

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İZMİR BOZYAKA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA
MERKEZİ

SIÇANLARDA SİSPLATİN
OTOTOKSİSİTESİNİN ÖNLENMESİNDE KÖK
HÜCRE VE/VEYA PLATELETEN ZENGİN
PLAZMA TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Görkem ATSAL

KULAK BURUN VE BOĞAZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Enver ALTAŞ

İZMİR

2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, tüm değerli hocalarıma, sayın Prof Dr. Enver Altaş'a, Doç. Dr. Tolgahan Çatlı'ya, Doç. Dr. Abdullah Dalğış'a, Doç. Dr. Deniz Tuna Edizer'e, Doç. Dr. Togay Müderris'e, Op. Dr. Fatih Yılmaz'a;

Kliniğimizden emekli olmuş ve üzerimde çok fazla emeği olan sayın Op. Dr. Levent Olgun'a;

Tez konumun belirlenmesinden sonuçlandırılmasına kadar tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Tez Danışmanım Sayın Prof Dr. Enver Altaş'a;

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum tüm uzman abi ve ablalarıma;

Tez çalışmamın özellikle kurgulanmasında ve daha sonrasında kök hücre tedariği ve histolojik danışmanlık sağlayan Celal Bayar Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim Tuğlu'ya;

Tez çalışmamın deneysel aşamasında tüm özverisi ile bana destek olan başta sayın Prof. Dr. Günay Kırkım ve Dr. Hande Evin olmak üzere Dokuz Eylül Üniversitesi Odyoloji birimine;

Bu çalışmanın yürütülmesi aşamasındaki özverili yaklaşımları ve destekleri nedeniyle başta Prof. Dr. Osman Yılmaz olmak üzere Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanı Araştırma Merkezi öğretim üyeleri ve çalışanlarına;

Klinikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve çoğu zaman ailemden daha fazla vakit geçirdiğim çok değerli asistan doktor arkadaşlarıma;

Klinikte sürekli beraber çalıştığımız ve her an işlerimizi hafifleten başta hemşire ve personel olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca bana her zaman destek olan ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan aileme, bana her zaman destek olan eşime teşekkür ederim.

ÖZET

SIÇANLARDA SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNİN ÖNLENMESİNDE KÖK HÜCRE VE/VEYA PLATELETEN ZENGİN PLAZMA TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Baş boyun kanserlerinin tedavisinde kullanılan ve antineoplastik bir ajan olan sisplatinin neden olduğu ototoksik yan etki üzerine kök hücre ve/veya plateletten zengin plazma (PRP)'nın koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada 42 adet sıçan rastgele 6 gruba ayrıldı. Her bir grup 7 sıçandan oluşturuldu. Bütün deneklere intraperitoneal olarak (i.p.) 10 mg/kg ksilazin hidroklorür ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür enjeksiyonu altında ABR (Auditory Brainstem Response) ve OAE (Otoakustik Emisyon) testleri yapıp işitme eşikleri saptandı. Grup I (n=7)'deki sıçanlara hiçbir işlem yapılmadı ve Kontrol Grubu olarak tanımlandı. Grup II (n=7)'deki sıçanların sağ kulak timpanik membranı postero-inferiordan anestezi altında perfore edilip başka bir işlem yapılmadı ve sham grubu olarak tanımlandı. Grup III (n=7)'deki sıçanların sağ kulak timpanik membranı postero-inferiordan anestezi altında perfore edilip orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) serum fizyolojik emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere intraperitoneal (i.p.) olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verilerek toplamda 7 gün boyunca takip edildi. Grup IV (n=7)'teki sıçanların sağ kulak timpanik membranı postero-inferiordan anestezi altında perfore edilip orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) kök hücre emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verilecektir. Toplamda 7 gün boyunca takip edildi. Grup V (n=7)'teki sıçanların sağ kulak timpanik membranı postero-inferiordan anestezi altında perfore edilip orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) PRP emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verildi. Toplamda 7 gün boyunca takip edildi. Grup VI (n=7)'teki sıçanların sağ kulak timpanik membran postero-inferiordan anestezi altında perfore edilip orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml)

kök hücre ve PRP emdirilmiş gel foam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verildi. Toplamda 7 gün boyunca takip edildi. Çalışmanın son günü olan 8. gün bütün deneklere ABR yapıldı.

Bulgular: Kontrol grubu ile diğer grupların işlem uygulanan sağ kulakları arasında fark olup olmadığı Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi ve kontrol grubu dışındaki gruplardaki ratlarda 8. gün ABR eşiklerinde anlamlı derecede yükselme izlendi ($p<0.01$). Sham grubundaki sıçanların sağ kulakları ile grup III, grup IV, grup V ve grup VI'daki sıçanların sağ kulakları Man Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Grup III, grup V ve grup VI'da istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek ABR eşikleri izlendi ($p<0,01$). Grup II'deki sıçanların sağ kulakları grup IV'teki sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında ise işitme eşikleri arasında anlamlı derecede fark izlenmedi ($p>0,05$).

Sonuç: Tedavi protokolümüz sonrasında grup II ile grup IV arasındaki istatistiksel anlamsızlık kök hücrenin sisplatin ototoksitesini önemli oranda azalttığını ortaya koymuştur. Sham grubu ile grup V ve grup VI karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olması ototoksititeyi istenilen düzeyde azaltmadığını göstermiştir.

SUMMARY

RESEARCH ON THE EFFECT OF STEM CELL AND / OR PLATELET RICH PLASMA TREATMENT IN THE PREVENTION OF CISPLATIN AUTOXYCITY IN RATS

Objective: To investigate the protective effect of stem cell and / or platelet rich plasma (PRP) on ototoxic side effects caused by cisplatin, an antineoplastic agent used in the treatment of head and neck cancers.

Material and Methods: In this study, 42 rats were randomly divided to 6 groups. Each group was composed of 7 rats. Auditory brainstem response (ABR) and OAE (autoacoustic emission) tests were performed on all subjects under sedation with intraperitoneally (i.p.) 10 mg / kg xylazine hydrochloride and 50 mg / kg ketamine hydrochloride injection and hearing thresholds were determined. No treatment was performed on the rats in Group I (n = 7) and were defined as the Control Group. The right tympanic membranes of the rats in Group II (n = 7) were perforated postero-inferiorly under sedation and no other procedure was performed and was defined as sham group. The right tympanic membranes of rats in group III (n = 7) were perforated postero-inferiorly under sedation. Middle ear cavity was filled with saline-soaked gelfoam (approximately 0.5 ml). 72 hours later, daily 4 mg / kg of cisplatin was given intraperitoneally (i.p.) for 4 days (totally 16 mg/kg dosage of cisplatin). The right tympanic membranes of rats in group IV (n = 7) were perforated postero-inferiorly under sedation. Middle ear cavity filled with stem cell-soaked gelfoam (approximately 0.5 ml). 72 hours later, daily 4 mg / kg of cisplatin was given intraperitoneally (i.p.) for 4 days (totally 16 mg/kg dosage of cisplatin). The right tympanic membranes of rats in group V (n = 7) were perforated postero-inferiorly under sedation. Middle ear cavity filled with PRP-soaked gelfoam (approximately 0.5 ml). 72 hours later, daily 4 mg / kg of cisplatin was given intraperitoneally (i.p.) for 4 days (totally 16 mg/kg dosage of cisplatin). The right tympanic membranes of rats in group VI (n = 7) were perforated postero-inferiorly under sedation. Middle ear cavity filled with stem cell and PRP-soaked gelfoam

(approximately 0.5 ml). 72 hours later, daily 4 mg / kg of cisplatin was given intraperitoneally (i.p.) for 4 days (totally 16 mg/kg dosage of cisplatin). All groups were followed for 7 days. On the 8th day (the last day of study), all the rats were evaluated with ABR.

Findings: The Kruskal Wallis test was used to determine whether there was a difference between the right ears of the control group and the other groups. A significant increase was observed in the ABR thresholds at the 8th day in the rats of the groups other than the control group ($p < 0.01$). The right ears of rats in the sham group were compared with the right ears of group III, group IV, group V and group VI by using Man Whitney U test. High ABR thresholds were observed statistically in group III, group V and group VI ($p < 0.01$). When the right ears of group II rats were compared to the right ears of group IV rats, there was no significant difference between hearing thresholds ($p > 0.05$).

Conclusion: The statistical nonsense between group II and group IV after treatment protocol showed that stem cell significantly reduced cisplatin ototoxicity. A statistically significant difference between sham group and group V and group VI showed that they did not reduce ototoxicity to the desired level.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1 Kulak Anatomisi.....	2
2.1.1 Dış Kulak.....	2
2.1.2 Orta Kulak.....	3
2.1.3 İç Kulak	7
2.2 İşitme Fizyolojisi	12
2.2.1 Dış Kulak Fizyolojisi	13
2.2.2 Orta Kulak Fizyolojisi.....	13
2.2.3 İç Kulak Fizyolojisi.....	14
2.2.4 İşitme Siniri Fizyolojisi.....	17
2.2.5 Santral Yollar.....	18
2.3 Rat Koklea Anatomisi	20
2.4 Oto Akustik Emisyonlar	23
2.5 İşitsel Uyarılmış Beyin Sapı Cevapları(ABR).....	27
2.6 Ratlarda ABR özellikleri	33
2.7 Sisplatin	33
2.8 Kök Hücre.....	37
2.9 Plateletten Zengin Plazma.....	39

3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
4. BULGULAR.....	45
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ.....	66
7. KAYNAKLAR	67



SİMGELER VE KISALTMALAR

PRP: Plateletten zengin plazma

SOR : Serbest oksijen radikali

Hz : Hertz

kHz : Kilo Hertz

dB : Desibel

OAE : Otoakustik emisyon

SOAE : Spontan otoakustik emisyon

DPOAE : Distortionproduct (distorsiyon ürünü) otoakustikemisyon

TOAE : “Transient-evoked” otoskustik emisyon

ASHA : American Speech-Language-Hearing Association

ÖT : Östaki tüpü

DKY : Dış kulak yolu

DTH : Dış tüylü hücre

TEOAE : Transient evoked otoakustik emisyonlar

EP : Endolenfatik potansiyel

KM : Koklear mikrofoni

TSAP : Tüm sinir aksiyon potansiyeli

SPL : Sound Pressure Level

SF: Serum fizyolojik

İT: İntratimpanik

mg: miligram

ABR : Auditory Brainstem Response

cc : santimetreküp

gr: gram

i.p. : İntraperitoneal

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Orta ve İç Kulak Anatomisi

Şekil 2: Membranöz Labirent

Şekil 3: Koklea midmodiolar kesit. A:Apikal Kıvrım, M:Orta kıvrım, B:Bazal Kıvrım, SG:Spiral Ganglion, KK:Kemik Kapsül

Şekil 4: Koklea Midmodiolar Kesit. P:Perilenf, E:Endolenf, SP:Spiral Prominens, StV:Stria Vaskülaris

Şekil 5: Korti Organı; TM:Tektoriyal Membran, BM:Baziller Membran, İSH: İç Saçlı Hücreler, DSH:Dış Saçlı Hücreler, CT:Korti Tüneli

Şekil 6: Şematik Korti Organı(mikroskopik, şematik görünüm)

Şekil 7: Santral İşitme Yolları

Şekil 8: Sıçan Orta Kulağı

Şekil 9: Sıçan kokleası elektron mikroskop altında (X35)

Şekil 10: Wistar Albino Rat

Şekil 11: Sıçan Kafatası; A)Sıçan kafa tabanı alttan görünüş işaretli alanlar timpanik bulla; B) Sıçan kafası lateral görünüm 1- Bulla 2- Dış kulak yolu kanalı 3- Skuamöz kemik

Şekil 12: Ratlarda ABR Testinde Elektrot Yerleşimi

Şekil 13: Sisplatinin sık görülen yan etkileri

Şekil 14: Sisplatin Moleküler Yapısı

Şekil 15: Sisplatinin DNA Bağlanma Çeşitleri

1. GİRİŞ

Sisplatin günümüzde baş boyun skuamöz hücreli karsinomu, testisin solid tümörleri, over tümörleri, serviks tümörleri, mesane ve prostat tümörleri, küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri gibi bir çok malign neoplazinin medikal tedavisinde kullanılan alkilleyici antineoplastik ilaçtır. Nefrotoksisite, ototoksisite, miyelotoksisite, gastrointestinal toksisite, periferik nöropati gibi ciddi yan etkileri mevcuttur (1).

Sisplatinin ototoksik etkisi irreversible, bilateral, progresif ve yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ile karakterizedir. Sisplatin ototoksitesisi hem kullanım alanı hem de yan etkileri nedeniyle Kulak Burun Boğaz Hekimlerinin sıkca karşılaştığı bir durumdur (1).

Kök hücre birçok ototoksisite çalışmasında kullanılmış olup çalışmaların bir kısmında elektrofizyolojik olarak etkili olduğu gösterilmiştir (1). Yaptığımız literatür taramalarında platelet zengin plazmanın (PRP) bir çok alanda kullanılmasına rağmen ototoksisite çalışmalarında denenilmemiş olduğunu gördük.

Biz de bu çalışmamızda sıçan modelinde sisplatin ototoksitesisi durumunda kök hücre ve/veya PRP'nin etkisinin olup olmadığını otoakustik emisyon (OAE) ve işitsel uyarılmış beyin sapı cevapları (ABR) ile elektrofizyolojik olarak karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kulak Anatomisi

Kulak, aurikula (kulak kepçesi) ve dış kulak yolunu içeren **dış kulak**; kulak zarı, malleus, inkus, stapes, mastoid hücreler ve östaki borusunu içeren **orta kulak** ve vestibüler sistem ile kokleayı içeren **iç kulağı** ihtiva eden 3 bölümlü bir duyu organıdır (1).

2.1.1. Dış Kulak

Embriyoloji: Embriyolojik yaşamın üçüncü haftasında birinci ve ikinci arkuslardan his tomurcukları diye isimlendirilen 6 tomurcuk oluşur. İlk 3 tomurcuk birinci brankial arkusdan, son 3 tomurcuk ikinci brankial arkustan oluşur. Kulak kepçesi his tomurcuklarının birleşmesi ile 12'nci haftada oluşur. Erişkine benzer şeklini 20'nci haftada alır ve erişkindeki çaplarına 9 yaşında erişir. Dış kulak yolu oluşumu ise, embriyolojik yaşamın sekizinci haftasında birinci farengeal cebin derinleşmesi ile başlar ve 12'nci haftada epitel doku ile dolar. Dış kulak yolunun kemikleşmesi 3 yaşında tamamlanır ve 9 yaşında erişkin şeklini alır. Brankial ektoderm ile farengeal endodermin karşı karşıya geldiği bölge kulak zarını oluşturur. Kulak zarı üç tabakanın birleşmesinden oluşur. En dışta ektodermal epitel, ortada mezodermal fibröz doku, içte endodermal mukoza vardır. 28 haftalık embriyoda kulak zarı belli olur (2).

Anatomi: Kulak kepçesi (aurikula), başın iki yanında, temporomandibular eklem ile mastoid çıkıntı arasında yer alan ve sesin dış kulak yoluna yönlendirilmesini sağlayan, üzeri ince ve yağsız deri ile sıkıca kaplı olan elastik kıkırdaktan oluşan bir organdır. Dış kulak yolu, kepçeden kulak zarına kadar olan uzunluğu içine alır ve iki parçadan oluşur; 1/3 dış kısmı kıkırdak, 2/3 iç kısmı kemikten meydana gelir. Kemik kısım temporal kemiğin skuamöz ve timpanik parçasından meydana gelir. Dış kulak yolu arkadan öne ve superiordan inferiora doğru oblik seyreder. Erişkinde arka üst duvar 25 mm, ön alt duvar ise 30 mm uzunluğundadır. Çocuklarda kıkırdak bölümü daha uzundur. Dış kulak yolunu kaplayan deri, ciltaltı yağ dokusu olmadığı için çok incedir. Kanal içindeki “Santorini fissürleri” adı verilen fibröz kanallar dış kulak yolundaki enfeksiyonların veya tümöral yapıların temporomandibular eklem veya parotis bezine yayılmasına neden olabilir. Aurikulanın ön yüz derisinin duysal inervasyonunu mandibular sinirin

aurikulotemporal dalı, kavum konkanın inervasyonunu ise n.facialis ile n.vagus'un duyusal dalları sağlar. Lobülün duyusunu ise C2-C3'ten köken alan n.aurikularis magnus alır. Trigeminal sinirin auriculotemporal dalı dış kulak yolunun ön-üst tarafının, vagal sinirin auriküler dalı (Arnold siniri) ile fasiyal ve glossofarengeal sinir çiftlerinden gelen duyusal lifler alt-arka tarafının his duyusunu taşırlar. Dış kulağın kanlanması eksternal karotid arterin superfisiyal temporal arter ile posterior aurikular arter dallarıyla sağlanır (3).

