SS (dB SPL)	p
1000 Hz			
Kontrol	7,57 ± 4,47 (6,5)	9 ± 4,53 (9)	0,419
Glutasyon	7,54 ± 2,57 (7)	7,85 ± 3,02 (8)	0,665
Sisplatin	5,91 ± 2,26 (6)	3,45 ± 0,69 (3)	0,007
Glutasyon+Sisplatin	7,64 ± 3,13 (7)	4,67 ± 1,83 (4)	0,007
1500 Hz			
Kontrol	9,85 ± 4,83 (11)	7,21 ± 4,15 (6)	0,130
Glutasyon	7,5 ± 2,65 (6,5)	8,71 ± 2,87 (8)	0,440
Sisplatin	8,08 ± 3,88 (8)	4,54 ± 1,33 (5)	0,002
Glutasyon+Sisplatin	8,45 ± 4,28 (8)	6 ± 3,7 (5)	0,147
2000 Hz			
Kontrol	9 ± 6,34 (6,5)	7,93 ± 5,2 (8)	0,609
Glutasyon	7,11 ± 2,67 (7)	9 ± 4,52 (8)	0,043
Sisplatin	9,77 ± 4,23 (10)	5,43 ± 1,7 (6)	0,005
Glutasyon+Sisplatin	8,82 ± 5,44 (6)	6,58 ± 3,85 (5)	0,439
3000 Hz			
Kontrol	16,93 ± 12,05 (17)	15,71 ± 8,22 (17)	0,504
Glutasyon	15,38 ± 7,11 (15)	15,14 ± 10,05 (11,5)	0,834
Sisplatin	16,54 ± 10,51 (16)	11 ± 6,23 (9,5)	0,021
Glutasyon+Sisplatin	18 ± 10,77 (16)	13,25 ± 7,64 (11,5)	0,286
4000 Hz			
Kontrol	20,43 ± 12,88 (26)	19,62 ± 13,86 (28)	0,082
Glutasyon	19,5 ± 13,49 (23)	32 ± 7,83 (35)	0,091
Sisplatin	22,45 ± 11,82 (28)	14,93 ± 7,12 (13)	0,032
Glutasyon+Sisplatin	23,25 ± 12,61 (26)	16 ± 10,27 (18)	0,446
6000 Hz			
Kontrol	25,07 ± 13,58 (28,5)	27,5 ± 15,53 (33)	0,157
Glutasyon	26,71 ± 14,47 (27,5)	21,79 ± 16,55 (16,5)	0,470
Sisplatin	28,07 ± 15,39 (34,5)	17,57 ± 8,82 (15)	0,009
Glutasyon+Sisplatin	22,36 ± 15,81 (14)	17,36 ± 13,53 (10,5)	0,068
8000 Hz			
Kontrol	32,14 ± 17,82 (38,5)	30,71 ± 18,32 (41,5)	0,149
Glutasyon	36,42 ± 17,13 (45)	31,64 ± 21,22 (45)	0,345
Sisplatin	34,69 ± 16,52 (43)	22,07 ± 8,57 (21)	0,01
Glutasyon+Sisplatin	30,67 ± 16,7 (33)	20,54 ± 14,97 (26)	0,006

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Wilcoxon testi

Çalışma öncesi ve sonrası 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz’deki DPOAE test sonuçları gruplar arasında karşılaştırıldı.

0.günde yapılan DPOAE testlerinde gruplar arasında hiçbir frekansta işitme açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Tablo-6) (Şekil 12).

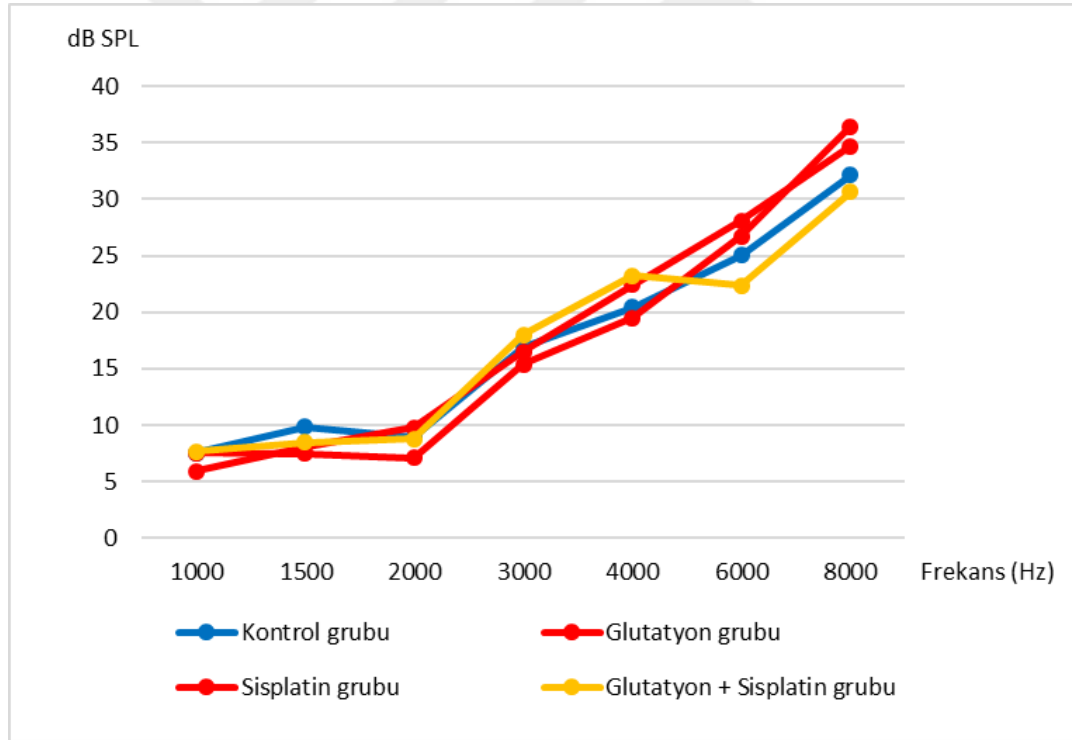
Tablo 6: 0. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL)

Frekans/Gruplar	Kontrol Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Glutasyon Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Sisplatin Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Glutasyon+ Sisplatin Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	P
1000 Hz	7,57 ± 4,47 (6,5)	7,54 ± 2,57 (7)	5,91 ± 2,26 (6)	7,64 ± 3,13 (7)	0,478
1500 Hz	9,85 ± 4,83 (11)	7,5 ± 2,65 (6,5)	8,08 ± 3,88 (8)	8,45 ± 4,28 (8)	0,533
2000 Hz	9 ± 6,34 (6,5)	7,11 ± 2,67 (7)	9,77 ± 4,23 (10)	8,82 ± 5,44 (6)	0,773
3000 Hz	16,93 ± 12,05 (17)	15,38 ± 7,11 (15)	16,54 ± 10,51 (16)	18 ± 10,77 (16)	0,948
4000 Hz	20,43 ± 12,88 (26)	19,5 ± 13,49 (23)	22,45 ± 11,82 (28)	23,25 ± 12,61 (26)	0,841
6000 Hz	25,07 ± 13,58 (28,5)	26,71 ± 14,47 (27,5)	28,07 ± 15,39 (34,5)	22,36 ± 15,81 (14)	0,689
8000 Hz	32,14 ± 17,82 (38,5)	36,42 ± 17,13 (45)	34,69 ± 16,52 (43)	30,67 ± 16,7 (33)	0,877

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Kruskal-Wallis testi



Şekil 12: 0. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL)

8. günde DPOAE testlerinde gruplar arasında 1000 Hz, 1500 Hz ve 4000 Hz’de istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (sırasıyla $p < 0,001$, $p = 0,006$ ve $p = 0,008$). Farklılığın hangi iki grup arasında oluştuğunu anlamak için yapılan post-hoc analizler

sonucunda 1000 Hz’de Sisplatin grubu ile Glutasyon grubu ve Kontrol grubu arasında; Glutasyon + Sisplatin grubu ile Glutasyon ve Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). 1500 Hz’de sisplatin grubu ile glutasyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). 4000 Hz’de Glutasyon grubu ile sisplatin grubu ve Sisplatin + Glutasyon grubu arasında işitme açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,016$) (Tablo-7) (Şekil 13).

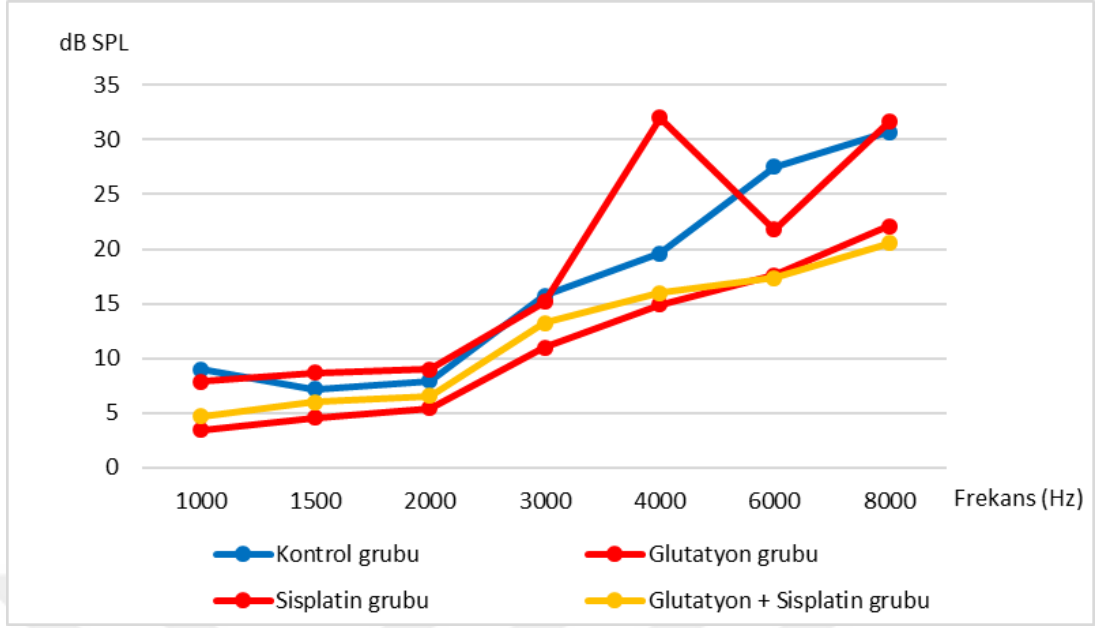
Tablo 7: 8. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL)