2.1.2. Orta Kulak

Embriyoloji: İntrauterin üçüncü haftada dışa doğru bir oluk şeklinde büyüyen birinci farengeal cep orta kulak ve östaki borusunu oluşturur. Orta kulak kemikçikleri birinci ve ikinci brankial arkusların mezoderminden gelişir. Birinci brankial arkus mezoderminden; malleusun baş ve boynu, inkusun gövde ve kısa kolu, ikinci brankial arkusun mezoderminden; manibrium mallei, inkusun uzun kolu ve stapes gelişir. Orta kulak embriyolojik gelişimini otuzuncu haftada tamamlamış olur. Antrum gelişimi yirmidördüncü haftada başlar, otuzikinci haftaya kadar devam eder. Doğumda, sadece orta kulak boşluğu ve antrum mevcuttur. Mastoid kemik ve mastoid hücreler doğumdan sonra oluşur (3).

Anatomi: Kulak zarı ile iç kulak arasında yer alan 6 duvarlı bir boşluktur. Östaki borusu aracılığı ile nazofarenks, aditus aracılığıyla havalı mastoid hücrelerle bağlantılıdır. Orta kulak boşluğunun hacmi yaklaşık 2 cc'dir. Topografik olarak; kulak zarı hizasında kalan mezotimpanum, kulak zarının superiorunda kalan epitimpanum ve zarın inferiorunda kalan hipotimpanum olarak 3 kısımda incelenir (4).

Dış Duvar: Orta kulağın dış bölümünü kulak zarı oluşturur. Kulak zarı yaklaşık 8 mm genişliğinde, 10 mm yüksekliğinde eliptik yapıda, oblik yerleşimli, dış bölümü ince dış kulak yolu epiteli, orta bölümü fibröz tabaka, iç kısmı ise orta kulak mukozası tarafından oluşturulan 0.1 mm kalınlığında yarı transparan bir zardır. Timpanik kemiğin sulcus timpanikus parçasının içine oturur. Sulcus timpanikus içinde anulus timpanikus adı verilen fibröz bir halka vardır ve 1/8'lik üst bölüm hariç timpanik membranın kalan büyük bölümünü çevreler (6,7,8). Geniş olan alt bölümü gergindir ve pars tensa olarak anılır. Küçük olan üst parça ise ortada fibröz tabaka içermediğinden daha gevşektir ve pars flaksida olarak adlandırılır. Zarın tamamı 80

mm² iken titreşen bölümü yaklaşık 55 mm²'dir. Zardaki en belirgin bölge manubrium mallei'dir. Manubrium superiordan inferiora doğru seyreder ve zarın yaklaşık orta noktasında sonlanır. Sonlandığı bu noktaya umbo adı verilir. Zardaki lezyonları tarif etmek için manubriumdan geçen hat ile umbo seviyesinde bu hatta dikey geçen ikinci bir hayali hat kullanır. Böylece kulak zarı ön-alt, ön-üst, arka-alt ve arka-üst olarak 4 kadrana ayrılır. Kulak muayenesi sırasında sağlıklı bir kulak zarında ışık kaynağının üçgen şeklinde reflesi alınmalıdır. Buna Politzer üçgeni adı verilir. Zarın oblik duruşundan dolayı bu refrenin tepesi umboda, tabanı ise anulustadır. Zarın kanlanması internal maksiller arterin derin aurikular dalı ile posterior aurikular arterin stilomastoid dalından gelen küçük damarların oluşturdukları anastomoz sağlar. Timpan zarın inervasyonunu vagal sinirin aurikular dalı ile mandibular sinirin aurikulotemporal dalı sağlar (4,5).

Alt Duvar: Hipotimpanumun alt kısmıdır. İnternal juguler ven fossası ile komşudur. Jacobson sinirinin orta kulağa girdiği canaliculi timpanici adı verilen bir delik bulunur. Eğer juguler bulbus genişse, orta kulağa doğru çıkıntı şeklinde görülebilir (4,5).

Üst Duvar: Epitimpanumun üst kısmıdır. Burada bulunan ve orta kafa çukurunu orta kulak boşluğundan ayıran ince kemik yapıya tegmen timpani denir (4,5).

İç Duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayırır ve çok önemli yapıları barındırır. Kokleanın bazal kıvrımının orta kulak boşluğuna doğru yaptığı kabartıya promontorium denir. Bu yapının üzerindeki oyukta, n.glossofarengeusun dalı olan timpanik sinirin karotid pleksustan çıkan sempatik sinirlerle oluşturduğu timpanik pleksus bulunur. Promontoriumun arka-alt kısmında iç kulak ile orta kulak arasındaki iki bağlantı noktasından biri olan yuvarlak pencere bulunur. Arka-üst kısımda ise diğer bağlantı noktası olan oval pencere bulunur. Oval pencere nişine stapes tabanı oturur ve anuler ligaman ile sarılıdır. Oval pencerenin üst kısmında fasiyal sinirin timpanik segmentinin geçtiği Fallop kanalı bulunur. Bunun da üzerinde lateral semisirküler kanalın kabartısı vardır. Promontoriumun ön-üst kısmında ise tensor timpani kasının tutunduğu koklealiform proses yer alır (4,5).

Ön Duvar: İnternal karotid arterin yaptığı çıkıntı nedeniyle kısmen daralmış olan ön duvar, üstte tensor timpani kasının kanalı altta ise östaki tüpünün timpanik ağzı arasında yer alır. İnternal karotid arter ile komşudur (4,5).

Arka Duvar: Antrum ile orta kulak boşluğunu bağlayan aditus ad antrum arka duvarın üst kısmında bulunur. Arka duvarda yer alan önemli bir yapı; stapedius kasının tendonunun tutunduğu piramidal eminensdir. Bu çıkıntının hemen altında korda timpaninin orta kulağa girdiği oluk yer alır. Lateralde korda timpani ve dış kulak yolu, üstte ise fossa incudisin sınırlarını oluşturduğu fasiyal reses de arka duvarda yer alır. Oval ve yuvarlak pencerelerin arkasında, piramidal eminensin altında fasiyal sinir kanalına doğru uzanan girintiye sinüs timpani adı verilir (4,5).

Kemikçikler

Malleus: Kemikçiklerin en büyüğü ve en dışta olanıdır. Manubrium mallei, kaput mallei ve kollum mallei adı verilen üç bölümü vardır. Embriyolojik gelişimi fetal hayatın 16. haftasında başlar. 24. haftada kemikleşme tamamlanır. Tensor timpani kası malleusun boynuna yapışır ve kasıldığı zaman kulak zarını gerer (4,5).

İnkus: İnkusun gelişimi intrauterin 16. haftada başlar, 24. haftada tamamlanır. Kısa kol, gövde ve uzun kol olmak üzere 3 bölümü vardır. İki kol arasında yaklaşık 100 derecelik açı vardır. Uzun kolu stapes başı ile eklem yapar. Uzun kolun eklem bölgesindeki hafif kalınlaşmış bölümüne lentiküler proses adı verilir. Kısa kolu fossa inkudise yerleşmiştir (6).

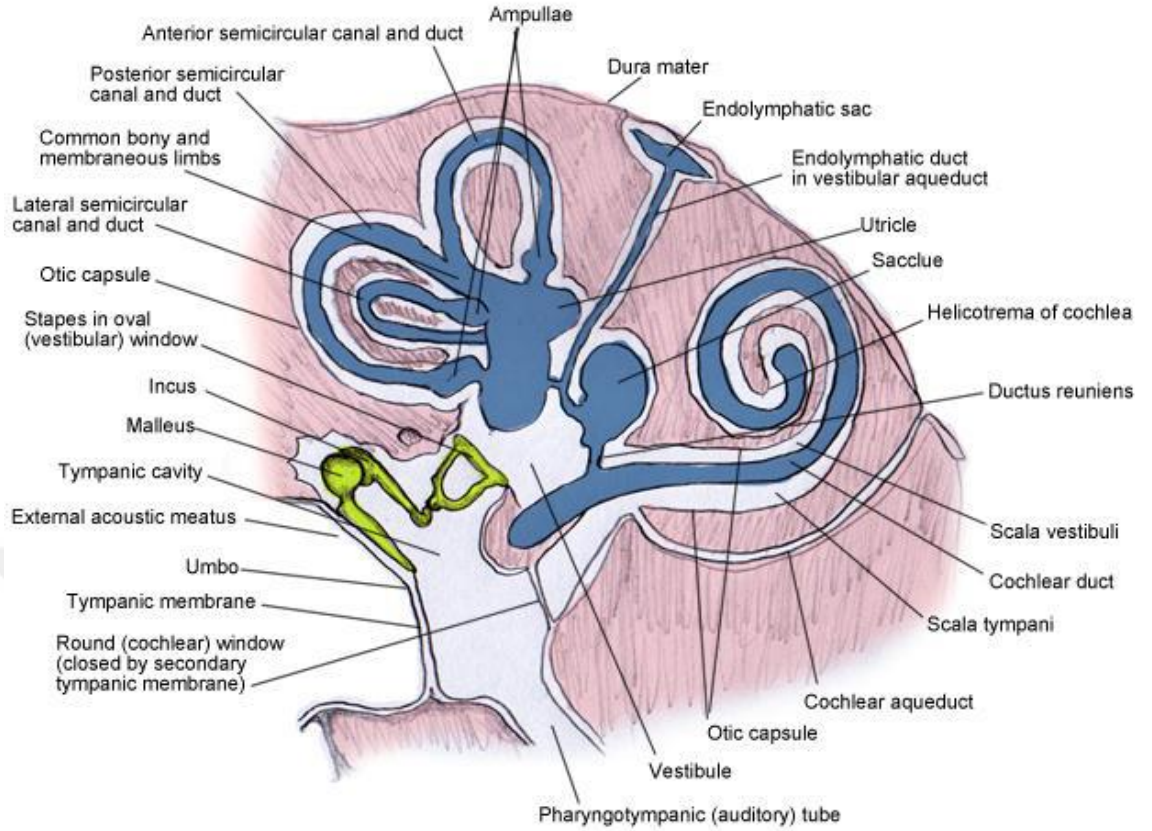
Stapes: Ortalama 3,5 mm uzunluğunda olup vücudun en küçük kemikçigidir. Fetal gelişimi diğer kemikçiklere göre daha uzun sürede tamamlanır. Ön bacak, arka bacak ve taban olmak üzere 3 kısımda incelenir. Tabanı, anüler ligaman adı verilen fibröz yapıyla oval pencereye oturur. Arka bacağın üst kısmına stapedius kasının tendonu yapışır. Orta kulak kemikçikleri kaslar ve ligamanlar yardımıyla pozisyonlarını korur ve hareket ederler. Kemikçiklere tutunan 2 adet kas vardır; bunlar tensor timpani ve stapedius kasıdır (6).

M. Tensor Timpani: Origosu östaki tüpünün kıkırdak bölümündedir. Östaki tüpüne paralel seyreder ve tendonu koklealiform proses üzerinden çıkar, malleusun boyun kısmına yapışır. Kasıldığında manubrium malleiye mediale doğru çeker ve kulak zarını gerer. İnervasyonunu n. trigeminus sağlar (6).

M. Stapedius: Arka duvar içindeki piramidal çıkıntı içinde yer alır ve tendonu bu çıkıntıdan ayrılarak stapes arka bacağına yapışır. Kasıldığı zaman stapes ön tarafını çekerek iç kulağı yüksek sestten korur. İnervasyonunu n. fasiyalis sağlar. Ligamanlardan ise anterior, süperior ve lateral ligaman malleusa, posterior ligaman inkusa tutunur. Vasküler orta kulak mukozası, kasları ve tendonları sarar, mastoid hücrelere doğru devam eder. Bu seyri sırasında bazı katlantılar, kıvrımlar (anterior ve posterior malleolar kıvrımlar) ve cepler oluşturur. Anterior ve posterior malleolar kıvrımlar ile kulak zarı arasındaki ceplere Von Troeltsch poşları denir. Kulak zarının pars flaksida bölümü ile malleusun boynu arasında kalan boşluğa ise Prussak cebi adı verilir. Orta kulağı genel olarak eksternal karotid arterin dalları olan anterior, posterior, süperior ve inferior timpanik arterler besler. Venöz drenaj ise pterigoid pleksusa veya süperior petrosal sinüse olur. Sinirsel uyarımı glossofarengeal sinirin timpanik dalı, mandibular sinirin aurikülotemporal dalı, sempatik inervasyonu ise karotid pleksus ile süperior servikal gangliondan gelen sempatik dallar sağlar (6).

Chorda Tympani: Dilin üçte ikilik ön kısmının tat duyusunu taşır. Aynı zamanda sublingual ve submandibular bezlere parasempatik uyarıları taşır. Fasiyal siniri petrotimpanik fissürde terk edip orta kulakta inkus uzun kolu ve manubrium mallei arasından geçer (6).

Östaki Borusu: Orta kulak ile nazofarenks boşluklarını bağlayan, orta kulağa yakın üçte birlik kısmı kemikten, nazofarenkse yakın üçte ikilik kısmı kıkırdaktan oluşan bir borudur. Nazofarenkse açılan ağzı alt konkanın posteriorunda ve hafif inferiorunda rosenmüller fossada bulunur. Çocuklarda 17 mm, erişkinlerde ise 35 mm uzunluğundadır. Çocukluk döneminde açısı yaklaşık 10 derece olan tüp, erişkinde 45 dereceye ulaşır. Orta kulak boşluğunun havalanmasına katkıda bulunur. Temel olarak 2 kas tarafından sarılır; tensor veli palatini ve levator veli palatini. Ancak östaki tüpünün ağzının açılmasından esas olarak tensor veli palatini kası sorumludur (6).



Şekil 1: Orta ve İç Kulak Anatomisi (1)

2.1.3. İç Kulak

Embriyoloji: İntrauterin dördüncü haftada, ektodermden gelişmeye başlar. Gelişim yaklaşık yirmidördüncü haftaya kadar devam eder. Ektodermdaki otik çukur derinleşerek daha sonra otik vezikülü oluşturacak olan bir kese halini alır. Dördüncü haftada oluşan otik vezikülden daha sonra koklea, semisirküler kanallar ve vestibül meydana gelir. Ektodermden gelişen membranöz labirentin etrafını mezodermden gelişen kıkırdak yapı sarar. Bu daha sonra ossifiye olarak kemik labirenti oluşturur (7).

Anatomi: Kulağın en medialdeki bölümü olan iç kulak, temporal kemiğin petröz parçasının içinde yer alır. Denge ve işitme ile ilgili özelleşmiş duyu hücrelerini barındırır. Çeşitli anatomik yollar ve boşluklar aracılığıyla orta kulak ve kafaiçi ile bağlantı halindedir. Morfolojik olarak 2 bölümde değerlendirilir (6):

1-Kemik Labirent

Koklea: Anatomik olarak internal karotid arterin süperiorunda yer alır. Merkezde modiolus adı verilen kemik yapı etrafında, sarmal şeklinde 23/4 tur yapar. Koklea için bir eksen oluşturan modiolus spiral şeklinde bir yapıdır. Bu nedenle, modiolus içindeki ince osseöz kanallara spiral kanallar denir. Bu kanallardan koklear damarlar ve koklear sinirin lifleri geçer. Ayrıca işitmenin birinci nöronu olan spiral ganglion da burada bulunur (6).

Osseöz semisirküler kanallar: Süperior, horizontal ve posterior olmak üzere toplam üç adet semisirküler kanal bulunmaktadır. Bu kanalların her biri kendi arasında 90 derecelik açı olacak şekilde üç ayrı uzaysal düzlemde bulunurlar ve vestibulumu açılırlar (6).

Vestibulum: Çapı 4 mm olan düzensiz ovoid bir boşluktur. Medial duvarındaki recessus sphericus içinde sacculus, recessus elipticus içinde ise utriculus bulunur. Lateral duvar ise yuvarlak ve oval pencereler aracılığıyla orta kulak boşluğu ile bağlantılıdır. Vestibulumun ön-alt kısmında koklea bulunur (6).

2-Membranöz Labirent

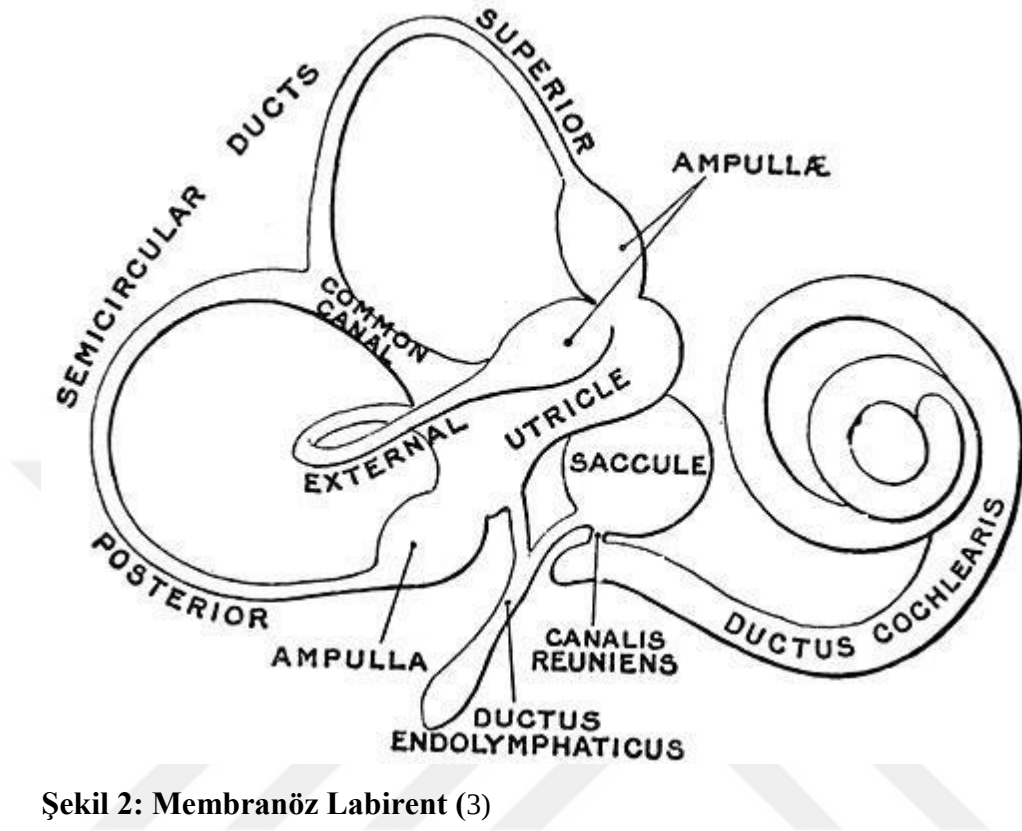
Korti organı: Lamina bazilarisin üstünde ve ductus koklearisin içinde yer alır. Organum spirale olarak da adlandırılır (6).

Semisirküler kanallar: Kemik semisirküler kanalların içinde yer alan membranöz semisirküler kanalların kalınlığı kemiğe göre çok incedir. Membranöz labirent horizontal ve süperior semisirküler kanalların ön deliği ile posterior kanalın alt deliğinin civarında genişleyerek ampulla adı verilen bir bombelik yapar. Ampullanın içindeki krista ampullariste duyu epiteli bulunur ve bu bölgeden çıkan anterior, posterior ve lateral ampullar sinirler vestibüler siniri oluşturmak üzere utriküler ve sakküler sinirlerle birleşirler (6).

Utrikulus: Vestibulumun medial duvarında yer alan recessus elipticusta yer alır. İç duvarında makula adı verilen özelleşmiş bölümde denge duyusunu alan özel hücreler yer alır (6).

Sakkulus: Vestibulum medial duvarında yer alan recessus sphericusta yer alır. Tıpkı utriculusta olduğu gibi sacculusun iç yan duvarında da makula adı verilen bölüm ve bu bölümde yer alan, dengeyle ilgili uyarıları alan özelleşmiş duyu epiteli yer alır (6).

Endolenfatik kanal: Aquaductus vestibuli isimli kemik kanal içinde yer alır. Utrikulosakküler duktus ile endolenfatik keseyi birbirine bağlar (6).

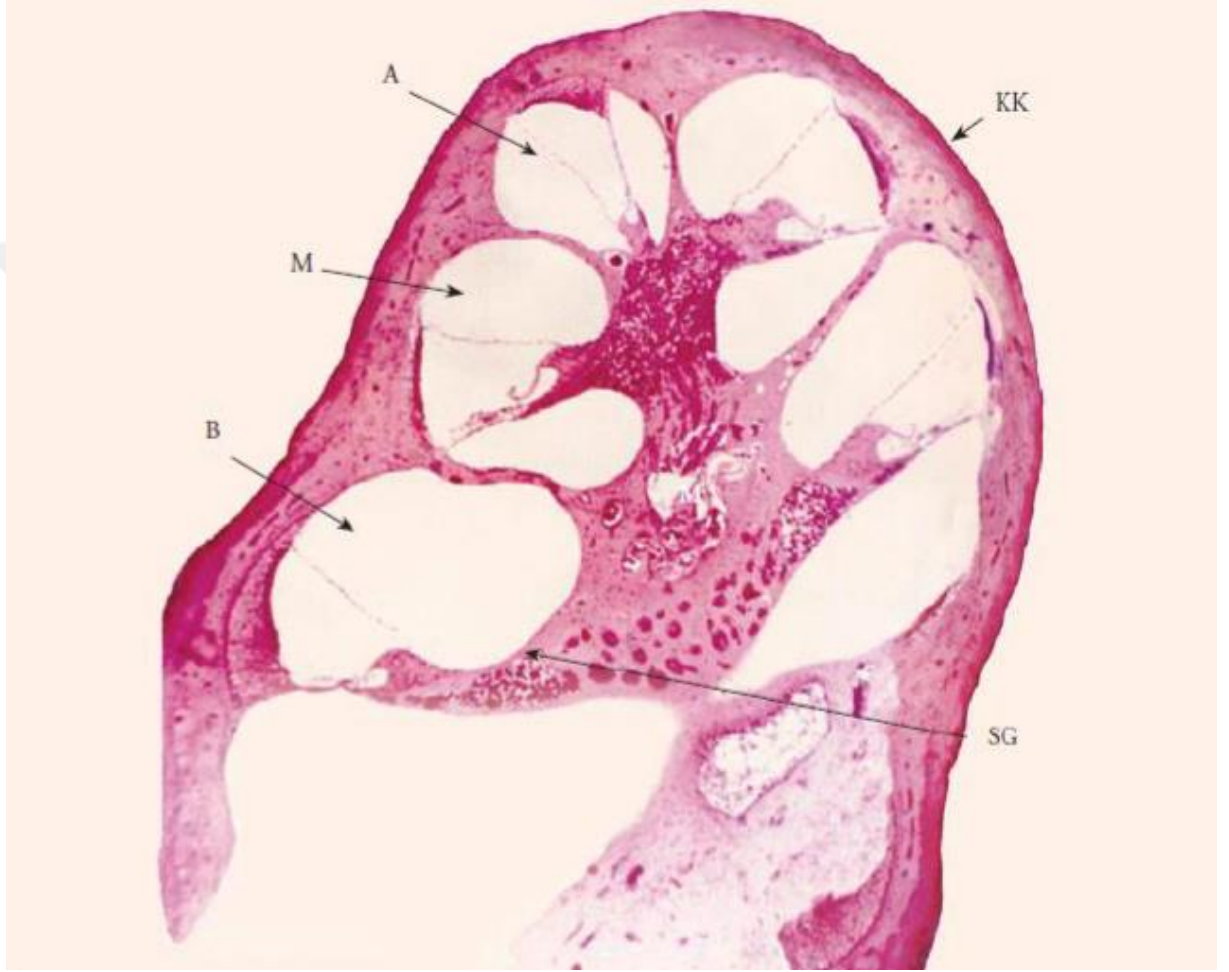


Şekil 2: Membranöz Labirent (3)

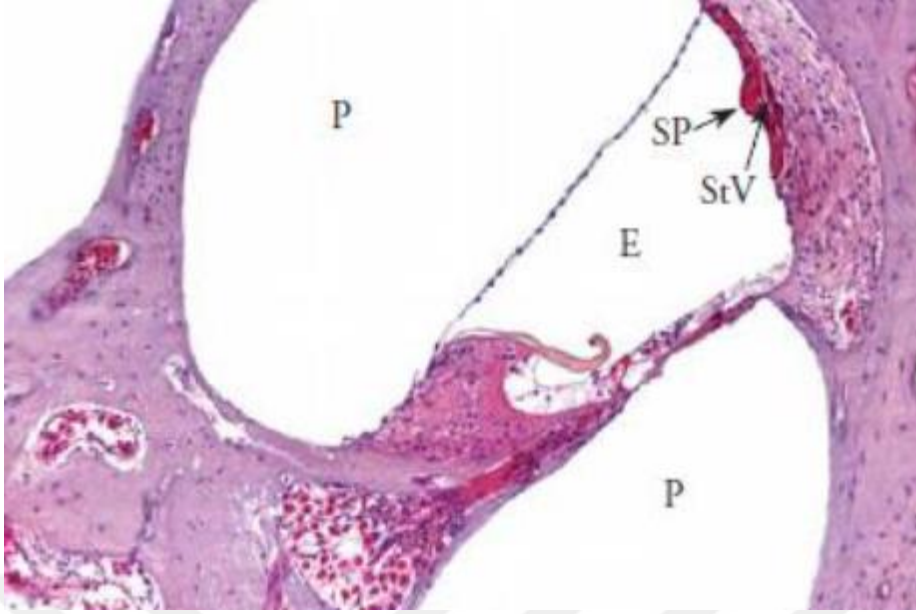
İşitme Organı Koklea

İç kulağın ön kısmında bulunan ve şekli salyangoza benzeyen bir organdır. Ortasında koni şeklinde kemik yapıda modiulus bulunmaktadır. Modiulus etrafında duktus koklearis sarıli durumdadır. Yaklaşık 30 mm uzunluğundadır. Duktus koklearis modiulus çevresinde 2 tam ve 3/4 tur yapar. Bu şekilde oluşan turlar apikal, medial ve basal tur olarak adlandırılır. Kokleanın ortasından dikey bir kesit yapılacak olur ise, modiulustan bir kemik laminanın kanalın içine uzandığı izlenir (lamina spiralis ossea). Kemik lamina kanalın yarısına kadar uzanır, bunun bittiği yerden kemiğin periostu fibröz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak kanalı iki tam parçaya böler. Bu fibröz tabakaya baziller membran adı verilir (8). Baziller membranın üzerinde kalan bölüme skala vestibuli, altta kalan kısma skala timpani adı verilir. Apikal turda skala vestibuli ve skala timpani birbirleri ile birleşerek helikotremayı oluştururlar. Skala vestibuli ve skala timpani içerisinde perilenf adı verilen bir sıvı vardır. Skala timpani orta kulak ile yuvarlak pencere vasıtası ile, skala

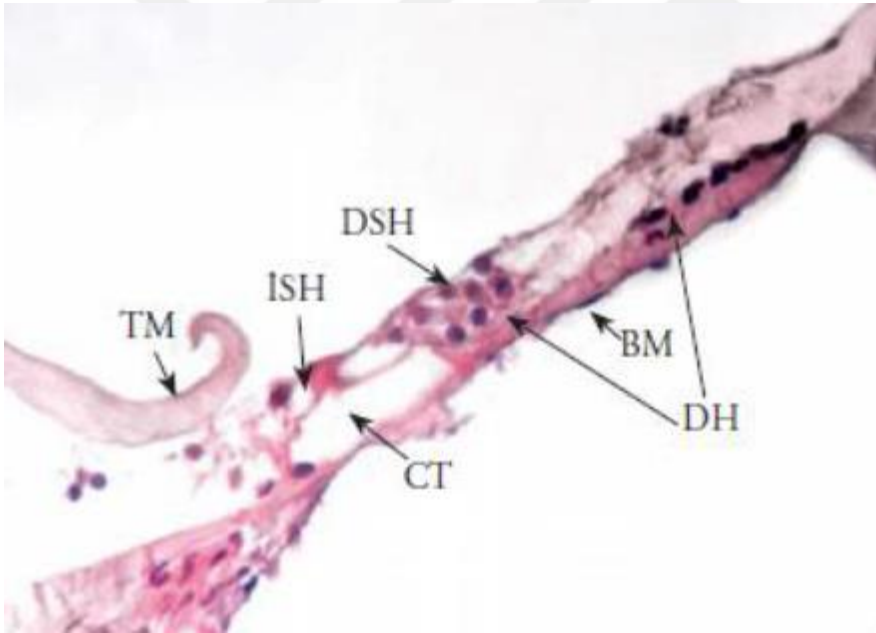
vestibuli ise oval pencere vasıtası ile ilişkidir. Baziller membran karşı tarafa yapışırken bir kalınlaşma yapar buna ligamentum spiralis ossea adı verilir. Bu ligamanın üstünden ince bir zar tabakası ayrılır ve kanalın ortasına doğru inerek kemik lamina ile birleşir. Bu zara Reissner membranı adı verilir. Reissner membranı koklea kesitlerinde üçgen şeklinde görülen duktus koklearisi oluşturur (8).



Şekil 3: Koklea midmodiolar kesit. A:Apikal Kıvrım, M:Orta kıvrım, B:Basal Kıvrım, SG:Spiral Ganglion, KK:Kemik Kapsül (8)



Şekil 4: Koklea Midmodiolar Kesit. P:Perilenf, E:Endolenf, SP:Spiral Prominens, StV:Stria Vaskülaris (8)

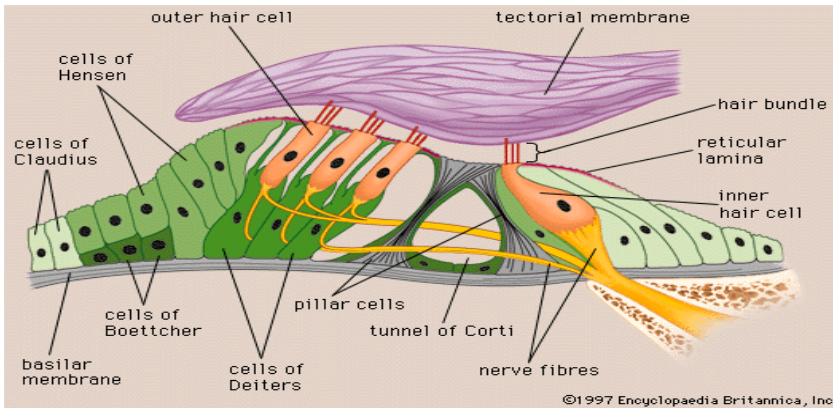


Şekil 5: Korti Organı; TM:Tektoryal Membran, BM:Baziller Membran, İSH: İç Saçlı Hücreler, DSH:Dış Saçlı Hücreler, CT:Korti Tüneli (8)

Duktus koklearisin içinde endolenf adı verilen bir sıvı vardır. Bu sıvının içeriği perilenften tamamen farklıdır. Endolenf potasyum iyonundan zengin sodyum iyonundan fakir olmasına karşın, perilenfte sodyum iyonundan zengin potasyum iyonundan fakirdir. Endolenf ve perilenf arasında, Reissner membranı vasıtasıyla

aktif transport mekanizması aracılığı ile iyon ve metabolit alışverişi mevcuttur. Endolenf ve perilenf kokleanın metabolizmasında önemlidir. Koklear kanal aquaductus koklea isimli kanal arka kafa çukurundaki dura yapraklarında sonlanır ve kafa içi ile bağlantılıdır (8).