Frekans/ Gruplar	Kontrol Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Glutasyon Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Sisplatin Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Glutasyon+ Sisplatin Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	P
1000 Hz	9±4,53 (9)	7,85±3,02 (8)	3,45±0,69 (3)	4,67±1,83 (4)	<0,001
1500 Hz	7,21±4,15 (6)	8,71±2,87 (8)	4,54±1,33 (5)	6±3,7 (5)	0,006
2000 Hz	7,93±5,2 (8)	9 ±4,52 (8)	5,43±1,7 (6)	6,58±3,85 (5)	0,216
3000 Hz	15,71±8,22 (17)	15,14±10,05 (11,5)	11±6,23 (9,5)	13,25±7,64 (11,5)	0,543
4000 Hz	19,62±13,86 (28)	32±7,83 (35)	14,93±7,12 (13)	16±10,27 (18)	0,008
6000 Hz	27,5±15,53 (33)	21,79±16,55 (16,5)	17,57±8,82 (15)	17,36±13,53 (10,5)	0,202
8000 Hz	30,71±18,32 (41,5)	31,64±21,22 (45)	22,07±8,57 (21)	20,54±14,97 (26)	0,151

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Kruskal-Wallis testi



Şekil 13: 8. Günde Gruplar Arası DPOAE Sonuçları Karşılaştırılması (dB SPL)

0.günde ve 8. günde ölçülen her frekanstaki DPOAE değerlerinin ortalaması gruplar içinde karşılaştırıldı. Sisplatin grubunda ve Glutasyon+Sisplatin grubunda 0. günde ve 8. günde ölçülen DPOAE sonuçları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş vardı (sırasıyla $p=0,013$ ve $p=0,004$) (Tablo- 8) (Şekil 14).

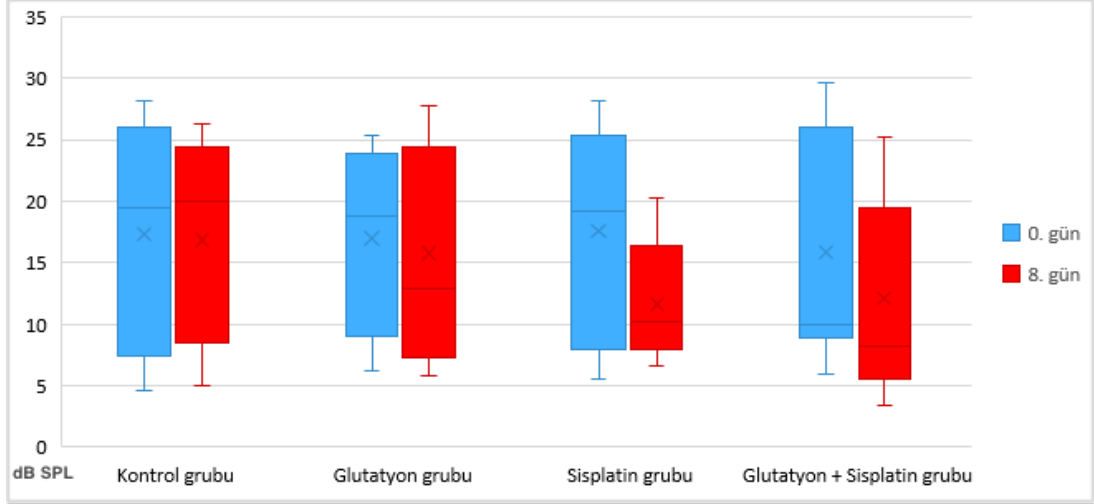
Tablo 8: DPOAE SNR Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması (dB SPL)

Gruplar/ Zaman	0.gün Ortalama± SS (dB SPL)	8.gün Ortalama± SS (dB SPL)	P*
Kontrol Grubu	17,29 ± 9,04 (19,43)	16,84 ± 8,08 (19,93)	0,551
Glutasyon Grubu	16,97 ± 7,53 (18,77)	15,76 ± 8,91 (12,92)	0,638
Sisplatin Grubu	17,58 ± 8,46 (19,21)	11,65 ± 4,42 (10,27)	0,013
Glutasyon + Sisplatin Grubu	15,84 ± 8,85 (10)	12,1± 7,72 (8,29)	0,004

SS: Standart Sapma

Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Wilcoxon testi



Şekil 14: DPOAE Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması (dB SPL)

Her frekansta ölçülen DPOAE sonuçlarının ortalamaları hesaplanarak gruplar arasında karşılaştırıldı. Buna göre hem 0. günde hem de 8. günde ortalama DPOAE değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo-9).

Tablo 9: DPOAE Ortalama Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması (dB SPL)

Zaman/Gruplar	Kontrol Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Glutasyon Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Sisplatin Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	Glutasyon + Sisplatin Grubu Ortalama± SS (dB SPL)	p*
0.gün	17,29 ± 9,04 (19,43)	16,97 ± 7,53 (18,77)	17,58 ± 8,46 (19,21)	15,84 ± 8,85 (10)	0,990
8.gün	16,84 ± 8,08 (19,93)	15,76 ± 8,91 (12,92)	11,65 ± 4,42 (10,27)	12,1 ± 7,72 (8,29)	0,188

SS: Standart Sapma

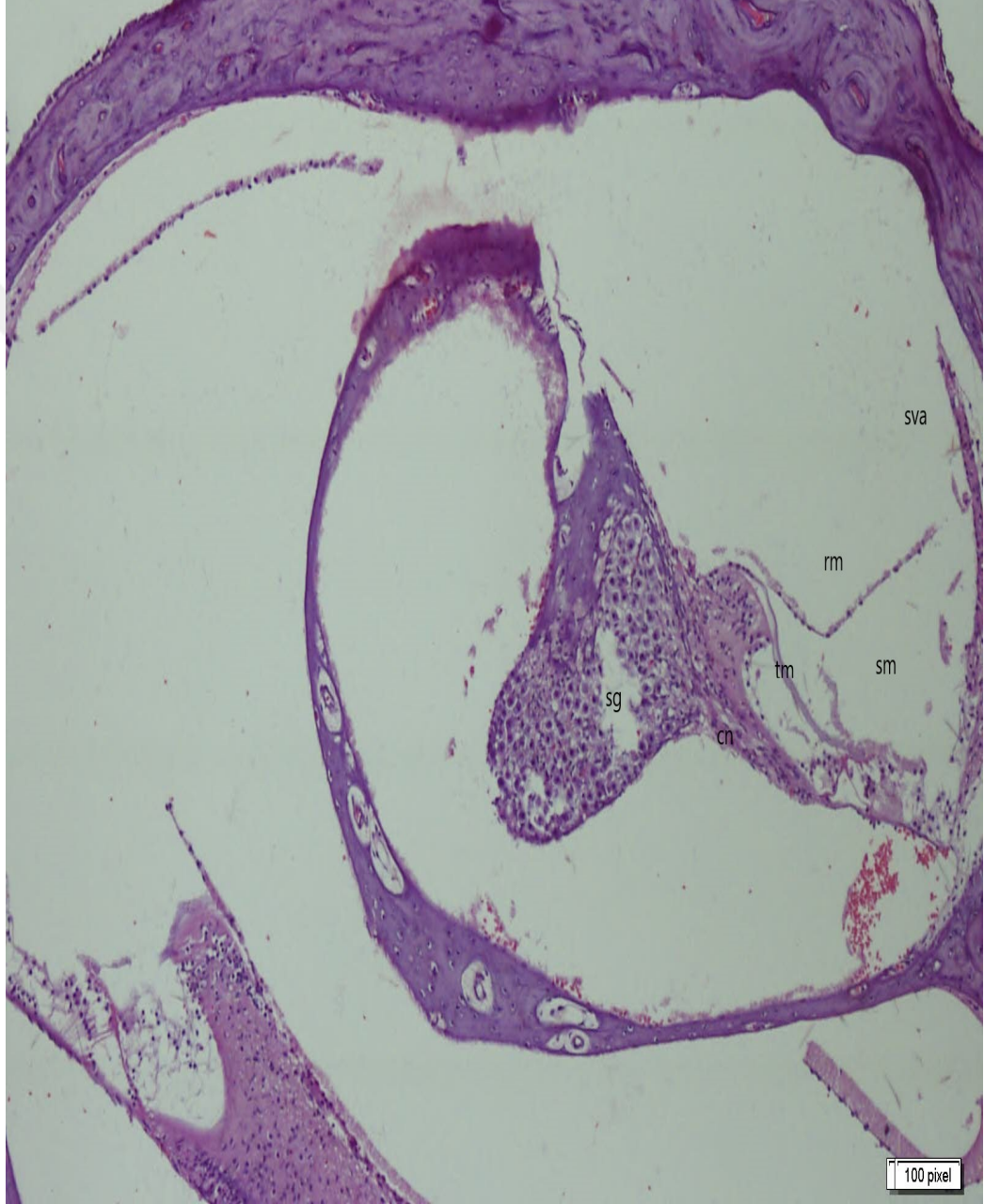
Sayısal değerler ortalama ± standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