Kokleada nörosensöriyel (sensöriyel) hücreler baziller membran üzerinde yerleşmiştir. Bu bölüme Korti organı adı verilir. Korti organında ses titreşimleri nörosensöriyel hücreler aracılığı ile elektrik potansiyellerine dönüştürülür. Baziller membran üzerinde iki tip nörosensöriyel hücre bulunmaktadır. Bunlar iç saçlı hücreler ve dış saçlı hücreler olarak adlandırılır. Bu hücreler üzerlerini örten tektoriyal membran ile temastadırlar. Baziller membranın en çıkıntılı olduğu yere korti tüneli adı verilir. Bu tünelin dış kısmında dış saçlı hücreler ve iç kısmında iç saçlı hücreler bulunmaktadır (8). İç saçlı hücrelerin sayıları yaklaşık 5000'dir ve tek sıralıdırlar. Şiddetli uyarılara cevap verirler. Dış saçlı hücreler ise 3-4 sıralıdır. İç kulaktaki toplam saçlı hücre sayısı 16000-20000 arasındadır. Saçlı hücrelerin üzerinde kalınlaşan bir yüzey olan kütiküler plakta titreşim tüyleri (stereosilia) bulunmaktadır. Titreşim tüyleri kendi aralarında da bir düzen içerisinde sıralanmışlardır. İç saçlı hücrelerde bu düzen ductus koklearisi paralel, dış saçlı hücrelerde ise W veya V şeklindedir. Titreşim tüyleri tektoriyal membran ile temastadır. Tektoriyal membran kemik spiral laminadan başlayarak dış saçlı hücrelerin üzerini örter (8).



Şekil 6: Şematik Korti Organı(mikroskopik, şematik görünüm) (9)

2.2 İŞİTME FİZYOLOJİSİ

İşitme; akustik enerjinin, dış ve orta kulakta iletdikten sonra, iç kulakta değişikliğe uğratarak, aksiyon potansiyelleri halini alıp, işitme yolları aracılığı ile beyine gönderilmesi ve burada ses halinde algılanmasıdır (10).

Ses ise; maddeden oluşan bir ortamda yayılan mekanik bir titreşim dalgasıdır (10).

İşitme sistemi geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Dış, orta, iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır (10).

Normal bir işitme için;

1. İleti sistemi; Ses dalgalarının atmosferden korti organına iletilmesi (conduction) (10).

2. Periferik analiz ve enerji dönüşümü; Ses enerjisi korti organındaki tüylü hücrelerde biyokimyasal olaylar ile sinir enerjisi haline dönüştürülür (transdüksiyon) (10).

3. Elektriksel enerjinin taşınması; İç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektrik akımı kendisi ile ilgili sinir liflerini uyarır. Böylelikle oluşan enerji frekans ve şiddetine göre Korti organında kodlanır (neural coding). Oluşan elektrik potansiyeller yukarı merkezlere sinir lifleri boyunca iletilir (9-11).

4. Kortikal analiz; Koklear çekirdeklerden işitme merkezlerine gelen bu uyarılar birleştirilerek analiz edilir (cognition) (9-11).

2.2.1. Dış Kulak Fizyolojisi

Kulak kepçesi, çevredeki sesleri toplayarak dış kulak yoluna iletir. Konka ise adeta bir megafon görevi görerek ses dalgalarını yoğunlaştırır. Bu durumda kulak kepçesi ses dalgalarının şiddetini altı desibel (dB) artırır. Desibel, insan kulağının işitebildiği en küçük ses şiddeti birimidir. Dış kulak kanalı gelen seslerin basıncını artırır. Ses dalgalarının atmosferdeki yayılması ile dış kulak yolundaki yayılması birbirleri ile karşılaştırıldığında normal yetişkin bir insanda sesin şiddetinin arttığı ve bu artışın 1000- 8000 Hz frekansları arasında olduğu saptanmıştır. Hertz (Hz), ses frekans birimi 'dir. 3500 Hz frekansındaki bir ses dalgası dış kulak yolunda yaklaşık olarak 15–20 dB kuvvetlenmektedir. Ancak bu değerler sabit değildir; çünkü kişiden kişiye kanalın çapı ve biçimi değişmektedir. Ayrıca sesin geliş açısı da değişiklik göstermektedir (12,13).

2.2.2. Orta Kulak Fizyolojisi

Orta kulak; Dış kulak yolundaki (DKY) seslerin kokleadaki sıvı ortama iletilmesinde görev alır. Ses dalgaları; timpan zarda titreşime yol açar. Bu titreşim, zara yapışık olan manibrium mallei vasıtası ile malleus başına ve buradan inkus başına iletilir. Hareket bundan sonra, inkudostapedial eklem vasıtası ile stapes ve oval pencereye, buradan iç kulak sıvılarına iletilir. Ses dalgaları akustik rezistansı çok düşük olan atmosferden, akustik rezistansı çok yüksek olan perilenfe geçinceye kadar bir enerji kaybına uğramaktadır. Ses dalgalarının ancak 1/1000'i perilenfe geçebilmektedir. Bu ortam değişikliği sırasında 30 dB işitme kaybı ortaya çıkmaktadır. Ancak, orta kulak ve kemikçikler, kendisine gelen akustik enerjiyi yaklaşık 30 dB kadar yükselterek perilenfe aktarmaktadır. Bu şekilde ortam değişikliği sırasında ortaya çıkan enerji kaybı telafi edilmektedir (13).

Orta kulak bu artışı şu üç mekanizma ile sağlar;

- 1) Kulak zarının kaldıraç yükseltici etkisi (13)
- 2) Kemikçik sisteminin yükseltici etkisi (13)
- 3) TM ve stapes tabanı arasındaki büyüklük farkı (13)

Timpanik membran titreştiği zaman ses titreşimleri pencereye iki şekilde ulaşır. Kemikçikler yoluyla oval pencereye ve hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşır. Bu şekilde pencereye ulaşan ses dalgaları arasında iletim hızının farklı olmasından dolayı faz farkı ortaya çıkar. Ses dalgaları farklı fazlarda iletildiği zaman, koklear potansiyellerin optimum seviyede olduğu tespit edilmiştir (13).

Ses titreşimlerinin basiller membrana ulaşabilmesi için, perilenfin hareket etmesi gereklidir. Ancak stapes tabanı, titreşimi iletmek için perilenfe doğru hareket ettiği zaman, perilenfin harekete geçebilmesi için ikinci bir pencereye gerek vardır. Yuvarlak pencere membranı, stapes hareketi sırasında orta kulağa doğru bombeleşerek, perilenfe hareket imkanı sağlar (13).

2.2.3 İç Kulak Fizyolojisi

Stapes hareketi ile başlayan ve perilenf ile iletilen mekanik dalga, baziler membranı tabandan apekse doğru hareketlendirir. Bu dalganın özelliği, amplitüdün giderek artması ve titreşimlerin belli bir bölgede maksimum amplitüde ulaştıktan sonra birden sönmesidir. Titreşimler enine ve boyuna olmak üzere yayılırlar. İletim dalgası basiller membran üzerinde stimulusun taşıdığı frekansa tekabül eden bölgede maksimum amplitüde ulaşır ve bu bölgeyi hareket ettirerek fibrilleri uyarır.

Kokleadaki basiller membranın tabana yakın yeri ince, kısa ve gergindir. Apekte yakın yeri ise kalın, uzun ve gevşektir. Bu nedenle basiller membranın en alt kısmı en yüksek frekanslarda; en üst kısmı ise en alçak frekanslarda uyarılır. Basiller membran titreşirken, üstündeki silialı hücreler tektorial membrana çarpıp ayrılırlar ve sonuçta uyarılan koklea kısmında ses dalgalarının mekanik enerjisi elektro-kimyasal enerjiye dönüşür. Bu enerji de sinir impulsları doğurarak sesin 8. sinir lifleri ile merkeze iletilmesine sebep olur (14).

En uzun dış saçlı hücre stereosiliyası tektorial membranın alt yüzüne bağlanır, muhtemelen daha kısa silialar ve iç saçlı hücre stereosiliyası tektorial membranın alt yüzüne bağlı değildir. Bazal membrandaki yer değişimi, tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki dış saçlı hücrelerini bükerek hareketlendirir. Tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki sıvı kayma hareketi iç saçlı hücreleri hareketlendirir. Böylece iç saçlı hücreler hız, dış saçlı hücreler yer değiştirme algılayıcısı olarak görev görür (14).

Titrek tüylerin içinde meydana gelen elektriksel olaylar bir kenara bırakılırsa, transdüksiyon olayının meydana gelişi, yani baziller membran hareketleri ile elektrik enerjisinin oluşması kokleada bulunan ekstrasellüler dört farklı elektriksel potansiyelin fonksiyonu ile bağlantılıdır. Bu elektriksel potansiyeller şunlardır (14):

1. Endolenfatik potansiyel (EP) (14)
2. Koklear Mikrofonik (KM) (14)
3. Sumasyon Potansiyeli (SM) (14)
4. Tüm sinir aksiyon potansiyeli (TSAP) ya da bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) (14)

Endolenfatik Potansiyel (EP): Stria vaskülaris tarafından oluşturulur. Anoksiye ve oksidatif metabolizmayı bozan kimyasal ajanlara aşırı duyarlı olduğu için, varlığı stria vaskülarisin aktif iyon pompalama sürecine bağlıdır. Endolenfatik potansiyel, dışındaki diğer potansiyeller akustik uyarıya bağlıdır ve transdüksiyon için mutlaka gereklidir. Meydana gelişinde $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPaz}$ 'ın rolü vardır. ATPaz bazı koklea hücrelerinde ve stria vaskülarisin kenar hücrelerinde vardır. Endolenfin yapım bozukluğu mekanik presbiakuzi denen tabloyu yapar (14).

Koklear Mikrofonik (KM): Koklea içinde veya oval pencere kenarında ölçülen alternatif akımdır. Büyük ölçüde dış titrek saçlı hücrelere ve bunların

meydana getirdiği K^+ iyonu akımına bağlıdır. Baziller membran hareketleri ve ses uyarıları ile direkt ilişkidir. Dış titreşim saçlı hücrelerin stereosilyalarının hareketi ile dış titreşim saçlı hücrelerin direnci değişir. Stereosilyaların modiolustan uzaklaşmaları ile direnç düşer; modiolusa yaklaşmaları halinde ise artar. Bu hareket K^+ iyon hareketlerini ters yönde etkiler. Endolenfatik potansiyel de bu hareketlerden etkilenir. Dış titreşim saçlı hücrelerin tahribinde koklear mikrofoni kaybolur. Koklear mikrofoni dalga şekli büyük ölçüde baziller membran hareketinin aynısıdır (14).

Sumasyon Potansiyeli (SP): Büyük ölçüde saçlı hücrelerin içindeki elektiriksel potansiyelin yönlendirdiği bir akımdır. Daha çok dış titreşim saçlı hücrelerin hücre içi potansiyeli ile ilgilidir. Ses uyarısına, frekansına ve uyarının şiddetine bağlıdır. Akımın yönü elektrodun yönüne, ses uyarısının frekansına ve şiddetine göre değişir (14).

Tüm Sinir Aksiyon Potansiyeli (TSAP): Tüm sinir aksiyon potansiyeli ya da bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) olarak adlandırılır ve işitme siniri liflerinden ölçülür. Yuvarlak pencere yanına, kafatasına, dışkulak yoluna ya da sinirin kendisine konan elektrodlar ile ölçülür. Son zamanlarda SP/TSAP amplitüdlerinin karşılaştırılması ile Meniere Hastalığı tanısının desteklenmesi hedeflenmiştir (14).

Ribbon Sinaps : Sesin elektriksel sinyale dönüştürülüp beyindeki merkezlere iletilmesinde iç saçlı hücreler rol oynar. Her bir iç saçlı hücre bir gangliyon hücresi ile sinaps yapar, böylece tüm bilgiler sinaptik bir alandan geçerler. İç saçlı hücrelerin sinaptik alanları “ribbon” olarak adlandırılan ve sinaptik keseciklerle çevrilen özel bir yapı içerir. Ribbonların uyarı iletimi esnasında ekzositoz için plazma membranına kesintisiz destek sağladıkları düşünülmektedir. Her bir ribbon sinapsının presinaptik tarafında salınım hazır 16-30 adet vezikül bulunmaktadır (postsinaptik alanda multiveziküler salınım olmaktadır) (14).

Artmış iç saçlı hücre depolarizasyonu bu multiveziküler salınım olaylarının frekans ve amplitüdünde artışla sonuçlanacaktır. Büyük postsinaptik eksitator elektriksel akım istirahatte de kaydedilebilir (15).

İç saçlı hücrelerden işitme sinirine bilgi transferini özetleyecek olursak; ses uyarımı ile silia hareketi başlar, iç saçlı hücre membranında depolarizasyon olur, kalsiyum kanalları açılır ve sinaptik aralığa glutamat veziküllerin ekzositozu ile

tamamlanır. Glutamat salınımı sonucunda işitme sinirinde aksiyon potansiyeli oluşur (15).

2.2.4. İşitme Siniri Fizyolojisi

İnsan kulağındaki korti organında bulunan tüylü hücrelerin toplam sayıları 15- 20.000 kadardır. Bunlardan 3.500 kadarı iç, geri kalanı dış tüylü hücrelerdir. Tüylü hücreler ile temasta bulunan sinir liflerinin sayısı tüylü hücrelerin iki katı kadardır (25-30 bin). Bu liflerin hücre gövdesi, kokleanın içinde bulunan spiral ganglionlardır. Her spiral ganglion hücresi korti organına kısa reseptör lifler, beyin sapındaki koklear nukleuslara ise uzun sinir lifleri gönderirler. Yani spiral ganglionlar bipolar hücreler olup, bu hücrelerin periferik uzantıları kokleadaki lamina spiralis osseanın içinde bulunan kanalcıklardan geçer ve foramina nervumdan çıkarak, korti organına gelirler. Burada sinir lifleri nöro-epitelyal tabakası içinde sık bir ağ meydana getirirler. Bu ağdan çıkan nörofibriller duyu hücrelerinin etrafını sarar ve hücrelere nüfuz ederek sitoplazmayla ilişki kurar. Bipolar hücrelerin santral uzantıları kulak yolunun dibindeki tractus foraminosusdaki deliklerden geçer ve biraraya gelerek işitme sinirini meydana getirir. Bu sinir denge siniri ile beraber, sulkus pontobulbarisin dış kısmından ponsa girer (16).

İç ve dış tüylü hücreler mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüşümünde majör rol oynamaktadır. Yine iç kulaktaki sterosilyaların da bu dönüşümde önemli görevleri vardır. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Bu kanallar sterosilyaların hareketleri ile açılıp kapanmaktadır. Baziller membran hareketleri ile sterosilyalar hareket eder ve iyon kanalları, hareketin yönüne göre açılıp kapanır (16).

Normalde endolenfde +80 mV (milivolt) luk bir endolenfatik potansiyel vardır. Endolenfteki pozitif elektrik yüküne karşılık, iç tüylü hücrelerde -45 mV, dış tüylü hücrelerde ise -70 mV negatif elektrik yükü vardır. Oluşan bu fark hücre içine doğru potasyum iyonlarının akımına sebep olur. Böylelikle oluşan elektriksel potansiyeller bir takım kimyasal transmitterlerin salgılanmasına neden olur. Oluşan bu transmitterler baziller membranda oluşan elektrik akımların kendileri ile ilgili afferent liflerine taşınmasını sağlarlar. Bu nörotransmitterin glutamat olduğu

düşünülmektedir. Sinir lifleri, ilgili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtırlar. Tüylü hücrelerin karakteristik frekansları ve non lineer özellikleri aynen sinir liflerinde de görülür. Böylelikle sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre korti organında kodlanır. Oluşan bu enerji sinir impulsları doğurarak, sesi VIII. sinir lifleri ile merkeze iletir. Uyarıları taşıyan lifler, ses frekanslarına göre beyinde değişik yerlerde sonlanırlar. Yüksek tonlarda uyarılan lifler, temporal lobtaki sylvian yarığında yerleşmiş olan işitme merkezinin derinliklerinde, düşük tonlarda uyarılanlar ise yüzeyde sonlanırlar (16).