*Kruskal-Wallis testi

4.2. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

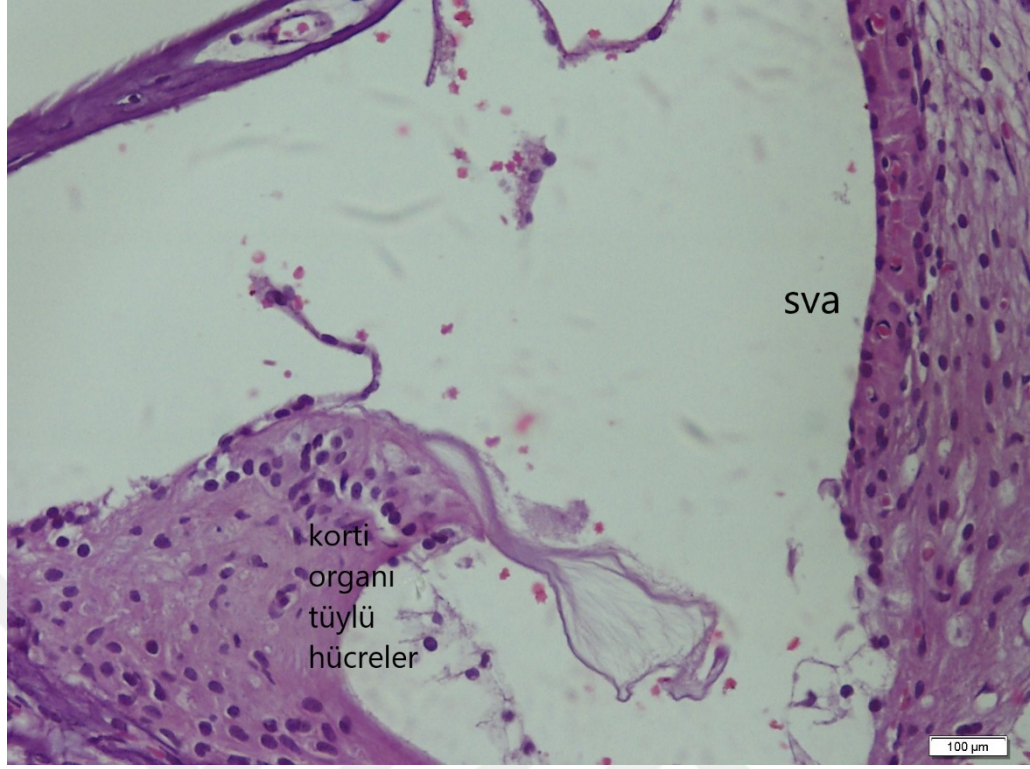
Çalışmamızda tüm gruplarda koklear doku örnekleri ışık mikroskopisi ile incelendi. Kontrol Grubu'nun doku örneklerinin normal morfolojide olduğu izlendi. Korti Organı'nın bütünlüğünde bozulma olmadığı DTH yapılarının normal morfolojik yapıda olduğu izlendi. Reissner Membranı ve Tektoryal Membran yapısının normal

olduğu görüldü. Stria Vasklaris ve Spiral Ligament diziliminde anormallik izlenmedi. Ayrıca hücre çekirdeklerinin ve sitoplazmik yapılarının korunduğu izlendi. Spiral Ganglion incelendiğinde ise nöronların normal yapıda olduğu dolayısı ile sinir dejenerasyonuna uğramadığı gözlemlendi (Şekil 15), (Şekil 16).



Şekil 15: Kontrol Grubu Normal Morfolojide Koklear Yapılar (H&E, 100x)

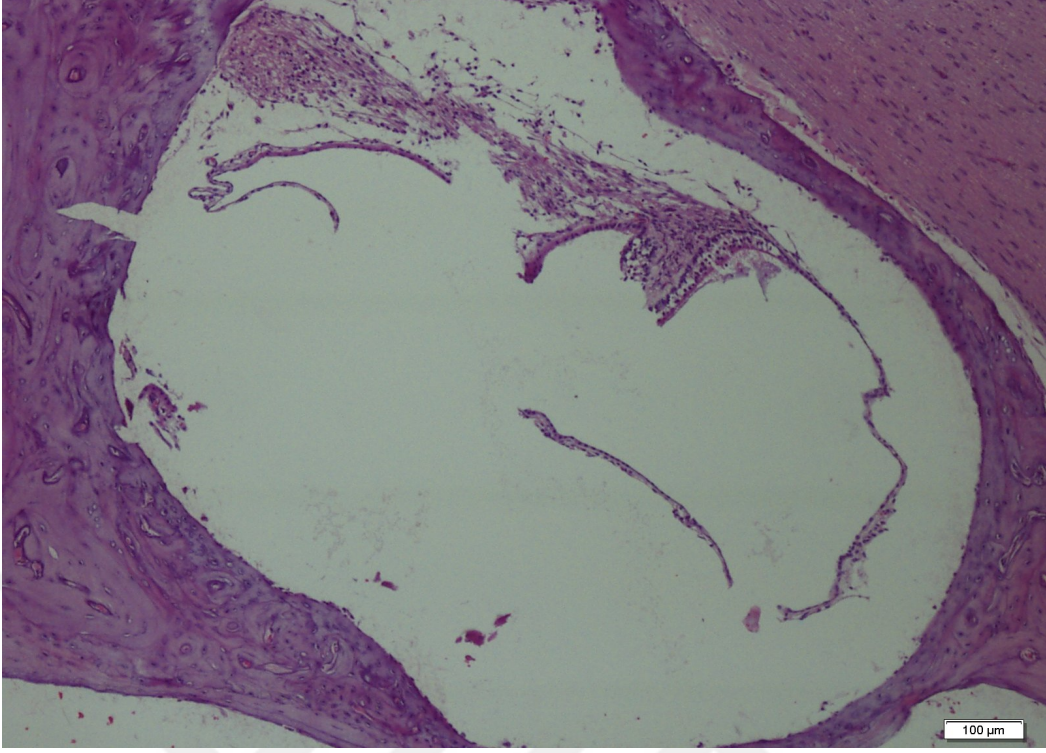
*SVA: Stria Vasklaris, RM: Reissner Membranı, SM: Skala Media, TM: Tektoryal Membran, SG: Spiral Gangliyon, CN: Koklear Sinir.



Şekil 16: Normal Morfolojide Korti Organı ve Stria Vaskularis Görünümü (H&E, 100x)

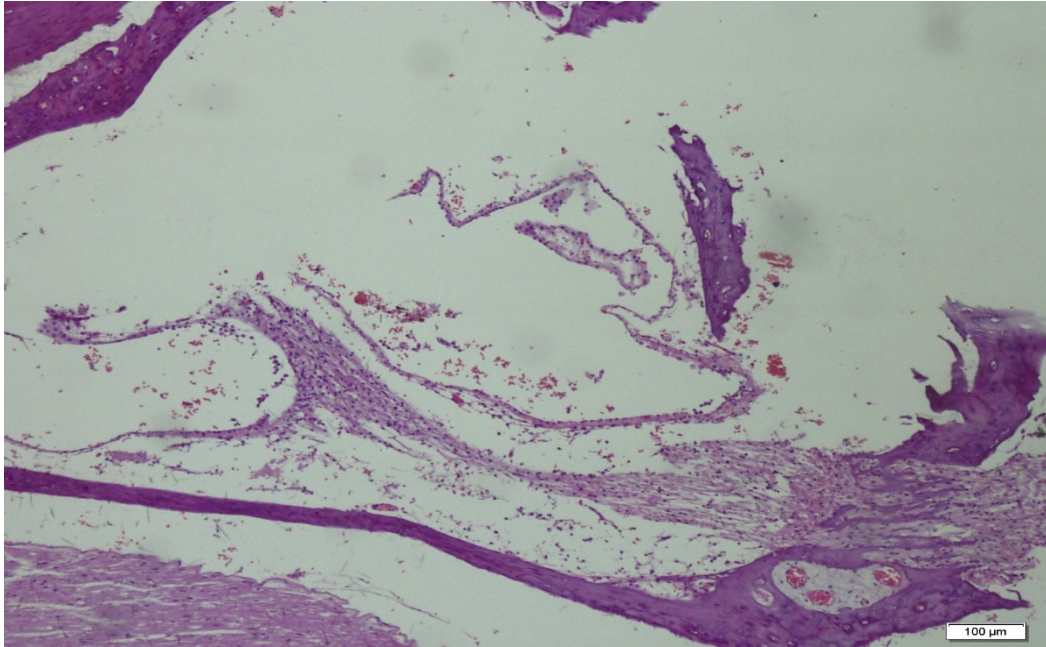
*SVA: Stria Vaskularis.

Sisplatin grubunda ışık mikroskopisi ile incelendiğinde, kontrol grubundan farklı olarak doku bütünlüğünde tamamen bozulmalar, sitoplazmik vaküolizasyonda artış ve ileri düzeyde hücre dejenerasyonuna ait bulgular izlendi. Korti Organı'nda DTH ve diğer hücrelerde dejenerasyon izlendi. Stria Vaskularis ve spiral ligamentte yine kontrol grubuna kıyasla nükleer kayıp ve dilatasyon mevcuttu (Şekil 17), (Şekil 18).



Şekil 17: Sisplatin Grubu Koklea Görüntüsü (H&E, 100x).