2.2.5. Santral İşitme Sistemi

Santral işitme sistemi bir çok gelişimsel ve patolojik durumdan etkilenebilen, basit ve sözel olmayan uyanları tanımlayan ayrıca lisan gibi karmaşık uyanları tanımlayan ve ayırt eden bir çok nöral yollardan oluşmuş bir sistemdir (17).

ASHA'ya (American Speech Language Hearing Association) göre santral sinir sisteminin fonksiyonları;

1. Sesin lokalizasyonu ve lateralizasyonu
2. İşitsel ayırt etme
3. İşitsel şekil tanımlanması
4. Temporal rezolüsyon, temporal maskeleme, temporal sıralamayı kapsayan

işitmenin temporal özellikleri

5. Bir başka uyarın varlığında işitsel performans
6. Bozulmuş akustik uyarın varlığında işitsel performanstır (17).

VIII. sinir birkaç daldan oluşur; superior vestibüler sinir, sakküler sinir, inferior vestibüler sinir ve koklear sinir. Bu sinirler otik kapsülü kanallardan geçerek iç kulak yoluna girerler ve buradan n. facialis ve n. intermedius ile birlikte seyrederek. Koklear ve vestibüler sinirlerin yaptığı olukta, fasiyal sinir de bu sinirler arasına yerleşmiştir (18).

Koklea ve VIII. sinir, işitsel sinyale ait bilgi iletiminin ilk aşamasını temsil eder. Korti organındaki sensör hücrelerden çıkan sinir lifleri, primer işitme nöronu olan Spiral ganglion hücreleri aracılığıyla koklear nükleusa iletilir (17,19).

Koklear çekirdekler: Koklear çekirdekler bütün işitme sinir lifleri için ilk konaktır. Çekirdekler pontomedüller kavşakta bulunurlar ve simetrikler (17).

Süperior olivary kompleks ve olivokoklear demet: Superior olivary kompleks, ponsun gri cevherinin hemen arkasında ve ponsun alt kısmında yerleşmiştir (17).

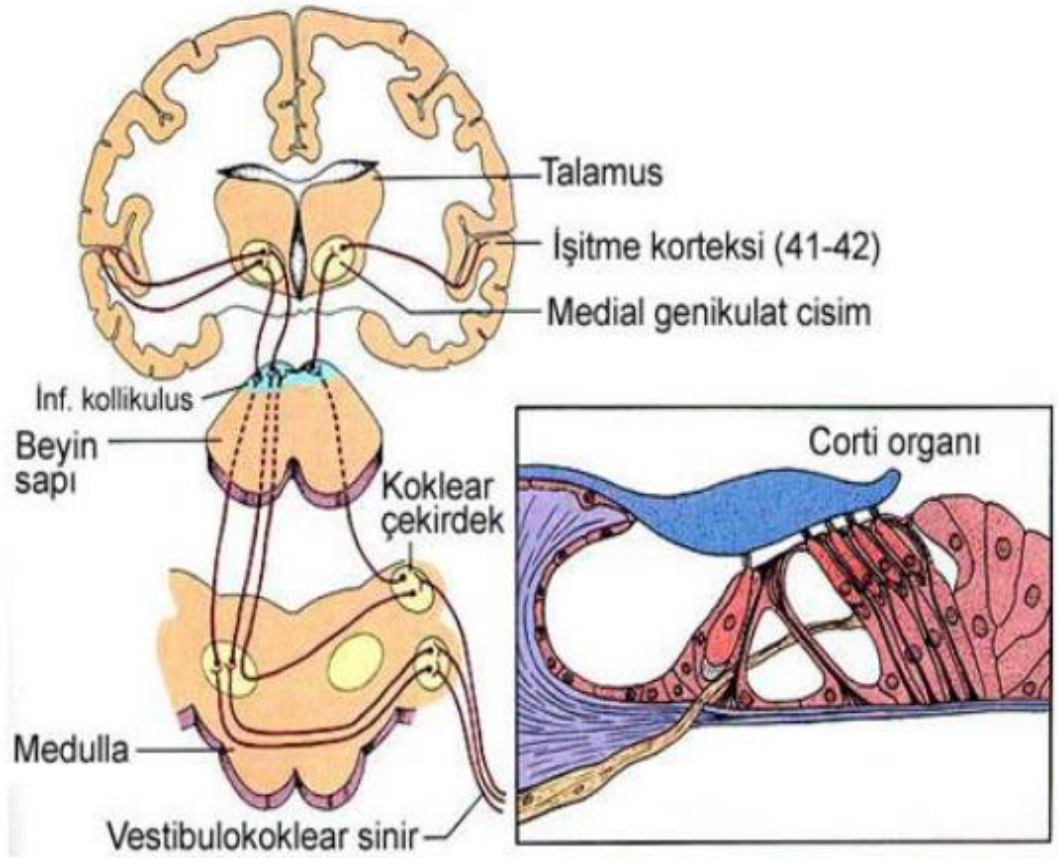
Lateral lemniskus: En önemli çıkan yoldur. Beyin sapının yan tarafında bulunur. Koklear çekirdekler superior olivary kompleksi inferior kollikulusa bağlar (17).

İnferior kollikulus: İki taraflıdır ve mezensefalonda yerleşmiştir. Beyin sapının tavanının bir kısmını yapar. Çıkan işitme lifleri için başlıca konağı oluşturur ve akustik bilgileri hazırlar. Alt beyin sapından gelenleri üst kısımdaki medial genikulat cisme ve işitme korteksine gönderir (17).

Medial genikulat cisim: Talamusta bulunur. Inferior kollikulus ile işitme korteksi arasında bir ara istasyondur (17).

İşitme Korteksi: Primer işitme korteksi ve ilişkili sahalar olmak üzere iki bölüme ayrılır. İlişkili sahalar hem akustik hem de diğer duysal girdileri alırlar. Temporal lobun üst kısmında bulunan primer işitme korteksi Brodmann sahası adını alır ve 41-42 diye numaralandırılmıştır. Spesifik ve nonspesifik ilişkili sahalar ile çevrelenmiştir (17-19).

Korti organında oluşan uyarılar ganglion spiraledeki (Korti ganglionu) sinir hücrelerinin dendritleri tarafından algılanır. Bu sinir hücrelerinin aksonları n.cochlearis adını alarak bu uyarıları ponsdaki koklear çekirdeklere götürür. Koklear nukleuslar, ventral nukleus ve dorsal nukleus olmak üzere iki gruptur. Ventral nukleus da kendi içinde antero-ventral koklear nukleus ve postero-lateral koklear nukleus olmak üzere ikiye ayrılır. Koklear nukleuslardan çıkan nöronlar işitme yollarının ikinci nöronunu oluştururlar. Bunların çoğu çaprazlaşarak karşı taraf superior olivary kompleksine, az sayıda lifler ise ipsilateral superior olivary kompleksine giderler. Superior olivary kompleks, işitme yolunun ilk merkezi olarak kabul edilebilir. Buradan geçen lifler lateral lemniskusu oluşturarak inferior kollikulusa gider. Inferior kollikulus mezensefalonda bulunur. Alt beyin sapından gelen uyarıları üst kısımdaki medial genikulat cisme ve işitme korteksine gönderir. Inferior kollikulustan sonra lifler talamusta bulunan medial genikulat cisme, oradan da temporal lobta bulunan işitme korteksine iletilirler (19,20).



Şekil 7: Santral İşitme Yolları (10)

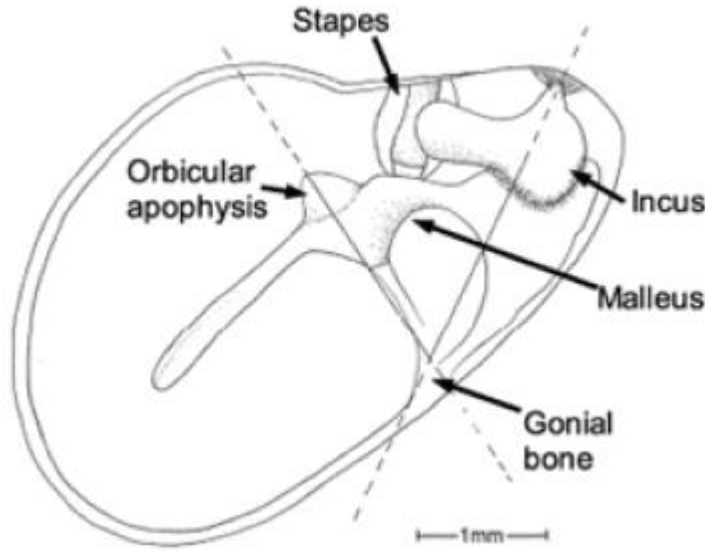
2.3 Sıçan Koklea Anatomisi

İnsanlar 16 Hz - 20 kHz arasındaki frekans aralığındaki sesleri duyarken sıçanlar 250 Hz – 80 kHz frekans aralığındaki ses dalgalarına duyarlıdırlar (21).

Sıçanlar, çabuk üreyebilmeleri, deney uygulamalarında kullanımının ve bakımının kolay olması ve kısa sürede genetik açıdan benzer nitelikte gruplar oluşturulabilmesi nedeniyle fizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda deney hayvanı olarak sıkça tercih edilirler (22).

Sıçanların orta kulakları insanlarınkine oldukça benzemekte olup insandaki gibi 3 kemikçik bulunur ve bu orta kulak kemikleri epitimpanik bölüme yerleşmiştir. Ancak insandan farklı olarak orta kulak kavitesi “otik bulla” adı verilen bir kemik yapının içinde yer alır. Stapesin her iki krusunun arasından stapediale arter geçer (23). Kemikçik boyutları insandakilerin %20-25’i kadar olup malleus, gonial kemik

bölgesinde timpanik anulusa yapışıktır ve malleus başı üzerinde “orbiküler apofiz” olarak adlandırılan geniş bir kitle vardır (24).



Şekil 8: Sıçan Orta Kulağı (24)

Koklea timpanik bulla içindeki en belirgin yapıdır ve timpanik bulla medial duvarının büyük bölümünü yapar. Kokleanın yerleşimi medio-lateral, postero-anterior ve çok az da süpero-inferior şeklindedir. Yapılan araştırmalarda kokleanın büyüklüğü açısından farklılıklar vardır. Göksu ve arkadaşları kobaylarda kokleanın 3,25 kez döndüğünü bildirirken Şehitoğlu ve arkadaşları 4,25 olarak bildirmişlerdir (25,26).

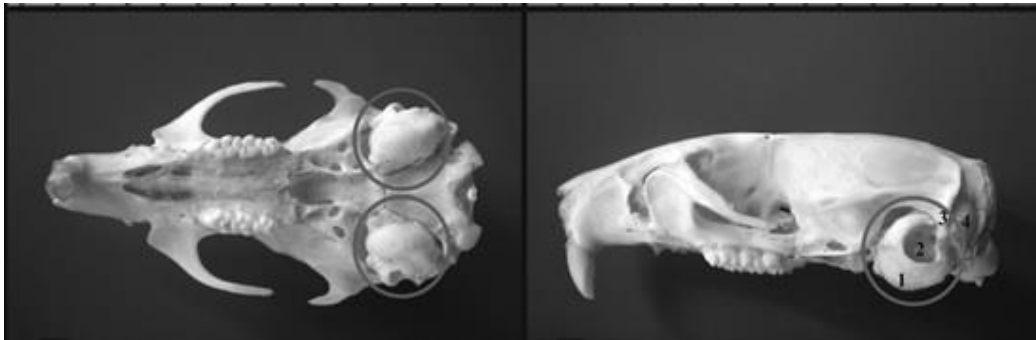


Şekil 9: Sıçan kokleası elektron mikroskop altında (X35) (25)

Koklea insanda olduğu gibi skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç bölümden oluşur. Oval pencerenin açıldığı skala vestibüli, yuvarlak pencerenin açıldığı skala timpani ile apikalde birleşir. Skala vestibüli ve skala timpani içerisinde perilenf bulunur. Skala media ise endolenf içeren kapalı bir kanal olarak apikalde sonlanır. Osseöz spiral lamina ve bazal membran skala timpaniyi, skala vestibüli ve skala mediadan ayırır. Skala media ve vestibüli arasındaki sınırı ise Reissner Membranı yapar. Skala media üçgen şeklinde bir kanal olup, tabandaki bazal membran üzerine korti organı yerleşmiştir. Ratlarda havalı hücre sistemi daha basit olup dört büyük hücreden oluşur ve insandaki trabekülasyon yoktur. İnsanda üç kemikten oluşan kemikçik zincir ratlarda malleoinkudal kompleks ve stapes olarak iki tanedir. Ratlarda östaki tüpü tamamen kıkırdak yapıdadır (25,26).



Şekil 10: Wistar Albino Rat (24)



Şekil 11: Sıçan Kafatası; A) Sıçan kafa tabanı alttan görünüş işaretli alanlar timpanik bulla; B) Sıçan kafası lateral görünüm 1- Bulla 2- Dış kulak yolu kanalı 3- Skuamöz kemik (25)

2.4. OTO AKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonları (OAE), kokleada dış tüylü hücrelerden kaynaklanan ve DKY'ye yerleştirilen duyarlı bir mikrofonla kaydedilebilen çok düşük şiddetteki nonlinear akustik sinyaller olarak tanımlamak mümkündür. Otoakustik emisyon testi odyolojinin objektif testlerindendir. Otoakustik emisyonlar, genellikle kanal içine yerleştirilen bir prob aracılığıyla kulağa sunulan uyaranlara yanıt olarak kaydedilir. Dış kulak kanalına yerleştirilen bir prob, uyaran sunan hoparlör ve kokleada oluşup orta kulaktan dış kulağa iletilen OAE yanıtlarını kaydeden bir mikrofon içerir. Mikrofon ile alınan sesler sinyal ortalama yöntemi kullanılarak işlenir ve dijitalize edilir. Otoakustik emisyonları elde edebilmek için açık bir dış kulak kanalına gerek vardır. Emisyonların kaydedilebilmesi için orta kulakta önemli bir patolojinin bulunmaması ve kokleadaki DTH'lerin işlevini yitirmemiş olması gerekir (27).

Tarihçe: Otoakustik emisyonların ortaya çıkışının öyküsü iç kulak araştırmalarına dayanmaktadır. 1948 yılında fizikçi Thomas Gold, George Von Békésy'nin geliştirdiği ilerleyen dalga teorisinde, kokleaya pasif bir rol biçilmesinin aksine, kokleaya aktif bir modelin daha uygun olduğunu ileri sürmüştür. Teknolojik gelişmeler sonucunda İngiliz sinyal işlemcisi David Kemp'in 1978 yılında OAE'leri keşfetmesiyle, kokleanın aktif bir organ olduğu ve beyin gibi büyük oranda nonlinear ilişkiler sergilediği doğrulanmıştır.(27).

Son yıllarda yapılan çok sayıda bilimsel çalışmayla desteklenen aktif koklea modeline göre; akustik dalgaların şiddetindeki artışa paralel olarak baziler membran üzerinde ilerleyen dalgaların genliklerindeki artış, düşük şiddetlerde doğrusal iken, orta ve yüksek şiddetlerde (artış oranının düşmesine bağlı olarak) nonlinear bir karakter kazanmaktadır. Bu modele göre, baziler membranın bu davranışından sorumlu aktif bir mekanizma bulunmalıdır. "Koklear amplifikatör" adı verilen bu mekanizma, düşük şiddetlerdeki akustik uyaranların baziler membranda oluşturduğu dalgaların amplitüdünün artmasına ve ince frekans seçiciliğinin ortaya çıkmasına neden olur (27).

Otoakustik emisyon test yönteminin avantajları:

1. Objektiftir (27).
2. Güvenilirliği yüksektir (27).
3. Test süresi çok kısadır (27).

4. Genellikle DTH'nin aktivitesini yansıtır (27).
5. Noninvaziv bir tekniktir. Anestezi veya sedasyon gerektirmez (27).
6. Pahalı değildir. Sarf malzemesi gerektirmez (27).
7. Hastanın genel durumundan bağımsızdır. Simulasyon yaptığı düşünülen kişilerde, mental retarde hastalarda kolaylıkla uygulanabilir (27).