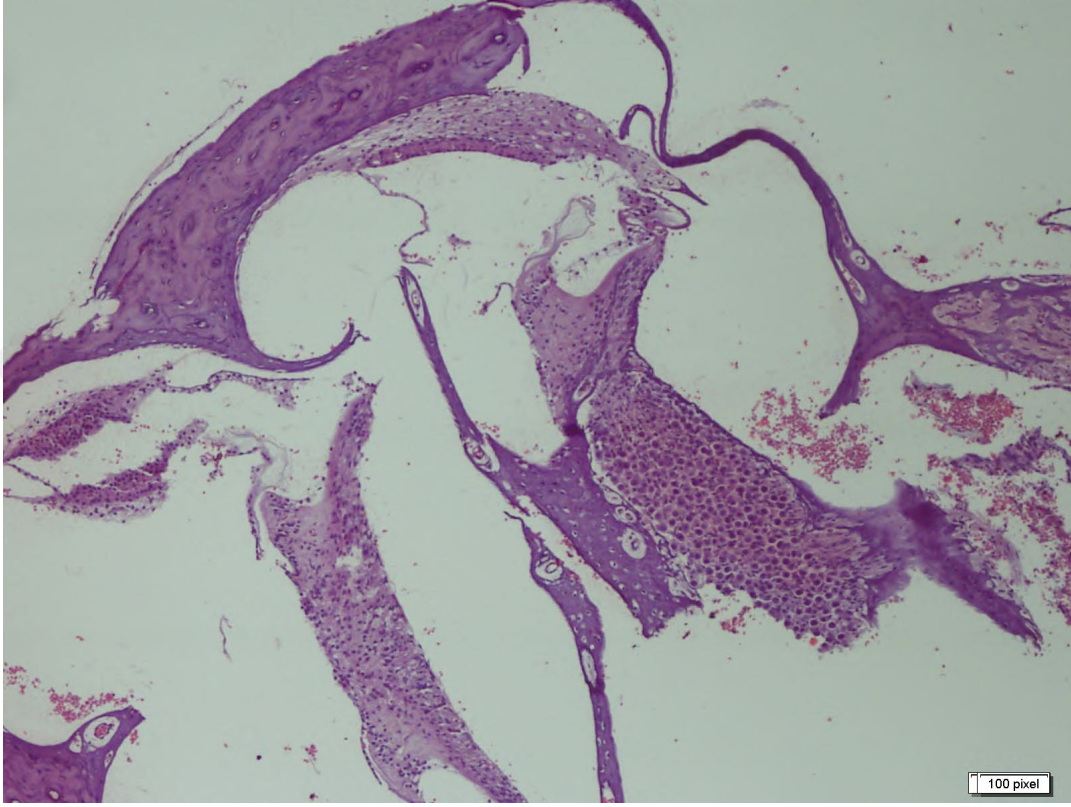
*Doku bütünlüğü tamamen bozulmuş halde izlenmektedir



Şekil 18: Sisplatin Grubu Koklea Görüntüsü (H&E, 100x)

*Doku bütünlüğü tamamen bozulmuş halde, nükleer kayıp, hücre dejenerasyonları ve dilatasyon izlenmektedir.

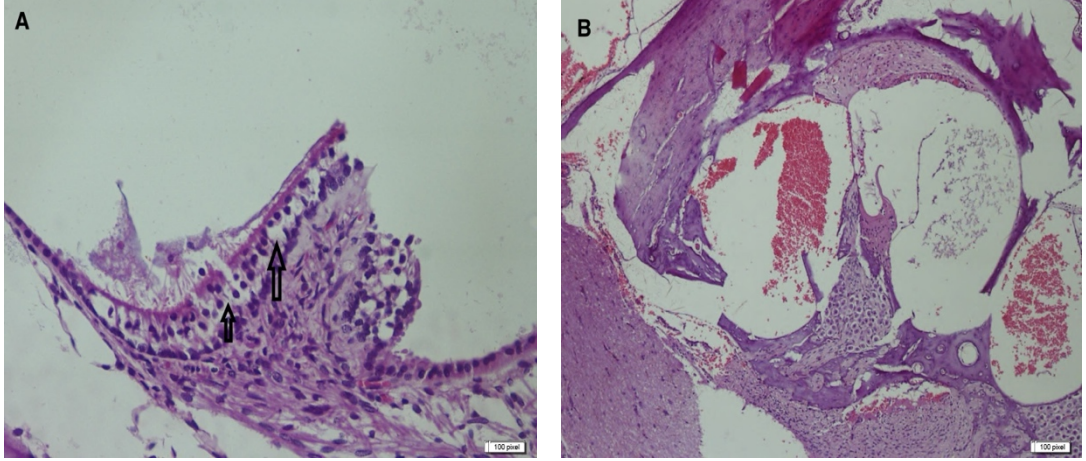
Glutasyon grubunda kontrol grubu ile benzer görünümde normal histopatolojik bulgular izlendi. Korti organı, stria vaskularis ve spiral gangliyon morfolojisi normal izlendi. Diğer koklear yapılarda hücre dejenerasyonu izlenmedi (Şekil 19).



Şekil 19: Glutasyon Grubu Normal Morfolojide Koklea Görünümü (H&E, 100x).

Sisplatin+Glutasyon grubunda koklear doku örneklerinin genel morfolojisinin normal görünümde olmadığı izlendi. Koklear yapılardaki hücresel değişikliklerin sisplatin grubu ile arasında minimal farklılık gözlemlendi. Korti organı ve spiral ganglion hücrelerinde dejenerasyon izlendi. Korti organında dış tüylü hücrelerde nükleer kayıp ve yer yer sitoplazmik vaküolizasyon mevcuttu.

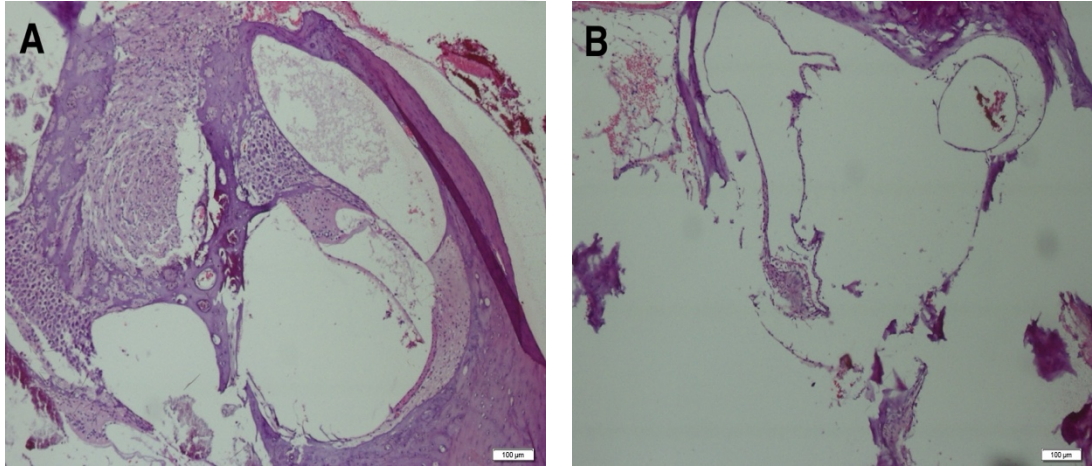
Işık mikroskopisi ile yapılan incelemelerimizde kokleada sitoplazmik vaküolizasyon ve sitoplazmik dejenerasyon görüntüleri izlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 20: Sitoplazmik Vaküolizasyon ve Dejenerasyon

A: Sitoplazmik Vaküolizasyon, B: Sitoplazmik Dejenerasyon (H&E, 100x).

Işık mikroskopisi ile yapılan incelemelerimizde kokleada sinir dejenerasyonu ve dilatasyon görüntüleri izlenmiştir (Şekil 21).



Şekil 21: Sinir Dejenerasyonu, Hücre Kayıpları ve Dilatasyonlar (H&E,

100x).

*A: Sinir Dejenerasyonu, B: Hücre Kayıpları, Dejenerasyon ve Dilatasyonlar

Bu bulgular ışığında histopatolojik derecelendirme her bir sıçan için; 0 = normal, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = orta-ileri, 4 = ileri düzeyde dejenerasyon olacak şekilde yapıldı. (Tablo-10):

Tablo 10: Grupların Histopatolojik Parametrelerinin Derecelendirilmesi

Histopatoloji/ Grup	Kontrol Grubu	GSH Grubu	Sisplatin Grubu	Sisplatin+ GSH Grubu
Sitoplazmik Vaküolizasyon	0,0,0,0,1,0,0	0,0,1,1,1,0,0	0,1,1,2,2,2,0	0,0,1,1,2,1,1
Hücre Dejenerasyonu	0,0,0,0,0,0,0	0,0,0,1,0,0,0	0,1,1,2,3,2,0	0,0,0,1,2,1,1
Dilatasyon	0,0,1,0,0,1,0	0,0,1,1,1,0,0	0,1,1,2,3,3,0	0,0,0,1,2,1,1
Apoptoz	0,0,0,0,0,0,0	0,1,1,1,0,0,0	0,1,1,0,2,2,0	0,0,0,1,0,1,1
Sinir Dejenerasyonu	0,0,0,0,0,0,0	0,1,0,0,1,0,0	0,1,1,3,1,2,0	0,0,0,1,1,0,0

*Derecelendirme her bir sıçan için; 0 = normal, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = orta-ileri, 4 = ileri düzeyde dejenerasyon olacak şekilde yapıldı.

*Derecelendirme puanları o gruptaki sıçanlara sırayla verildi.

Grupların sitoplazma vaküolizasyonu, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apoptozis ve sinir dejenerasyonu dereceleri, skorların ortalamaları alınarak karşılaştırılmıştır.

Buna göre gruplar arasında hücre dejenerasyonu ve sinir dejenerasyonu ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0,013$ ve $p=0,03$) (Tablo-10).

Farklılığın hangi iki grup arasında oluştuğunu anlamak için yapılan post-hoc analiz sonucunda hem hücre dejenerasyonu hem de sinir dejenerasyonu ortalamaları bakımından kontrol grubu ile sisplatin grubu arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,024$ ve $p=0,02$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo- 10).

Sisplatin grubu ile Glutasyon + Sisplatin grubu karşılaştırıldığında bakılan tüm histopatolojik parametrelerin ortalamalarında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (Tablo- 11).

Tablo 11: Grupların Histopatolojik Parametrelerinin Karşılaştırılması

Histopatoloji/ Grup	Kontrol Grubu Ortalama± SS	Glutasyon Grubu Ortalama± SS	Sisplatin Grubu Ortalama± SS	Glutasyon + Sisplatin Grubu Ortalama± SS	p¹
Sitoplazmik Vaküolizasyon	0,14 ± 0,4 (0)	0,43 ± 0,5 (0)	1,14 ± 0,9 (1)	0,86 ± 0,7 (1)	0,061
Hücre Dejenerasyonu	0 ± 0 (0)	0,14 ± 0,4 (0)	1,29 ± 1,1 (1)	0,71 ± 0,8 (1)	0,013
Dilatasyon	0,29 ± 0,5 (0)	0,43 ± 0,5 (0)	1,43 ± 1,3 (1)	0,71 ± 0,8 (1)	0,183
Apoptotik Hücreler	0 ± 0 (0)	0,43 ± 0,5 (0)	0,86 ± 0,9 (1)	0,43 ± 0,5 (0)	0,117
Sinir Dejenerasyonu	0 ± 0 (0)	0,29 ± 0,5 (0)	1,14 ± 1,1 (1)	0,29 ± 0,5 (0)	0,03

Veriler ortalama + standart sapma (ortanca) olarak sunulmuştur.

¹Kruskal Wallis testi

*Derecelendirme her bir sıçan için; 0 = normal, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = orta-ileri, 4 = ileri düzeyde dejenerasyon olacak şekilde yapıldı.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda GSH' nin sisplatin ile oluşturulmuş ototoksisite modelindeki koruyucu etkisi elektrofizyolojik ölçümlerle gösterilmiş ancak histopatolojik olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Sisplatin grubunun 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından tüm frekanslarda (1000 Hz, 1500 Hz, 2000 Hz, 3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, 8000 Hz) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Sisplatin+Glutasyon grubunun 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından 1000 Hz ve 8000 Hz' de istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 0. Günde ve 8. Günde ölçülen her frekanstaki DPOAE değerlerinin ortalaması gruplar içinde karşılaştırıldı. Sisplatin grubunda ve Glutasyon+Sisplatin grubunda 0. günde ve 8. günde ölçülen DPOAE sonuçları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı (sırasıyla $p=0,013$ ve $p=0,004$). Grupların sitoplazma vaküolizasyonu, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apoptozis ve sinir dejenerasyonu dereceleri karşılaştırılmıştır. Buna göre gruplar arasında hücre dejenerasyonu ve sinir dejenerasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0,013$ ve $p=0,03$) (Tablo 9). Farklılığın hangi iki grup arasında oluştuğunu anlamak için yapılan post-hoc analiz sonucunda hem hücre dejenerasyonu hem de sinir dejenerasyonu bakımından kontrol grubu ile sisplatin grubu arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir. Diğer gruplar arasında histopatolojik olarak hiçbir parametrede anlamlı farklılık izlenmemiştir.

Sisplatin, yumurtalık, testis ve baş-boyun bölgesi tümörleri gibi çeşitli kanser türlerinde antikanser etkisi göstermesi nedeniyle yaygın kullanım alanına sahiptir. 1960larda sitotoksik özellikleri keşfedilen bu ilaç, 1970lerin sonuna gelindiğinde germ hücreli kanserlerin sistemik tedavisinde kilit bir bileşen olarak kabul edilmiştir. 1978 yılında FDA tarafından onaylanan ilk platin bazlı bileşiktir. Sisplatin, ayrıca yumuşak doku, kemik, kas ve kan damarlarını etkileyen sarkomlar gibi farklı kanser türlerinde de klinik olarak etkinlik göstermiştir (43). Sisplatin, tümör hücrelerinde DNA hasarı ve reaktif oksijen türlerinin üretimi gibi mekanizmalarla etkili olur ve bu süreçler apoptoz yoluyla hücre ölümüne yol açar. Ayrıca, hücre yüksek konsantrasyonlarda sisplatine maruz kaldığında nekroz yoluyla da hücre ölümü meydana gelebilir (44). Sisplatin kaynaklı ototoksisite sırasında, antioksidan savunma

sisteminin bozulması ve antioksidanların tükenmesi sonucu ROS oluşur. ROS reaktif azot türleri ve serbest radikallerin birikimi nedeniyle çeşitli dokularda, özellikle iç kulak yapılarında, fonksiyonel hasara neden olur (45).

Sisplatin uygulaması yapılan onkolojik hastalarda ototoksisiteden korunmak için koruyucu ajan olarak tiyosülfat uygulanmaktadır. Ancak tiyosülfat yeterli koruyuculuk sağlamayabilir. Zuur ve ark. tarafından lokal ileri evre baş ve boyun kanserine sahip 146 hastada, yüksek doz intra-arteriyel sisplatin (150 mg/m², dört kür boyunca), tiyosülfat ile kurtarma tedavisi ve eşzamanlı radyoterapi 70 Gray dozunda uygulanmış ve tedavi sonrasında kulakların %23'ünde işitme cihazı kullanımını gerektirecek düzeyde işitme kaybı tespit edilmiştir. Sisplatin ve radyasyonun kümülatif dozu, tedavi sırasında ve sonrasında artan sensörinöral işitme kaybı ile ilişkili bulunmuştur (46).

Otoakustik Emisyon testleri, dış tüylü hücrelerin fizyolojik durumu ile ilişkili olduğu için ototoksik hasarın tespit edilmesinde kullanılan objektif bir yöntemdir. Uyarılmış otoakustik emisyonlar, kokleadaki dış tüylü hücrelerin elektromotilite mekanizması sayesinde üretilir. DPOAE ise kokleanın işlevsel durumunu hızlı ve objektif bir şekilde değerlendirir ve ilaçların ototoksik etkilerini izlemek için ideal bir araçtır (47). Shetty ve ark. (47) tarafından DPOAE' nin ototoksisitenin erken dönemde tespitinde etkili olduğu ve saf ses odyometri ile kıyaslandığında herhangi bir davranışsal yanıtı ihtiyaç duymadığı gösterilmiştir. Özturan ve ark. (48) sisplatin tedavisi alan prostat kanserli hastalarda, yüksek frekansta, DPOAE' nin ototoksisiteyi saf ses odyometriye göre daha erken tespit ettiğini belirtmişlerdir. Gündoğdu ve ark. (49) sıçanlar üzerinde sisplatin ile indüklenmiş ototoksisite modelinde Quercetin' in koruyucu etkisini değerlendirmiş ve DPOAE ile yüksek frekansta ve erken dönemde işitmede kaybı tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da hem erken dönemde ototoksisiteyi tespit etmesi ve koklear hasarı göstermede daha etkili olması nedeniyle DPOAE ölçümü tercih edilmiştir.

Bokemeyer ve ark. tarafından yapılan çalışmada yüksek dozlarda sisplatin kullanımını (100 mg/m² nin üzerinde) durumunda, işitme kaybının orta frekansları da etkileyebilecek şekilde ilerleyebileceğini belirtmiştir. Sisplatine bağlı ototoksisitenin doz ile ilişkili olduğu, testis kanseri tedavisinde sisplatin alan hastaların %20'sinin kalıcı işitme kaybı yaşadığı, ancak toplamda 400 mg/m²'den fazla sisplatin dozu alan

hastalarda bu oranın %50'nin üzerine çıktığı rapor edilmiştir(36). İşitme kaybına ilişkin ilk belirtiler genellikle sisplatin uygulamasından sonraki 3-4 gün içinde oluşur. Araştırmalar, sisplatinin ototoksik etkilerinin hücre düzeyinde 3. günde başladığını ve 7 ila 10 gün içinde en yüksek seviyeye ulaştığını göstermektedir(50). Biz de bu doğrultuda çalışmamızda sisplatin uygulamasından 5 gün sonra (Çalışmanın ise 8. Günü'nde) DPOAE ölçümlerimizi gerçekleştirdik.

Sisplatin ile oluşan ototoksisite modelinde literatürdeki çalışmalara bakıldığında farklı dozlarda ve sürelerde sisplatin uygulaması dikkati çekmektedir. Naples ve ark. (51) tek doz 14 mg/kg, Araujo ve ark. (52) 4. Günde tek doz 10mg/kg, Gözeler ve ark. (53) tek doz 15mg/kg , Mohan ve ark. (54) 3 gün boyunca 5.5 mg/kg/gün, Eroğlu ve ark. (55) 2 gün boyunca 10 mg/kg/gün, Lee ve ark. (56) 5 gün boyunca 5 mg/kg/gün dozunda uygulamışlardır. Tüm çalışmalarda sisplatin veriliş şekli olarak intraperitoneal yol tercih edilmiştir. Literatürde, Sisplatin 'in nefrotoksik etkisi 5-10 mg/kg, akut ototoksik etkisi 12-16 mg/kg arasındaki dozlarda izlenmektedir (57). Biz de çalışmamızda literatürdeki örnekleri baz alarak koruyucu etkiyi gözlemlemek açısından 3. Günde tek doz 15 mg/kg sisplatin uyguladık.

Hamers ve ark. tarafından nörotoksisite modelinde GSH'nin koruyucu etkinliği Wistar cinsi sıçanlarda araştırılmıştır. Bu çalışmada sıçanlarda hem yüksek doz hem de düşük doz sisplatin ile nörotoksisite modeli oluşturulmuş ve farklı dozlarda parenteral GSH verilerek üç ayrı deneysel model oluşturulmuştur. Nöropati düzeyinin ölçümü refleks ilişkili elektrofizyolojik incelemeler (SNCV) ile gerçekleştirilmiştir. İlk deney grubuna 20 mg/kg sisplatin 10 hafta boyunca, ikinci deney grubuna 20 mg/kg sisplatin 5 hafta boyunca, üçüncü deney grubuna ise düşük doz (1 mg/kg) sisplatin ile birlikte değişen dozlarda GSH (25, 50, 100 ve 200 mg/kg) uygulanmıştır. Böylelikle koruyucu GSH dozunun tespit edilmesi hedeflenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre GSH'nin sisplatin ile oluşturulmuş nörotoksisiteye karşı hem yüksek doz hem de düşük doz sisplatin uygulamasında etkili olduğu gösterilmiştir. Üçüncü deney grubunda dört farklı dozda GSH uygulaması yapılmış ve sadece 200 mg/kg dozunda sisplatin nöropatisine karşı koruyucu etkili bulunmuştur(42). Bu bilgiler ışığında daha önce ototoksisite modelinde parenteral GSH dozu literatürde bulunmadığından çalışmamızda nörotoksisitede etkili doz olan 200 mg/kg GSH dozunu uyguladık.