Otoakustik emisyon testinin klinikte kullanım alanları:

1. Gürültüye bağlı işitme kaybının erken tanısında (27)
2. İşitsel nöropati tanısında (27)
3. Ototoksik ilaç kullanan hastalarda işitme monitorizasyonunda (27)
4. Koklear-retrokoklear işitme kaybı ayırımında (27)
5. Kokleanın, özellikle DTH'nin işlevinin yerinde olup olmadığının gösterilmesinde (27)
6. Odyolojik değerlendirme için güvenilir yanıt vermeyen özellikle çocuklarda ve genç yaş hasta gruplarında (otistik, mental retarde vb olan hastalar) işitmenin normal olup olmadığının tespitinde (27)
7. Yeni doğanlarda ve bebeklerde işitme kaybı taramalarında (27)
8. Diğer odyolojik testlerin sağlamlasının yapılmasında (27)
9. Medial superior olivary kompleks kökenli supresyonun araştırılmasında (27)

Otoakustik emisyon türleri ve özellikleri:

Otoakustik emisyonlar, akustik bir uyaran olmaksızın ortaya çıkan, spontan otoakustik emisyonlar, akustik bir uyaran varlığında kaydedilen, uyarılmış otoakustik emisyonlar olmak üzere iki sınıfta incelenebilir (27).

Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE):

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE) herhangi bir uyaran olmaksızın DKY'den kayıt edilebilen dar bantlı, düşük yoğunluklu akustik sinyallerdir (28). Spontan Otoakustik Emisyonlar'ların oluşum mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte dış tüylü hücrelerin aktivitesi sonucunda oluştukları kabul edilmektedir (29). Normal dış, orta ve iç kulak fonksiyonlarına sahip bireylerin %40-60'ından SOAE elde edilebilir. Bu durum SOAE'lerin klinik yararını düşürür. Spontan Otoakustik Emisyonlar 30 dB HL'i aşan işitme kayıplarında elde edilemez. Bir kulakta

SOAE'lerin saptanmasının nasıl yorumlanması gerektiği henüz tartışmalı bir konudur (27).

Spontan OAE'lerin amplitüdü genellikle -15 ile 0 dB SPL arasındadır. Spontan Otoakustik Emisyonlar DKK içindeki mevcut gürültü içinden 800 ve 4000 Hz arasında dar pikler olarak ortaya çıkarlar. En fazla ortaya çıktığı frekans aralığı 1-2 kHz arasındadır. Bu orta kulağın ters iletim fonksiyonunun en etkili olarak 1-2 kHz arasında olmasına bağlanabilir (27). Spontan Otoakustik Emisyonlar ototoksik ilaçlardan ve gürültüden etkilenir, yaş ilerledikçe görülme sıklığı azalır (27).

Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar:

Akustik bir uyarana cevaben ortaya çıkan emisyonlardır. Farklı uyarın tiplerine göre 3 grupta incelenir (27).

a. Uyarın Frekansı Otoakustik Emisyonlar (Stimulus frequency OAE, SFOAE): Uyarın frekansı OAE tekniğinde, uyarın olarak kesintisiz saf sesler kullanılır. Bu tip OAE'lerin frekansa spesifikliği yüksek olmasına karşın klinik kullanımı; yüksek donanım gerektirmesi, uyarınla yanıtın zaman bakımından birbirine yakınlığı ve emisyonların kayıt edilmesindeki güçlük nedeniyle yaygınlaşmamıştır (27,30).

b. Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar (TEOAE): Transient evoked otoakustik emisyonlar, geniş bantlı klik veya sınırlı bir frekansa sahip (tone burst) akustik uyarınlarla elde edilir. Klik uyarınla ortaya çıkan OAE'lerin frekans aralığı oldukça geniştir. Klik uyarınla elde edilen OAE'lerin spektral çözümlemesi yapılarak yanıtın frekansa özgü dağılımını görmek mümkündür. Tonal uyarınlarla ise, frekansa özgü yanıtın elde edilir (27). Ölçüm için genellikle 80 dB SPL şiddetinde bir ses kaynağı ve 260 adet uyarın kullanılır. Transient Evoked Otoakustik Emisyonların zayıf olması (30 dB'in altında) ve uyarın şiddetindeki artışla nonlineer olarak gelişmesi nedeniyle, sinyallerin incelenmesinde nonlineer metod için yazılımlar kullanılır. Oluşan cevaplar uyarılara göre gecikerek ortaya çıktığı için, 20 ms'nlik kayıt aralığının ilk 2 ms'n'si sıfırlanarak çizdirilir. Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar tüm kokleayı uyarın ve geniş band sinyal olan klik şeklindeki uyarıya cevap olarak meydana geldikleri için, frekanslar hakkında DPOAE'lar kadar spesifik bilgi verememektedir. Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar işitmesi

normal olan bireylerin % 98-100'ünden alınabilir. İşitme kaybı 25-30 dB SPL'i geçerse saptanamaz (31,32).

c. Distortion Product Otoakustik Emisyonlar (DPOAE):

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar eş zamanlı olarak, farklı frekanslardaki iki saf sesin kokleaya sunulmasının ardından ortaya çıkan cevaplardır. Bu iki saf ses (f_1 ve f_2) temel frekanslar olarak adlandırılırlar. Dış kulak yolundan gönderilen iki uyaran sese karşılık, koklea normal nonlineer cevabının bir sonucu olarak farklı bir frekansta (f_3), kendisine ait başka bir ses meydana getirecektir ki, distortion product (bozulmuş, değişmiş ürün) ismi de buradan gelmektedir. Ortaya çıkan OAE'nin (f_3) frekansı, uyaran temel frekanslardan farklıdır, ancak matematiksel olarak temel frekanslarla ilişkilidir. f_1 ve f_2 dış uyaran olarak gönderilirken, bu ilişkinin fonksiyonu $2f_1-f_2$, $3f_1-f_2$, $2f_2-f_1$ gibi farklı şekillerde olabilir (27,33). En belirgin emisyon $2f_1-f_2$ frekansında alınır ki, bu da DPOAE'lerin bazal membranda oluşma yerinden kaynaklanmaktadır (34-37). Kokleanın bu bölgesindeki DTH'in fonksiyonunu en iyi şekilde yansıtır (38). $2f_1-f_2$ 'nin işitme sisteminde gönderilen sesin kübü ile orantılı bir ses komponentini içeren yansıma yarattığı kabul edilmektedir. İç kulağa f_1 ve f_2 olarak iki ayrı frekansta gönderilen seslerin arasındaki oranın 1.22 olduğu durumda en yüksek amplitüdlü emisyon alınacağı gösterilmiştir (35,39,40). Distortion product otoakustik emisyonların elde edilmesinde temel frekansların arasındaki oran önemlidir. Uyaran şiddetleri (L_1 ve L_2) arasındaki oranın da DPOAE amplitüdleri üzerine etkisi vardır. İnsanlarda en yüksek amplitüdlü DPOAE iki uyaran arası fark ($L_1 > L_2$) 10-15 (75/65, 65/55 vb) olduğunda kayıt edilir (27).

Kulak yoluna iki ayrı frekansta ses vermek için iki minyatür hoparlör ve kokleanın cevabını kayıt etmek için bir minyatür mikrofona ihtiyaç vardır (41). İç kulağın iki ayrı frekansta uyaran ile uyarılması, iç kulakta yayılan bu iki dalganın birbirleri ile etkileşmesine ve iki dalganın birbirleri ile girişim gösterdiği ses tonlarında, daha düşük amplitüdlü bir cevabın oluşmasına neden olur. Oluşan cevap DKK'ya kadar yansır ve hassas mikrofonlar aracılığı ile kayıt edilir (42). Artefakt seviyesinin 20 dB'nin üzerinde olması durumunda cihaz otomatik olarak veri toplamayı durdurur. Test edilen frekanstaki emisyon cevabının S/N (sinyal/gürültü)

oranının +6 dB ve üzerinde olması durumunda o frekansta emisyon cevabı var kabul edilmektedir. Ayrıca test ekranında probun kulak kanalına doğru yerleştirildiğini gösteren prob fit olarak adlandırılan ve uyarının spektral özelliğini gösteren iki küçük pencere vardır (27).

Distortion product otoakustik emisyonların sinyal çıkarma özelliği 4-5 kHz üzerindeki frekanslarda, TEOAE'dan daha üstündür ve konuşma frekanslarının üzerindeki işitme kaybı için belirleme yaparken önemlidir. Distortion product otoakustik emisyonların yüksek hassasiyet ve iyi frekans özelliği gösteriyor olması, normal duyma fonksiyonu olanlarla, ciddi dış tüylü hücre lezyonu olan olguları birbirinden ayırma imkanı vermektedir (43).

2.5 ABR (Auditory Brainstem Response)

Tarihçe:

Beyinde elektriksel olayların varlığı hayvanlarda 1875 yılında Caton tarafından tespit edilmiştir. Bundan sonra 1929 yılında Hano Berger insan beyninin elektriksel aktivitesinin varlığını ortaya koymuştur. Elektroensefalografi (EEG) adı verilen bu grafikte beynin elektriksel aktivitesi, kafatasına yerleştirilen elektrotlardan galvanometre cihazı ile kaydedilmiştir. Ardından Berger 1930 yılında bu dalgaların sesle ve gözlerin açılıp kapanmasıyla değişikliğe uğradığını tespit etmiştir. Ancak bilim çevrelerince; kaydedilen bu dalgaların cihaz kaynaklı olduğu insan beyni kaynaklı olmadığı görüşü kabul görmüştür.

1934 yılında EEG traseleri Adrian ve Mathews tarafından gösterilmiştir (44).

Uyanık insanda ses uyarısıyla EEG'de meydana gelen değişiklikler ilk olarak 1939 yılında P.A.Davis tarafından kayıt edilmiştir. Aynı yıl uyuyan insan beyninden, buna benzer kayıtlar, H.Davis ve arkadaşları tarafından elde edilmiştir. Clark ve arkadaşları 1958 yılında bilgisayarla sayı farkı yönteminini uygulamış ve 1965 yılında yöntemler geliştirilerek Engebretson ve arkadaşları tarafından günümüz tekniği oluşturulmuştur (44).

İşitsel Uyarılma Potansiyellerinde Temel Kavramlar

Ses Uyarıları

İşitsel uyarılma potansiyellerinin elde edilmesinde kullanılan uyarılar frekans bantlarına göre 3 sınıfa ayrılırlar; Klik uyarılar, Tone-Burst uyarılar, Özel şartlar için yaratılmış uyarılar (45).

Klik uyarılar

Bir ses üreticine gönderilen ve dikdörtgen şeklinde bir elektrik pulsu tarafından oluşturulan ses uyarısına klik adı verilir. Klik uyarının amplitüdü desibel olarak ölçülür. Teorik olarak çok kısa süreli ve dikdörtgen dalga biçimindeki bir elektrik pulsu tüm frekansların toplanmasından oluşur. Buna bağlı olarak klik uyarının geniş bir frekans spektrumu olması ve tüm kokleayı uyarması beklenir (45,46).

Ancak pratikte klik uyarının frekans özelliklerinin uyarının amplitüdü, ses üreticinin elektroakustik özellikleri, dış kulak yolu ve orta kulağın ses iletim özellikleri ve kokleanın bütünlüğü tarafından etkilendiği görülmektedir. Bu faktörlerin etkisiyle klik uyarı, kokleanın daha çok 2-4 kHz bölgesini etkilemektedir. Klik üretmek için kullanılan elektrik pulsunun pozitif veya negatif olmasına bakılarak 3 tip klik tanımlanmıştır (45,46).

Rarefaction Klik: Klik üretmek için üreticinin bağlantısına bağlı olarak negatif bir elektrik pulsu kullanılırsa, ses üreten cihazın diyaframı kulak zarından uzaklaşır yönde geriye doğru çekilir. Bunun sonucunda dış kulak yolu ve orta kulakta negatif basınç dalgaları oluşur. Kulak zarı dış kulak yoluna doğru çekilir. Bu hareket kokleayı ve dolayısıyla baziller membranı etkiler. Bu tip uyarana rarefaction klik adı verilir (47).

Condensation Klik: Pozitif bir elektrik pulsu ses üreticinin diyaframını kulak zarı yönüne, yani ileri doğru iter. Bu olay pozitif basınç dalgalarına yol açarak kulak zarını orta kulak yönüne doğru hareket ettirir. Hareketin mekanik iletimi sonunda baziller membrana yansır ve uyarana bir cevap üretilir (47).

Alternating Klik: Alternating klik ayrı bir klik tipi olmayıp, rarefaction ve condensation kliklerin birbiri ardı sıra uygulanmasıyla elde edilir. Alternating klik daha çok uyarıya bağlı artefaktların yok edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Normal işiten kulaklarda bu üç tip uyarıyla benzer sonuçlar alınır. Ancak eğimi yüksek olan işitme kayıplarında elde edilen cevaplar farklıdır (47).

Tone-Burst Uyarılar: Klik uyarının geniş bir frekans bandı vardır ve kokleanın bütün frekans alanlarını aynı anda uyarır. Bu nedenle frekans spesifik ABR kayıtları yapabilmek

için kısa süreli tonal uyarılar kullanılır. Bu tür ses uyarıları tone-burst veya tone-pip olarak adlandırılırlar. İşitsel cevap oluşturacak ideal bir tone-burst uyarı, yalnızca bir frekanstan oluşmalı ve her amplitüdde enerjisini korumalıdır. Bu sayede kokleanın sadece istenen frekans bölgesi uyarılmış olur (47).

ABR ses uyarını verildikten sonra ilk on saniyede görülen yedi dalga pikinden oluşur. Ses uyarınının santral yollardaki sinapslarda yaptığı deşarjdan oluştuğları kabul edilir (47). Buna göre;

I.Dalga; Akustik sinirden

II.Dalga; Koklear nükleus ve proksimal akustik sinirden

III.Dalga; Superior olivar kompleksten

IV.Dalga; Ponsta lateral lemniskustan

V.Dalga; İnferior kollikulustan

VI.Dalga; Talamusta korpus genikulatum mediale

VII.Dalga; Talamokortikal bölgeden kaynaklanır (47).

Bununla ABR her dalga kendi nükleusunun etrafındaki diğer nükleuslardan da etkilenmektedir. Bu durum ABR oluşma mekanizmasının bire bir yapılaşma yerine, her dalganın birkaç çekirdeğin oluşturduğu kompleksten meydana geldiği gerçeğini ortaya çıkarmıştır (48).

ABR’de değişkenler

İşitsel beyin sapı cevaplarının değerlendirilmesinde; yöntem kaynaklı çok sayıda seçenek nedeniyle, patolojik değişimleri anlayabilmek için yöntemin normal değişimlerini bilmek gerekir. Gerek normal,gerekse de patolojik şartlarda ABR’nin gösterdiği değişimlerin değerlendirilmesinde temel olarak üç kriter esastır (49,50):

1-Latans

2-Amplitüd

3-Morfoloji

Latans: Uyarının başlangıcından, cevabı oluşturan dalga veya dalga kompleksinin pozitif veya negatif tepe noktasının bulunduğu yere kadar geçen zaman dilimidir (49,50).

Amplitüd: Cevabı oluşturan dalga formunun pozitif ve negatif tepe noktaları arasında kalan ve çeşitli şekillerde ölçülebilen dikey mesafeye denir. Mikro volt cinsinden ölçülür. Temel prensip, taban hattı ile pozitif tepe noktası arasındaki dikey

mesafenin ölçümüdür. İkinci ölçüm şekli negatif amplitüd tayinidir. ABR’de genellikle bu yöntem kullanılır. Pozitif ve negatif tepe noktalarından, taban hattına paralel olarak geçen hatlar arasındaki dikey mesafe, negatif amplitüdü verir (49,50).

Morfoloji : Dalga veya dalga kompleksinin genel yapısını ifade etmek üzere kullanılan bir terimdir. Değerlendirilmesi kalitatif ve kantitatif olarak yapılabilir. Kalitatif değerlendirme tamamen subjektiftir. Buna karşın kantitatif değerlendirme, spektral analiz gibi çok zor metodlarla yapılabildiğinden klinik uygulamalarda yer almamaktadırlar (49,50).