Maksimum işitme eşiği değişimlerinin, ikinci sisplatin infüzyonunun ardından 8000 Hz frekansında en belirgin şekilde ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bu değişim, 8000 Hz ve üzerindeki yüksek frekanslarda, işitme kaybının daha ciddi seviyelere ulaştığını göstermiştir (75-80 dB işitme kaybı). Buna karşılık, 8000 Hz' nin altındaki daha düşük frekanslarda işitme kaybı daha hafif düzeylerde seyretmiştir. (45-60 dB işitme kaybı) Bu durum, yüksek frekanslardaki işitme kaybının hem daha şiddetli hem de daha uzun süreli etkiler yarattığını işaret etmektedir (38). Allen ve ark. tarafından yüksek frekanslarda (8 kHz) yapılan ölçümlerde hastaların %90,5'inin anlamlı derecede sensörinöral işitme kaybı yaşadığı gözlenmiştir (58). Bizim çalışmamızda da DPOAE sonuçlarına göre Sisplatin+Glutasyon grubunda 1000Hz ve 8000Hz frekansta 0. Gün ve 8. Gün'deki SNR değerleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,006$). Sisplatin grubunda ise tüm frekanslarda 0. Gün ve 8. Gün'deki SNR değerleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre sisplatinine bağlı oluşan dış tüylü hücre hasarı sisplatin grubunda tüm frekansları tutacak şekilde ilerlemiş ancak glutasyon ile beraber uygulandığında yalnızca yüksek frekans (8000Hz) ve 1000 Hz ile sınırlı kalmıştır.

Sisplatin, hücrede ROS oluşumuna sebep olarak oksidatif dengeyi bozmaktadır. Sisplatin ototoksitesisi ile ilgili literatürde etkinliği araştırılmış birçok antioksidan madde bulunmaktadır. Sakat ve ark. Eugenol' ün sisplatin ototoksitesisi üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Eugenol, karanfilden elde edilen yağ içeriği yüksek bir sıvıdır. Çalışmalarda Eugenol' ün oksidatif mekanizmalar üzerindeki dengeyi koruduğu gösterilmiştir. Çalışmada işitme ölçümleri DPOAE ile gerçekleştirilmiş ve 2000 Hz-10000 Hz arasındaki frekanslar ölçülmüştür. Biyokimyasal olarak GPX, Malondialdehid ve SOD enzimlerinin aktiviteleri ölçülmüştür. Histopatolojik olarak Stria vasküleriste hiperemi, spiral gangliondaki dejenerasyona ve dış tüylü hücrelerde kayıp miktarına bakılmıştır. Çalışmanın sonucunda eugenol güçlü bir antioksidan olarak tanımlanmış ve antioksidan enzimlerin miktarında artış izlenmiştir. Bununla birlikte sisplatin grubundaki tüm sıçanlarda SNR değerlerinde tüm frekanslarda 1. Gün ve 6. Gün arasında düşüş izlenmiş ve sonuçlar anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlar eugenolün koklear hasarı azalttığı şeklinde yorumlanabilir. Sisplatin ve eugenolün birlikte uygulandığı grupta ise DPOAE sonrası anlamlı değişiklik izlenmemiştir. Sonuçta bu çalışmada

antioksidan enzimlerin miktarının artışı ile birlikte oksidan belirteçlerde de azalma olması eugenolün sisplatin ototoksisitesinde koruma sağlayabileceği gösterilmiştir (59). Biz de çalışmamızda GSH' nin benzer antioksidan yolak ile koklear hasarı azaltabileceğini araştırdık. Biz de bu çalışma gibi SNR değerlerinde anlamlı farklılıklar saptadık, ancak histopatolojik olarak koruyucu etkiyi kanıtlayamadık.

Fetoni ve ark. tarafından sisplatin ile indüklenmiş sıçan modelinde alfa Tokoferol ve Tiopronin' in koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada albino cinsi guinea pigler kullanılmış olup aynı zamanda bu iki maddenin renal fonksiyonlara da etkisi değerlendirilmiştir. Tiopronin serbest tiyol grubu (sülfidril) içeren antioksidan bir moleküldür. Daha önce sisplatine bağlı oluşan nefrotoksisitedeki etkinliği gösterilmiştir (60). Temel mekanizması sülfidril grubu aracılığıyla alternatif nükleofilik bağlanma noktası oluşturarak GSH seviyelerini korumaktır. Alfa tokoferol (Vitamin E) ise hücre membranının yapıtaşı olan bir antioksidandır. Bu çalışmada alfa tokoferol ve Tiopronin' in birlikte uygulanmasının kokleanın dış tüylü hücrelerindeki kaybı azalttığı, odyolojik bulgularla desteklenerek sisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca böbrek fonksiyonlarına da koruyucu olduğu belirlenmiştir (61). Bizim çalışmamızda DPOAE' de frekanslara özel anlamlı farklılıklar saptamamıza rağmen bu çalışmanın aksine histopatolojik kanıt ortaya koyulamamıştır.

Doğan ve ark. bir antienflamatuvar molekül olan prostaglandin E analogu Misoprostol' ün sisplatin ototoksisite modelindeki etkinliğini araştırmışlardır. Misoprostol' ün, temel endikasyonu midedeki mukus sekresyonunu arttırarak peptik ülser tedavisinde koruyucu etkiyi sağlamaktır. Bir prostaglandin analogu olduğundan antienflamatuvar yolak üzerinde de etkilidir. Wistar türü 40 sıçanda yapılan çalışmada işitmeyi ve koklear hasarı değerlendirmek amaçlı DPOAE, ABR ve histopatolojik ölçümler kullanılmıştır. Ölçümlerin sonuçlarına göre histopatolojik olarak vaküolizasyon ve stria vaskülaris varlığı gibi parametrelerde Misoprostol ve sisplatin uygulanan grup ile sisplatin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. DPOAE ve ABR sonuçlarına göre de yüksek frekansta işitme değerlerindeki kayıp yine aynı gruplarda anlamlı bulunmuştur. Bu da antienflamatuvar etkinlikli moleküllerin sisplatin üzerinde denenebileceğini göstermektedir (62). Bizim çalışmamızda

DPOAE' de frekanslara özel anlamlı farklılıklar saptamamıza rağmen bu çalışmanın aksine histopatolojik kanıt ortaya koyulamamıştır.

Literatürde sisplatin ile indüklenmiş ototoksisite modellerinde birçok antioksidan maddenin etkinliği ölçülmüştür. Bu amaçla oluşturulan hayvan modellerinde quercetin, n-asetil sistein, hesperetin, curcumin, E vitamini, genistein ve gallic asit gibi antioksidan moleküller araştırılmıştır. Bu moleküllerin sisplatin ototoksisitesinden korunmada etkili olabileceği gösterilmiş ancak daha geniş örnekleme çalışmaya ve insan çalışmalarına ihtiyaç duyulabileceği belirtilmiştir (49, 63–67).

Ravi ve ark. tarafından sisplatin ototoksisitesinin antioksidan yolakla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada sisplatin uygulanan sıçanlarda kokleada oksidan yolaktaki enzimlerin düzeylerine bakılmıştır. Buna göre sisplatin uygulanan sıçanlarda GPX aktivitesinde %70 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Bunun sebepleri olarak sisplatinin bu enzimin sülfidril grubuna bağlanması, reaktif oksijen peroksitlerinin artması, platin grubu ile etkileşime geçen enzimin seviyelerinin azalması ve GSH'nin tükenmesi gösterilmiştir. Bu çalışmada sisplatin uygulaması sonrası kokleada SOD ve Katalaz enzim aktivitelerinde artış izlenmiştir. Bu artışın GPX inhibisyonuna ve GSH tükenmesine bir yanıt olarak geliştiği düşünülmüştür. Kokleadaki oksidan dengenin bozulması ROS artması ile sonuçlanmıştır. ROS artışı ise kokleada lipid peroksidasyonunu arttırmıştır. Sonuç olarak sisplatin ile oluşan koklear hasara, GPX aktivitesinin azalması ve GSH'nin tükenmesi sonucunda oksidan dengenin bozulmasının neden olabileceği belirtilmiştir(57). Bu bilgiler ışığında oksidan mekanizmaların bozulması hücreyi ölüme götürebilen olaylar zincirinden biridir. GSH'nin tükenmesi de bu mekanizmayı bozmaktadır. Sisplatin' in GSH' yi tüketebileceği fikrinden yola çıkarak çalışmamızda İP GSH uygulaması ile ototoksisiteden koruyucu etkisini ölçmek istedik. DPOAE ölçümlerinde bazı frekanslarda anlamlı sonuçlar elde etsek de histopatolojik olarak koruyucu etkiyi kanıtlayamadık. Beklenen etkinin oluşmamasının uygulama yolu veya GSH dozu ile ilişkili olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca histopatolojik değişikliklerin daha uzun dönemde oluşabileceği de çalışmanın süresinin uzun tutulması gerektiğini akıllara getirmektedir.

Literatürde GSH' nin ototoksisitedeki etkisi ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Garetz ve ark. tarafından yapılan çalışmada gentamisin ile oluşturulmuş ototoksisite modelinde oral glutatyonun etkisi incelenmiştir. Erişkin guinea pigler üzerinde 2 hafta boyunca glutatyon, oral gavaj ile verilmiş, model ise gentamisin İP uygulanarak oluşturulmuştur. Çalışmanın sonucunda yalnızca gentamisin verilen grupta ABR ölçümlerinde işitme eşikleri 2000 Hz'de 30 dB, 18000 Hz'de 80 dB' ye kadar ölçülmüş ancak gentamisinle birlikte glutatyon gavajı yapılan grupta 2 000 Hz'de 20 dB 18000 Hz'de 40 dB 'e kadar düşmüştür. Bu çalışmada histopatolojik olarak da GSH ile birlikte gentamicin verilen grupta daha az koklear hasar gözlemlenmiştir. GSH'nin Gentamicin seviyesini de azaltmadığı serum düzeyine bakılarak ispatlanmıştır (6). Bizim çalışmamızda da DPOAE' de frekanslara özel anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Ancak koruyucu etkiye dair histopatolojik kanıt ortaya koyulamamıştır.