ABR’de uyarıya bağlı değişimler

Uyarı Şiddeti: En belirgin ABR değişiklikleri kullanılan uyarının şiddetine bağlı olarak ortaya çıkanlardır. Eşik altındaki uyarı düzeylerinde hemen hemen düz bir trase görülürken, eşiğin hemen üzerinde V. dalga 9 ms civarında bir latans ile ortaya çıkmaktadır. Orta düzeylerdeki ses şiddetlerinde III. dalga da açıkça görülebilirken, I,II ve IV. dalgalar ancak yüksek şiddetlerde belirginleşmektedir. Bunlardan II ve IV. dalgalar değişkendir ve her insanda elde edilemeyebilir. Yine VI. ve VII. dalgalar da değişkenlik özelliğine sahiptir. Bu nedenle klinik uygulamalarda I,III ve V. dalgalar teşhis aracı olarak kullanılırlar (51).

Uyarı şiddetinin değişmesi ABR’nin temel kriterlerinin her üçünü de etkiler (51). Yapılmış çalışmalar sonucunda; azalan şiddetle latansların geciktiği, amplitüdlere azaldığı ve morfolojilerinin bozulduğu görülmüştür. Şiddet azalmasıyla birlikte ABR’de latans artışı ve amplitüd azalması birbirine paralel bir seyir göstermez. ABR’de uyarı şiddetinin amplitüdlere etkisi; latanslar kadar araştırılmış bir konu değildir. Azalan şiddetle ABR’nin tüm komponentlerinde amplitüd azalması olduğu genel bir görüştür. Bu nedenle I. dalganın, orta stimulus şiddetlerinden itibaren tanınabilir olmaktan çıktığı ifade edilmektedir. Çeşitli araştırmacılar, I. dalganın davranış eşiğinin yaklaşık 40-50 dB üzerinde izlenebilir amplitüdde elde edildiğine dikkat çekmişlerdir. İzlenebilir amplitüdde olmak üzere V. dalga davranış

eşiğinin 5-15 dB, III. dalga ise davranış eşiğinin 20-30 dB üzerinde edilebilmektedir. Giroux ve Pratt test edilen kişinin elektrofizyolojik eşiğinin saptanmasında, davranış eşiğinin çok yakınlarına kadar izlenebilir amplitüdde olmasından dolayı, V. dalganın esas alınması gerektiğini belirtmektedirler (51,52).

ABR’de azalan uyarı şiddeti ile birlikte dalgalar arası latanslarda herhangi bir değişiklik olmamaktadır. Elektrofizyolojik eşik yakın şiddet düzeylerinde test yapılırken test prosedürünün çok dikkatli uygulanması, test sahasındaki cihazların sebep olduğu elektromanyetik alan ile test edilen kişiye ait EEG’nin, cevapları etkilemesine izin verilmemelidir. Bu düzeylerde esasen çok küçük amplitüde sahip olan işitsel potansiyeller, bu yabancı potansiyellerden etkilenir ve sonuçta elektrofizyolojik eşik rölatif olarak düşebilir veya yükselebilir (51,52).

Uyarı Frekansı: Klik uyarının spektrumunun bütün frekansları kapsamaması nedeniyle Click-ABR, test edilenin odyogramı hakkında sadece ortalama bir fikir verir. Eğer odyogramın şekli elde edilmek isteniyorsa frekans belirliliği olan uyarılarla yapılan ABR’yi tercih etmek gerekir (51,52).

Frekans belirliliği olan uyarılar spektrumları belirli bir frekansta yoğunlaşan uyarılardır. Bunlar arasında en çok kullanılanları tone-burst, tone-pip, logon, filtrelenmiş klik ve diğer şekillendirilmiş uyarılardır. Frekansı belirli uyarılarla elde edilen uyarılara “ Frekansa Bağlı Cevaplar (Frequency Following Response-FFR)” denilmektedir.

Odyogram şeklinin elde edilmesi gerektiği hallerde kullanılacak FFR için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu tekniklerden en iyisi Tone-ABR’dır. Frekans belirli uyarılarla elde edilen cevaplar kesin sonuçlar vermelerine rağmen, uygulaması uzun zaman gerektirdiğinden pratikte pek kullanılmamaktadır. Ayrıca bu cevapların gerek elde edilmeleri, gerekse de elde edildiklerinde tanınabilmeleri oldukça güçtür. Çünkü bu tür kayıtlar geniş bantlı EEG filtrelerine ihtiyaç gösterirler (51,52).

Uyarı Tekrarlama Oranı: ABR’de normal değişimlere neden olan bir diğer faktör de uyarının saniyedeki tekrarlama oranıdır. Bu oranın değişimi ile yapılan kayıtlar pratikte, retrokoklear patolojilerin normal cevaplardan ve koklear patolojilerden ayırıcı tanısında kullanılmaktadır. Birçok yazar uyarı tekrarlama oranının yükseltilmesiyle ABR dalga latanslarının arttığını, koklear patolojilerde ise bu artışın çok ileri boyutlara vardığını belirtmektedir (51,52).

Uyarı tekrarlama oranındaki artıştan ABR dalgalarının amplitüdlere de etkilenir. Bu konudaki genel görüş oranın artışı ile amplitüdlerin azaldığı yönündedir (53).

Uyarı Polaritesi: ABR'yi etkileyen faktörlerden birisi de polaritedir. Polaritenin cevapların latans ve amplitüdünü anlamlı olarak etkilemediği belirlenmiştir. Ancak polaritenin değişmesi ile dalga morfolojisi belirgin şekilde etkilenmektedir (52).

ABR'de Kayıt Şartlarına Bağlı Değişimler

Kayıt filtreleri: Standart klik uyarılarla elde edilen ABR'lerde kullanılan ve 100-3000 Hz arasında değişen kayıt bandı ile frekansa bağlı cevapların ortaya çıkarılması mümkün değildir. Filtreleme donanımı amplitüd başta olmak üzere işitsel cevapları etkiler. Bu ilk defa Suzuki ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir. Genellikle iyi bir kayıt 50 veya 100 Hz arasındaki düşük frekans filtreleme ortamı ile elde edilir (51-54).

Elektrot lokalizasyonu: Uyarılmış işitme potansiyellerinin yüksek voltajda elde edilmesi, bu potansiyellerin üretildiği alanlara en yakın noktada ve uygun pozisyonda yerleştirilen elektrot lokalizasyonu ile mümkündür (51-54).

ABR'de Hastaya Bağlı Değişikler

Yaş: ABR'de hastaya bağlı meydana gelen en önemli değişiklik yaşla ilgili olanlardır. İşitme yollarındaki matürasyonla ABR'lerin latansın azaldığı ilk defa Jewett ve Romano tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmalarda en belirgin ve en stabil potansiyel olması nedeniyle V. dalga, matürasyonun göstergesi olarak kabul edilmiştir (51-54).

Cinsiyet: Erişkin kadınlarda ABR dalga latansları erkeklere oranla daha kısadır. Erken komponentlerde bu daha azdır ve I. dalgada hemen hemen hiç farklılık yoktur. Sonuçta I-V intervali kadınlarda erkeklerden 0.2-0.4 ms daha kısadır (51-54).

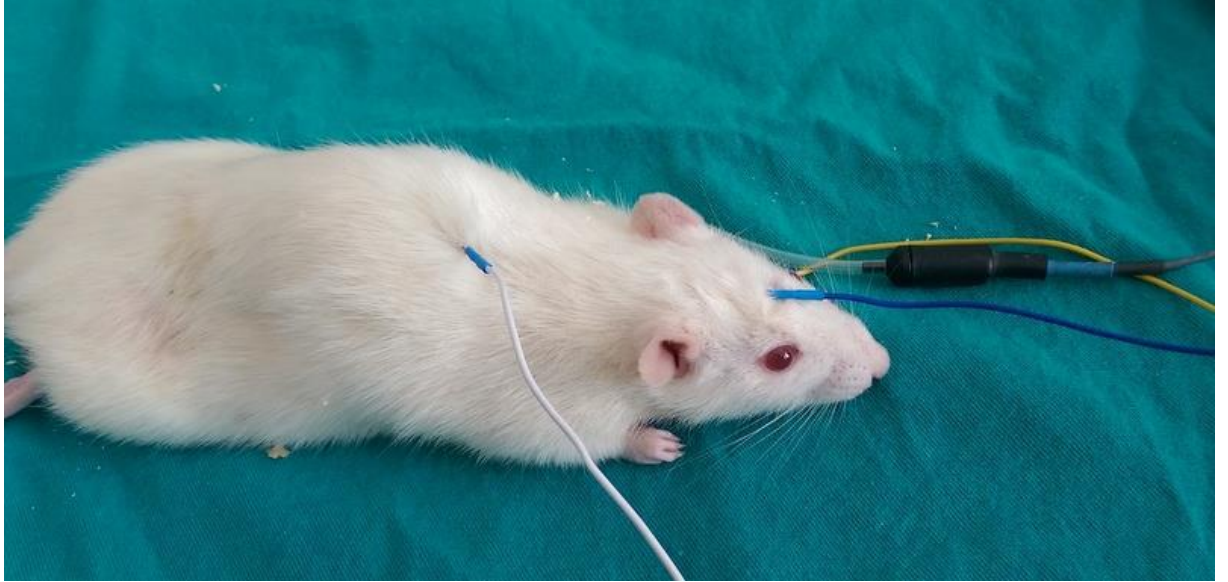
Vücut ısı: Artan beden ısısının işitme siniri fibrillerindeki iletim hızını arttırması nedeniyle ABR latanslarında kısalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Hipoterminin dalga latanslarını geciktirir (51-54).

Sıçan ABR dalgaları ve değerlendirilmesi birkaç noktadan farklılık gösterir. Dalganın 4 başlıca 4 komponenti vardır. I. Dalga işitme siniri, II. Dalga koklear çekirdek, III. Dalga superior olivary çekirdek, IV/V. Dalga lateral lemniscus ve/veya inferior kollikulusu temsil eder. IV/V. Dalganın latans süresi ve I - IV/V. Dalga arasındaki latans süresi başlıca dikkate alınan parametrelerdir (54).

2.6 Ratlarda ABR Özellikleri

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda insan kulağına benzerlik açısından en yakın rat kulağı olarak belirlenmiştir. Genellikle yapılan ölçümler ve sonuçları benzerlik gösterse de farklılıklar bulunmaktadır. Literatürde ratlarda yapılan ABR incelmelerinde dalga sayıları hakkında farklı rakamlar verilmektedir. Ratlarda yapılan ABR ölçümlerinde ilk dört dalganın önemli olduğu ve değerlendirmelerin bu dalgalar üzerinden yapılması gerektiği bildirilmiştir (55).

Ratlarda ABR ölçümü genel anestezi altında cilt altı iğne elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Elektrot yerleşimi; aktif elektrot vertexte referans elektrotlar her iki mastoid üzerinde ve topraklama elektrotu sırt bölgesinde olacak şekilde cilt altına yerleştirilmelidir (56).



Şekil 12. Ratlarda ABR Testinde Elektrot Yerleşimi (56)

2.7 Sisplatin

Sisplatin ((SP-4-2) diamin dikloroplatin) çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılan kemoterapötik bir ajandır. Bu kanserlerden bazıları testiküler kanser, overyan kanser, serviks kanseri, meme kanseri, mesane kanseri, baş-boyun kanserleri, akciğer kanseri, beyin tümörleri ve nöroblastomlardır (57).

Yaygın yan etkileri kemik iliği supresyonu, işitme bozukluğu, renal bozukluklar ve kusmadır. Ayrıca alerjik reaksiyonlar, elektrolit bozuklukları ve kalp

rahatsızlıklarına da neden olabilmektedirler. Gebelikte kullanımı bebeğe zarar verir. Etki mekanizması DNA bağlanarak DNA replikasyonunu engellemek şeklindedir (57).

Sisplatin 1845 yılında keşfedilmiş olup tıbbi amaçlı kullanımı 1978/1979 yıllarında olmuştur. Dünya Sağlık Organizasyonu'nun en etkili ve güvenli ilaçları listesinde yer almaktadır (57).

Tıbbi Kullanımı:

Sisplatin solid malignansilerin tedavisinde salin içerisinde intravenöz infüzyon şeklinde kullanılır (58).

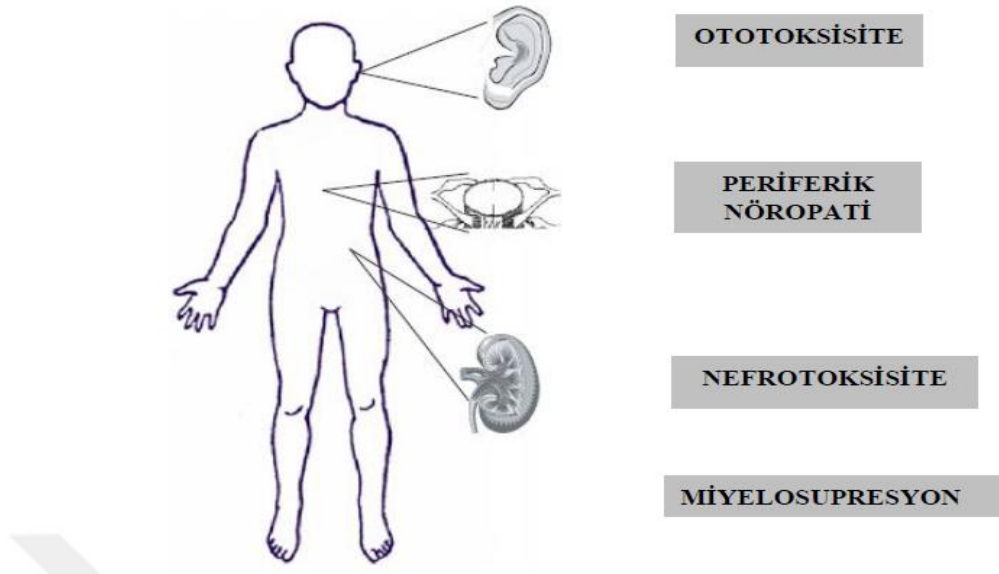
Yan Etkiler:

-Nefrotoksisite: Böbrek hasarı temel bir konudur ve kreatinin klirensi azaldıkça doz düşürülmelidir. Renal hasarı önlemek için yeterli hidrasyon yapılmalıdır. Nefrotoksisite reaktif oksijen radikalleri ile ilgilidir ve doz kısıtlayıcı niteliktedir (58).

-Nörotoksisite: Tedavi başlangıcından hemen sonra görsel algıda ve işitmede bozukluklar olabilir (59).

-Bulantı ve Kusma: Sisplatin en emetojenik kemoterapi ajanlarından biridir ancak bu semptom kortikosteroid ile kombine profilaktik antiemetikler (ondansetron, granisetron vb.) ile giderilebilir (59).