Koo ve ark. tarafından sisplatin ototoksisitesi modelinde lipoik asit ve glutatyonun karşılaştırmalı etkisi araştırılmıştır. Lipoik asit alfa lipoik asit olarak da bilinir ve tüm hücrelerde bulunur. Aerobik metabolizmayı düzenleyen bir antioksidan moleküldür. Bu çalışmada kokleadaki HEI-OC1 hücre dizisinden elde edilen hücre kültürlerinin canlılığına bakılarak lipoik asitin ve glutatyonun sisplatine karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre lipoik asit ve glutatyon ROS birikimini azaltarak sisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etki göstermiştir (68).

Literatürde sisplatin ototoksisitesinde çalışılan moleküllerin DPOAE sonuçları incelenmiştir. Gündoğdu ve ark. tarafından quercetin' in sisplatin ototoksisitesi üzerindeki etkinliği DPOAE ve histopatolojik olarak ışık mikroskopisi ile ölçülmüştür. Bu çalışmada sisplatin uygulanan tüm gruplarda özellikle yüksek frekanslarda olmak üzere tüm frekanslarda (1000 Hz-8000 Hz) SNR değerlerinde azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca Sisplatin+Quercetin birlikte uygulanan grupta 8000 Hz'de diğer gruplar ile kıyaslandığında SNR değerlerindeki değişim anlamlı bulunmuştur (49). Bizim çalışmamızda da Sisplatin grubunun 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde SNR değerlerinde tüm frekanslarda (1000Hz, 1500 Hz, 2000 Hz,3000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz ve 8000 Hz) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Ayrıca 0.günde ve 8. günde ölçülen her frekanstaki DPOAE değerlerinin ortalaması gruplar içinde

karşılaştırıldı. Sisplatin grubunda 0. günde ve 8. günde ölçülen DPOAE sonuçları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0,013$). Bu sonuç çalışmamızda sisplatin uygulaması ile ototoksik hasarın dış tüylü hücrelerde oluştuğunu elektrofizyolojik ölçümlerle ortaya koymaktadır.

Araujo ve ark. tarafından sisplatin ototoksitesinde melatonin tedavisinin koruyucu etkinliği araştırılmıştır. DPOAE sonuçları incelendiğinde Sisplatin+Melatonin birlikte uygulanan grupta, 2000,4000 ve 6000 Hz gibi düşük frekanslarda 8000 Hz' ye göre daha belirgin olmak üzere, tüm frekanslarda (1000 Hz-8000 Hz), sadece sisplatin uygulanan gruba kıyasla SNR değerlerinin daha iyi korunduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Dolayısı ile melatonin sisplatin kaynaklı ototoksositeye karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir ancak çalışmaya histopatolojik ölçümlerin eklenmesi daha etkin bir sonuç elde edilmesini sağlayabilirdi (52). Bizim çalışmamızda da Sisplatin+Glutasyon grubunda SNR değerlerinde kontrol grubuna göre düşüş olduğu ancak sadece sisplatin uygulanan gruba göre korunduğu izlendi. Ayrıca Sisplatin+Glutasyon grubunun 0. ve 8. günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından 1000 Hz ve 8000 Hz'de istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. (Sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,006$). 0.günde ve 8. günde ölçülen her frekanstaki DPOAE değerlerinin ortalaması gruplar içinde karşılaştırıldı. Glutasyon+sisplatin grubunda 0. günde ve 8. günde ölçülen DPOAE sonuçları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0,004$)

Rybak ve ark. tarafından sisplatin ototoksitesinin mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada korti organ hasarı, spiral ganglion dejenerasyonu, stria vaskularis ve spiral ligament kalınlığı TUNNEL yöntemiyle değerlendirilmiştir. Koklear hasarın oluştuğu bölgeler bazal dönüştteki dış tüylü hücreler, stria vaskularis ve spiral ganglion nöronları olarak tanımlanmıştır (35). Hodge ve ark. tarafından yapılan otopatolojik çalışmada da dış tüylü hücrelerde kayıp, stria vaskularisteki damarlarda dilatasyon ve kalsifikasyon alanları tespit edilmiş ve ototoksitenin tahrip ettiği bölgeler olarak koklear bazal turn ve stria vaskularis tanımlanmıştır (69).

Biz de literatüre uygun şekilde çalışmamızda dış tüylü hücreler korti organı, stria vaskularis ve spiral ligament gibi koklear yapılarda grupların sitoplazma vaküolizasyonu, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apoptozis ve sinir dejenerasyonu

derecelerini karşılaştırdık. Buna göre gruplar arasında hücre dejenerasyonu ve sinir dejenerasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0,013$ ve $p=0,03$). Farklılığın hangi iki grup arasında oluştuğunu anlamak için yapılan post-hoc analiz sonucunda hem hücre dejenerasyonu hem de sinir dejenerasyonu bakımından kontrol grubu ile sisplatin grubu arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir. (sırasıyla $p=0,024$ ve $p=0,02$). Diğer gruplar arasında hiçbir parametrede anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bu sonuç ile çalışmamızda patolojik olarak da sisplatin ototoksisitesinin oluştuğu gösterilmiştir. Ancak Glutasyon' un koklear dokularda ototoksisiteden koruyuculuğu histopatolojik olarak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar da mevcuttur. Yapılan DPOAE sonuçlarına göre hem frekans bazında hem de ortalama olarak GSH' nin koruyucu etkinliği gösterilmiş ancak histopatolojik olarak gösterilememiştir. Histopatolojik değişiklikler daha uzun sürede gelişebileceğinden deney süresini uzatmak histopatolojik olarak da anlamlı sonuçlar elde etmemizi sağlayabilir. GSH uygulaması sırasında intravenöz uygulama amaçlanmış ancak uygulama sırasında sıçanlarda ekstra stres oluşturması ve ek anestezi ihtiyacı gerektiğinden intraperitoneal yol tercih edilmiştir. Bu da kanda emilmiş GSH düzeyinde azalmaya yol açabilir. Ayrıca verilen GSH dozunu arttırmak da histopatolojik olarak da koruyucu etkiyi göstermemize yardımcı olabilir. İşitmeyi değerlendirme amaçlı dış tüylü hücre fonksiyonunu göstermede en etkili tetkik DPOAE olarak öne çıkmaktadır. Bu özelliği ile ototoksisitede sıklıkla kullanılmaktadır. İç tüylü hücrelerin ve diğer koklear yapıların hasarını odyolojik olarak göstermek amacıyla ABR tetkiki ilave edilebilir. Koklear yapıların hasarını göstermek için çalışmamızda ışık mikroskopisi tercih edilmiştir. Elektron mikroskopisi erişimi olan durumlarda elektron mikroskopisi ile inceleme yapılması patolojik sonuçlarda hassasiyeti arttıracaktır.

6. SONUÇLAR

Hücre içindeki oksidatif mekanizmalarda dengeyi sağlamakla görevli bir antioksidan olan Glutasyon (GSH)'un sisplatin ototoksitesini üzerine koruyucu etkisi araştırıldı. Sisplatin ile oluşturulan ototoksisite modelinde İP GSH takviyesinin etkisini belirlemek amacıyla yapılan DPOAE ve histopatolojik değerlendirmelerin sonucunda GSH'nin elektrofizyolojik olarak ototoksisiteye karşı koruyucu olabileceği tespit edilmiştir. Ancak histopatolojik olarak GSH'nin koruyucu etkisi kanıtlanamamıştır. Ancak sisplatinin neden olduğu ototoksisitenin hem antioksidan hem de diğer mekanizmalarındaki etkinliğinin gösterilmesi için daha geniş örneklem grubunda, çalışma süresi daha uzun tutularak; ABR, immünohistokimyasal yöntemler ve elektron mikroskopisi eklenerek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Cohen SM, Lippard SJ. Cisplatin: From DNA damage to cancer chemotherapy. In: *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*. Vol 67. Academic Press; 2001:93–130.
2. Ruggiero A, Trombatore G, Triarico S, Arena R, Ferrara P, Scalzone M, et al. Platinum compounds in children with cancer: toxicity and clinical management. *Anticancer. Drugs* 2013;24(10):1007–1019.
3. Teranishi M, Nakashima T. Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2003;67(2):133–139.
4. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects Med.* 2008;30(1–2):1.
5. Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* 2013;1830(5):3143–3153.
6. Garetz SL, Altschuler RA, Schacht J. Attenuation of gentamicin ototoxicity by glutathione in the guinea pig in vivo. *Hear. Res.* 1994;77(1–2):81–87.
7. Glynn M, Drake WM, Hutchison R. *Hutchison's clinical methods: an integrated approach to clinical practice*. 23rd edition. Edinburgh ; Elsevier; 2012.
8. Önerci TM, Midilli R, eds. *Kulak burun boğaz baş boyun cerrahisi*. Ankara: Türkiye Eğitim ve Sağlık Vakfı; 2021.
9. Koç C, ed. *Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi*. 3. bsk. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2019.
10. Comprehensive and Clinical Anatomy of the Middle Ear | SpringerLink. [<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-36967-4>]. 11.8.2024 tarihinde erişilmiştir.
11. Luers JC, Hüttenbrink K-B. Surgical anatomy and pathology of the middle ear. *J. Anat.* 2016;228(2):338–353.
12. Donald JA, Anson BJ. *Anson-Donaldson surgical anatomy of the temporal bone*. 4th ed. New York: Raven Press; 1992.
13. Hüttenbrink KB. [The functional significance of the suspending ligaments of the ear ossicle chain]. *Laryngorhinootologie*. 1989;68(3):146–151.
14. Fisch U, von SCHULTHESS null. Electromyographic studies on the human stapedial muscle. *Acta Otolaryngol. (Stockh.)* 1963;56:287–297.
15. Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD. *Head & Neck Surgery--otolaryngology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
16. Yost WA. *Fundamentals of Hearing: An Introduction*. Brill; 2013.
17. Vlajkovic SM, Thorne PR. Purinergic Signalling in the Cochlea. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(23):14874.
18. Standring S. *Gray's Anatomy E-Book: Gray's Anatomy E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2021.
19. Luxon LM. *Textbook of audiological medicine: clinical aspects of hearing and balance*. London:

Martin Dunitz; 2003.

20. Haughey BH, Francis HW, Lund VJ, Lesperance MM, Robbins KT, Thomas JR. *Cummings Otolaryngology: Head and Neck Surgery*. Elsevier; 2021.
21. Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book: Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2020.
22. Albuquerque AAS, Rossato M, de Oliveira JAA, Hyppolito MA. Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2015;75(1):43–49.
23. Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cirúrgica Bras.* 2004;19:441–447.
24. Oliveira JAA de. Audiovestibular toxicity of drugs. 1989. [<https://repositorio.usp.br/item/000803733>]. 19.12.2024 tarihinde erişilmiştir.
25. Santos PF, Leal MC, Peixoto C, Caldas Neto S, Rosas STP. Achados otomicroscópicos e histológicos da miringoesclerose induzida em ratos: estudo crítico de um modelo experimental. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* 2005;71:668–674.
26. Li P, Gao K, Ding D, Salvi R. Characteristic anatomical structures of rat temporal bone. *J. Otol.* 2015;10(3):118–124.
27. Turner JG, Parrish JL, Hughes LF, Toth LA, Caspary DM. Hearing in Laboratory Animals: Strain Differences and Nonauditory Effects of Noise. *Comp. Med.* 2005;55(1):12–23.
28. Holt AG, Kühl A, Braun RD, Altschuler R. The rat as a model for studying noise injury and otoprotection. *J. Acoust. Soc. Am.* 2019;146(5):3681.
29. Kemp DT. Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br. Med. Bull.* 2002;63:223–241.
30. Probst R, Harris FP. Otoacoustic emissions. *Adv. Otorhinolaryngol.* 1997;53:182–204.
31. Janssen T, Lodwig A, Müller J, Oswald H. [High-resolution distortion-product otoacoustic emissions: method and clinical applications]. *HNO* 2014;62(10):718–724.
32. Steyger PS. Mechanisms of Ototoxicity & Otoprotection. *Otolaryngol. Clin. North Am.* 2021;54(6):1101–1115.
33. Position Statement and Practice Guidelines on Ototoxicity Monitoring. *Am. Acad. Audiol.* [<https://www.audiology.org/practice-guideline/position-statement-and-practice-guidelines-on-ototoxicity-monitoring/>]. 16.10.2024 tarihinde erişilmiştir.
34. Audiologic Management of Individuals Receiving Cochleotoxic Drug Therapy. [<https://www.asha.org/policy/gl1994-00003/>]. 16.10.2024 tarihinde erişilmiştir.
35. Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hear. Res.* 2007;226(1):157–167.
36. Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT, Kollmannsberger C, Schmoll HJ, Kuczyk MA, et al. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br. J. Cancer* 1998;77(8):1355–1362.
37. Gentilin E, Simoni E, Candito M, Cazzador D, Astolfi L. Cisplatin-Induced Ototoxicity: Updates

- on Molecular Targets. *Trends Mol. Med.* 2019;25(12):1123–1132.
38. Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V. Cisplatin Ototoxicity and Protection: Clinical and Experimental Studies. *Tohoku J. Exp. Med.* 2009;219(3):177–186.
 39. Kim H-J, Oh G-S, Lee J-H, Lyu A-R, Ji H-M, Lee S-H, et al. Cisplatin ototoxicity involves cytokines and STAT6 signaling network. *Cell Res.* 2011;21(6):944.
 40. Niu B, Liao K, Zhou Y, Wen T, Quan G, Pan X, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: Enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy. *Biomaterials* 2021;277:121110.
 41. Hristov BD. The Role of Glutathione Metabolism in Chronic Illness Development and Its Potential Use as a Novel Therapeutic Target. *Cureus* 2022;14(9):e29696.
 42. Hamers FPT, Brakkee JH, Cavalletti E, Tedeschi M, Marmonti L, Pezzoni G, et al. Reduced Glutathione Protects against Cisplatin-induced Neurotoxicity in Rats. *Cancer Res.* 1993;53(3):544–549.
 43. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol.* 2014;740:364.
 44. Gonçalves MS, Silveira AF, Teixeira AR, Hyppolito MA. Mechanisms of cisplatin ototoxicity: theoretical review. *J. Laryngol. Otol.* 2013;127(6):536–541.
 45. Kim S-J, Hur JH, Park C, Kim H-J, Oh G-S, Lee JN, et al. Bucillamine prevents cisplatin-induced ototoxicity through induction of glutathione and antioxidant genes. *Exp. Mol. Med.* 2015;47(2):e142.
 46. Xiao W, Loscalzo J. Metabolic Responses to Reductive Stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2020;32(18):1330.
 47. Shetty S, Bhandary SK, Bhat V, Aroor R, Shetty J, Dattatreya T. Role of Otoacoustic Emission in Early Detection of Cisplatin Induced Ototoxicity. *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2020;74(Suppl 1):164.
 48. Ozturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR. Monitoring of cisplatin ototoxicity by distortion-product otoacoustic emissions. *Auris. Nasus. Larynx* 1996;23:147–151.
 49. Gündoğdu R, Erkan M, Aydın M, Sönmez MF, Vural A, Kökoğlu K, et al. Assessment of the Effectiveness of Quercetin on Cisplatin-Induced Ototoxicity in Rats. *J. Int. Adv. Otol.* 2019;15(2):229–236.
 50. Cakil B, Basar FS, Atmaca S, Cengel SK, Tekat A, Tanyeri Y. The protective effect of Ginkgo biloba extract against experimental cisplatin ototoxicity: animal research using distortion product otoacoustic emissions. *J. Laryngol. Otol.* 2012;126(11):1097–1101.
 51. Naples JG, Parham K. Cisplatin-Induced Ototoxicity and the Effects of Intratympanic Diltiazem in a Mouse Model. *Otolaryngol.--Head Neck Surg. Off. J. Am. Acad. Otolaryngol.--Head Neck Surg.* 2016;154(1):144–149.
 52. Araujo JGD, Serra LSM, Lauand L, Kückelhaus SAS, Sampaio ALL. Protective Effect of Melatonin on Cisplatin-induced Ototoxicity in Rats. *Anticancer Res.* 2019;39(5):2453–2458.
 53. Gozeler MS, Ekinci Akdemir FN, Yildirim S, Sahin A, Eser G, Askin S. Levosimendan

- ameliorates cisplatin-induced ototoxicity: Rat model. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2019;122:70–75.
54. Mohan S, Smyth BJ, Namin A, Phillips G, Gratton MA. Targeted amelioration of cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngol.--Head Neck Surg. Off. J. Am. Acad. Otolaryngol.-Head Neck Surg.* 2014;151(5):836–839.
55. Eroğlu O, Karlıdağ T, Kuloğlu T, Keleş E, Kaygusuz İ, Yalçın Ş. The Protective Effect of Cortexin on Cisplatin-Induced Ototoxicity. *J. Int. Adv. Otol.* 2018;14(1):27–33.
56. Lee CH, Lee D-H, Lee SM, Kim ASY. Otoprotective Effects of Zingerone on Cisplatin-Induced Ototoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(10):3503.
57. Ravi R, Somani SM, Rybak LP. Mechanism of Cisplatin Ototoxicity: Antioxidant System. *Pharmacol. Toxicol.* 1995;76(6):386–394.
58. Allen GC, Tiu C, Koike K, Ritchey AK, Kurs-Lasky M, Wax MK. Transient-Evoked Otoacoustic Emissions in Children after Cisplatin Chemotherapy. *Otolaryngol. Neck Surg.* 1998;118(5):584–588.
59. Sakat MS, Kilic K, Akdemir FNE, Yildirim S, Eser G, Kiziltunc A. The effectiveness of eugenol against cisplatin-induced ototoxicity. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2018;85(6):766.
60. Zhang JG, Viale M, Esposito M, Lindup WE. Tiopronin protects against the nephrotoxicity of cisplatin in the rat. *Hum. Exp. Toxicol.* 1999;18(12):713–717.
61. Fetoni AR, Sergi B, Ferraresi A, Paludetti G, Troiani D. Protective effects of α -tocopherol and tiopronin against cisplatin-induced ototoxicity. *Acta Otolaryngol. (Stockh.)* 2004;124(4):421–426.
62. Doğan M, Polat H, Yaşar M, Kaya A, Bayram A, Şenel F, et al. Protective role of misoprostol against cisplatin-induced ototoxicity. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol. Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngol. Soc. EUFOS Affil. Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngol. - Head Neck Surg.* 2016;273(11):3685–3692.
63. Somdaş MA, Güntürk İ, Balcıoğlu E, Avcı D, Yazıcı C, Özdamar S. Protective effect of N-acetylcysteine against cisplatin ototoxicity in rats: a study with hearing tests and scanning electron microscopy. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2020;86(1):30–37.
64. Kara M, Türkön H, Karaca T, Güçlü O, Uysal S, Türkyılmaz M, et al. Evaluation of the protective effects of hesperetin against cisplatin-induced ototoxicity in a rat animal model. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2016;85:12–18.
65. Soyaliç H, Gevrek F, Koç S, Avcu M, Metin M, Aladağ İ. Intraperitoneal curcumin and vitamin E combination for the treatment of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2016;89:173–178.
66. Kilic K, Sakat MS, Akdemir FNE, Yildirim S, Saglam YS, Askin S. Protective effect of gallic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2019;85(3):267–274.
67. Tan M, Toplu Y, Varan E, Sapmaz E, Özhan O, Parlakpınar H, et al. The effect of genistein on cisplatin induced ototoxicity and oxidative stress. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2021;88(1):105.
68. Koo DY, Lee SH, Lee S, Chang J, Jung HH, Im GJ. Comparison of the effects of lipoic acid and glutathione against cisplatin-induced ototoxicity in auditory cells. *Int. J. Pediatr.*

Otorhinolaryngol. 2016;91:30–36.

69. Cisplatin ototoxicity histopathology - Hodge - 2021 - Laryngoscope Investigative Otolaryngology - Wiley Online Library. [<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/lio2.608>]. 26.11.2024 tarihinde erişilmiştir.