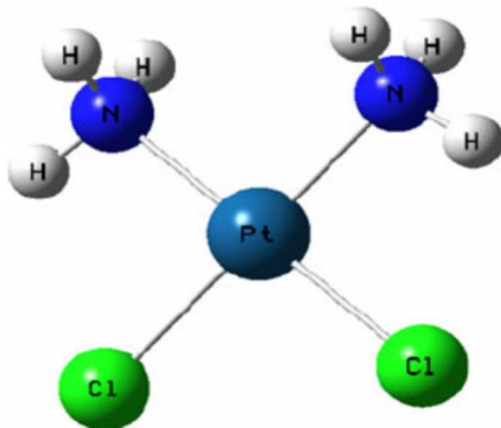
-Ototoksisite: Çok ciddi olabilen bu yan etkiyi önlemek için bilinen etkili bir tedavi bulunmamaktadır. Ototoksisitenin değerlendirilmesinde odyometrik çalışmalar yapılabilir. Aminoglikozit gibi bazı ilaçlar da ototoksisiteye neden olabilir. Bu nedenle sisplatin tedavisi alan hastalarda diğer ototoksik ilaçların kullanımından kaçınılmalıdır. Sisplatin ve aminoglikozitlerin ototoksisitesi iç kulaktaki stria vasküleriste bulunan melanine bağlanmalarından ve reaktif oksijen radikalleri üretmelerinden kaynaklanmaktadır.(60)



Şekil 13: Sisplatinin sık görülen yan etkileri (58)

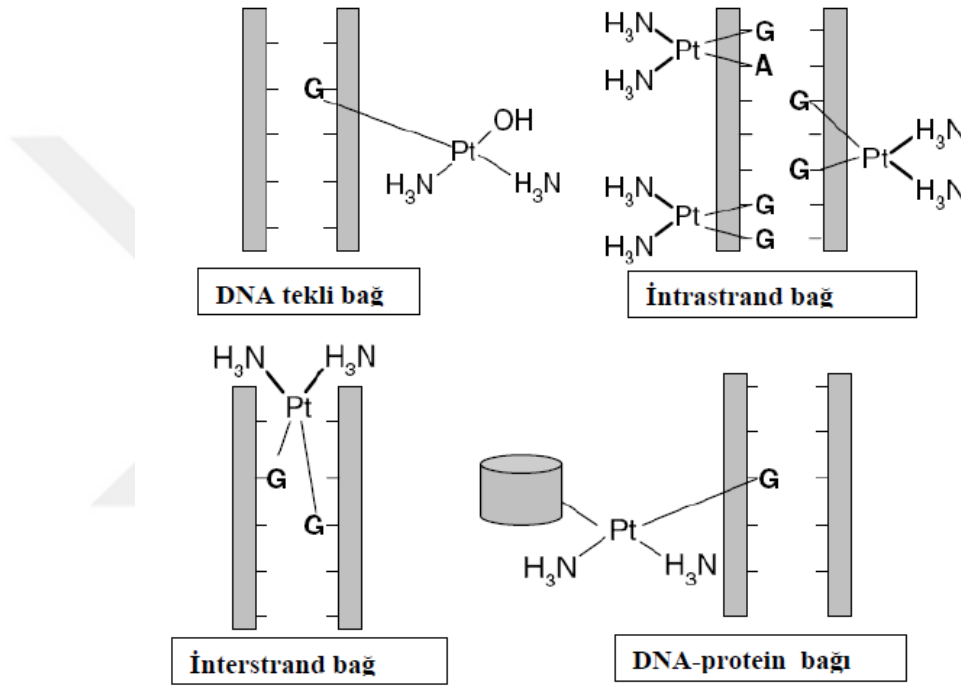
Etki Mekanizması:

Sisplatin DNA replikasyonunu önler ve bu da teorik olarak en hızlı çoğalan hücreler olan karsinojenik hücreleri öldürür. Uygulanmasının ardından iki klor atomundan bir tanesi su molekülü ile yer değiştirir ve su kompleksi cis-[PtCl(NH₃)₂(H₂O)]⁺ oluşturur. Klor atomunun yer değiştirmesi yoğunlukla hücre içerisinde gerçekleşir çünkü hücre içi klor konsantrasyonu, yaklaşık olarak 100mM olan ekstrasellüler sıvının sadece %3-20'si kadardır (61,62).



Şekil 14: Sisplatin Moleküler Yapısı (61)

Cis-[PtCl(NH₃)₂(H₂O)]⁺'de bulunan su molekülü DNA'daki N-heterosiklik uçlarla kolaylıkla yer değiştirebilir ve genellikle yer değişimi guanin ile olur. Bu işlem sonrasında [PtCl(guanine-DNA)(NH₃)₂]⁺ oluşur ve diğer guanin moleküllerine bağlanarak DNA içerisinde çapraz bağlanmalar oluşturur (80). Çapraz bağlanmaların bulunduğu DNA molekülü mitozu gerçekleştiremez ve DNA tamir mekanizmaları devreye girer. Tamir mümkün olmadığı durumlarda da apoptotik süreç başlamaktadır (63).



Şekil 15: Sisplatinin DNA Bağlanma Çeşitleri (63)

Sisplatin sıklıkla alkilazan bir ajan olarak düşünülse de alkil grubu yoktur ve alkilazan reaksiyonlar yapamaz. Bu nedenle doğru bir şekilde alkilazan benzeri olarak sınıflandırılabilir (63).

Tarihçe:

Cis-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂], Michele Peyrone tarafından 1845'te tanımlandı ve uzunca bir süre Peyrone tuzu olarak bilindi (63). Yapısı ise 1893 yılında Alfred Werner tarafından gösterildi (63). 1965 yılında ise Barnett Rosenberg, Van Camp ve arkadaşları Michigan Eyalet Üniversitesi'nde platin elektrotların elektrolizinden

ortaya çıkan platin komplekslerinin *Escherichia coli* (E. coli) bakterisinin bölünmesini durdurduğunu keşfettiler. Bakteriyel bölünme durmasına rağmen bakterideki filamentler normal 300 katına kadar büyüdüğü görüldü (64). Ayrıca sıçanlardaki sarkomlarda kullanıldığında kitlede küçülme görüldü (65). Bu kanıtlar eşliğinde sisplatin tıbbi amaçlar ile kullanıldı ve 19 Aralık 1978’de FDA tarafından testiküler ve ovaryan kanserlerde kullanılması için kabul gördü. 1979 yılında ise İngiltere ve birkaç Avrupa ülkesinde kullanılması onaylandı (66).

2.8 Kök Hücre

Kök hücreler özelleşmiş hücrelere dönüşebilen ve bölünerek daha çok kök hücre oluşturabilen farklılaşmamış hücrelerdir. Memelilerde iki tipte kök hücre bulunmaktadır: blastokistlerden elde edilen embriyonik kök hücre, çeşitli dokularda bulunan erişkin kök hücre. Erişkin hayatta kök hücre tamir görevini üstlenirken gelişmekte olan embriyoda organların ve sistemlerin oluşumundan sorumludur (67).

Erişkin kök hücrelere insanda ulaşmanın 3 kaynağı vardır: kemik iliği, yağ doku, kan. Erişkin kök hücreleri kemik iliği transplantasyonu gibi birçok medikal tedavide kullanılmaktadır (67).

Kendini yenileme(self-renewal): Herhangi bir diferansiyasyona uğramadan sayısız bölünme siklusuna girebilmesi (67).

Potans: Özelleşmiş hücrelere diferansiyasyon kapasitesi (67).

Bu özellikler totipotent ve pluripotent kök hücrelerde mevcuttur. Pluripotent kök hücre embriyoda blastokistte iç hücre kitlesinde bulunur ve plasenta dışında her dokuya dönüşebilmektedir. Morula olarak bilinen embriyonun daha erken dönemindeki hücreler ise totipotenttir ve ekstraembriyonik plasenta dahil her dokuya dönüşebilir. Multipotent kök hücre sadece yakın ilişkili olduğu hücre ailelerine diferansiye olabilir. Unipotent kök hücre ise sadece bir çeşit hücreye dönüşebilir ancak kendini yenileme özelliği vardır ve bu da progenitör hücrelerden ayrılmasını sağlar (68). Fertilizasyondan 4-5 gün sonra blastokist evresine ulaşılır ve yaklaşık 50-150 hücre içerir. Bu safhadaki pluripotent hücreler üç primer germ tabakasını oluşturabilirler: ektoderm, endoderm, mezoderm (69).

Şuan için embriyonik kök hücre kullanımının onaylanmış bir tedavisi bulunmamaktadır. İlk insan çalışması Ocak 2009’da FDA tarafından onay almıştır.

Ancak ilk insan çalışması 13 Ekim 2010 da spinal kord hasarı üzerine yapılmıştır (69).

Erişkin Kök Hücre:

Erişkin kök hücreler bulundukları dokularda tamir görevini üstlenirler. Erişkin ve çocuklarda bulunabilirler (70).

Erişkinlerdeki pluripotent kök hücreler sayıca azdır. Kemik iliği zengin bir kaynaktır ve siroz, kronik ekstremite iskemisi, son evre kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılmaktadır (71-75). Erişkinlerde lösemi ve bununla ilişkili kan ve kemik kanserleri tedavisinde yıllardır kök hücreler kullanılmaktadır. Ayrıca veterinerlikte de atlardaki tendon ve ligaman yaralanmalarında kullanılmaktadır (75).

Kök hücrelerde simetrik ve asimetrik olmak üzere iki tip bölünme vardır. Simetrik bölünmede bir kök hücre bölünür ve iki adet kök hücre oluşturur. Asimetrik bölünmede ise kök hücrenin bölünmesi ile bir kök hücre bir de progenitor hücre oluşur. Progenitor hücrenin daha kısıtlı kendini yenileyebilme ve potansı vardır (75).

Tedavi:

Kök hücreler bir hastalığın veya durumun tedavisinde veya bu durum veya hastalığın önlenmesinde kullanılmaktadır. İnsanlarda şuanda kemik iliği transplantları dışında kök hücrelerin kullanımı yaygın değildir (71-75).

Dezavantajlar:

Kök hücre tedavisi immünsupresif koşullara ihtiyaç duyabilir ve bunun için de transplant öncesi kişinin kendi hücrelerini uzaklaştırmak amacıyla radyasyon terapisi gerekebilir. Bunun önüne geçmek için kişinin kendi kök hücreleri kullanılabilir (76).

Pluripotent hücreleri spesifik hücre tiplerine dönüştürmek zor olabilmektedir. Çünkü popülasyondaki hücrelerin hepsi aynı tip hücreye dönüşmez. İstenilenden farklı dokular oluşabilir. Bazı kök hücreler özellikle de embriyonik kök hücreler transplant sonrası tümör formasyonu oluşturabilirler (76).

Tedavi: Kök hücre tedavisinin kullanılacağı hastalıklar ve durumlar araştırılmakta olup bazıları şunlardır:

- Diabetes mellitus (77)
- Romatoid artrit (77)
- Parkinson hastalığı (77)

- Alzheimer hastalığı (77)
- Osteoartrit (77)
- İnme ve travmatik beyin hasarı tamiri (77)
- Konjenital hastalıklara bağlı öğrenme bozuklukları (77)
- Spinal kord hasarı tamiri (77)
- Miyokardiyal enfarktüs (78)
- Kanser tedavileri (78)
- Kellik (78)
- Dişsizlik tedavileri (79)
- İşitme kayıpları tamiri (80)
- Görme kaybı tamiri ve korneal hasar tamiri (80)
- Amiyotrofik lateral skleroz (81)
- Crohn hastalığı (82)
- Yara iyileşmesi (82)
- Erkek infertilite tedavileri (82)

2.9 Plateletten Zengin Plazma (PRP)

PRP, tam kanın santrifüj edilip kırmızı kan hücreleri uzaklaştırıldıktan sonra kalan konsantre plateletten ve plazma proteinlerinden zengin kısımdır. Tam kana göre daha yüksek miktarda büyüme faktörü içerir ve iyileştirmeyi hızlandırmadaki fonksiyonundan ötürü özellikle diş hekimliği, ortopedi ve dermatolojide kullanılır. Ortopedi ve spor hekimliğinde; kas yırtıklarında, tendinopatilerde, osteoartritte kullanılır. Dermatolojide sıklıkla androjenik alopeside, yara iyileşmesinde kullanılır. PRP hazırlamak için farklı protokoller mevcuttur ve fizyolojik seviyenin 3-5 katı konsantrasyonda platelet elde etmek amaçlanır (83).

Tıbbi Kullanımı:

İnsanlarda kronik tendinit tedavisinde (84), osteoartritte (85), kemik tamiri ve rejenerasyonunda (87), oral cerrahide (87) ve plastik cerrahide (88) kullanılır.

Geniş ölçekli randomize kontrollü çalışmalar olmamasına rağmen yapılan sistematik derlemelerde eklem, tendon, ligament ve kas yaralanmalarında PRP kullanımı kanıtlanmamış fakat umut verici olarak gösterilmektedir. Osteoartrit tedavisinde PRP kullanımının hiyalüronik asit kullanımına üstünlüğünü gösteren çalışmalar da mevcuttur (89). Kemik greftlerin büyümesini hızlandırdığı ve kemik

iyileşmesini artırdığı da gösterilmiştir. Plastik cerrahide de yağ dağılımının düzenlenmesinde, meme rekonstrüksiyonunda, yüzdeki yumuşak doku defektlerinde, alt ekstremité ülser ve skarlarında, androjenik alopesi tedavisinde kullanılabilmektedir (90).

Yan Etkiler:

Literatütü taradığımızda PRP tedavisi ile ilgili henüz dökümente edilmiş bir yan etki bildirimi ile karşılaşılmamıştır.

İçerik:

PRP elde edilirken tam kan 2 basamaklı olarak santrifüj yapılır ve lökosit-fibrin içeriğine göre 4 çeşit PRP elde edilir: lökositten zengin PRP(L-PRP), lökositten fakir PRP (P-PRP/Pure-PRP), lökosit-platelet zengin fibrin ve saf platlet zengin fibrin (91,92).

Belirli büyüme faktörlerinin iyileşme sürecindeki etkinliği ve bunların PRP içerisinde yüksek oranda bulunması PRP'nin doku tamirinde kullanılmasına temel oluşturmuştur (93). PRP'yi trombin ve kalsiyum klorid ile aktive etmek alfa granüllerinden bu faktörlerin salınımına neden olur ve bu büyüme faktörleri ve sitokinler şunlardır: platelet-derived growth factor, transforming growth factor beta, fibroblast growth factor, insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor 2, vascular endothelial growth factor, epidermal growth factor, interleukin 8, keratinocyte growth factor, bağ dokusu growth factor (93,94).

2009 yılında 2 çeşit PRP hazırlama yöntemi U.S. Food and Drug Administration (FDA) onayı almıştır ve her ikisinde de sitrat dekstrozu ile antikoagüle edilen tam kana 2 basamaklı santrifüj işlemi uygulanır. Bu şekilde PRP plateletten fakir plazmadan ve kırmızı kan hücrelerinde ayrılır (95). İnsanlarda kandaki tipik referans platelet sayısı yaklaşık olarak 200,000/ μ L'dir. Ancak terapötik PRP ürünlerinde yaklaşık olarak kabaca 5 kat konsantrasyonda bulunur (96).

Tarihçe:

PRP ilk olarak 1970'lerde geliştirildi ve ilk olarak 1987'de İtalya'da bir açık kalp ameliyatında kullanıldı. 90'lı yılların ortasında tekrar popülerite kazandı ve 2007'den itibaren PRP'nin etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalar dramatik olarak artış göstermektedir (96).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Her biri ortalama ağırlıkları 150 – 200 gr (genç erişkin) olan, outbreeding (karşı dölleme) yetiştirilen, 42 adet Wistar türü Albino dişi sıçan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından (DEÜTFDHAL) sağlandı. Sıçanlar çalışma süresince oda ısısında (20 ± 2 °C) ve 12' şer saatlik aydınlık / karanlık ortamında tutulup, standart pelet sıçan yemi ile beslendi, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı. Çalışmaya başlamadan önce sıçanlar bir hafta süreyle bu ortamda izlenip ortama uyum göstermeleri sağlandı.

Çalışma öncesi değerlendirme:

Rastgele seçilen 42 adet sıçan ile çalışmaya başlandı.

Deney hayvanları grupları:

42 adet sıçan rastgele 6 gruba ayrıldı.

Grup I (n=7): Kontrol grubu

1. gruptaki 7 sıçana hiçbir işlem uygulanmadan takip edildi.

Grup II (n=7): Sham grubu

2. gruptaki 7 sıçanın sağ kulakları grup II olarak tanımlandı. 50 mg/kg ketamine hidroklorür (Ketalar^R, Eczacıbaşı Parke-Davis, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg intraperitoneal ksilazin hidroklorür (Alfazyne^R, Alfasan International BV, Woerden, Hollanda) anestezisi altındaki sıçanların sağ kulak timpanik membran postero-inferiordan perfore edilip başka bir işlem yapılmadı ve grup II sham grubu olarak tanımlandı.

Grup III (n=7): Sisplatin+SF grubu

2. gruptaki 7 sıçanın sağ kulakları grup III olarak tanımlandı. Anestezisi altındaki sıçanların sağ kulak timpanik membran postero-inferiordan perfore edilerek orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) serum fizyolojik emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verildi (97). Dehidrasyonun önüne geçmek için sisplatin verilen 4 gün boyunca subkütan olarak 15 ml serum fizyolojik enjeksiyonu da yapıldı. 7 gün boyunca takip edildi.

Grup IV (n=7): Sisplatin+kök hücre grubu

4. gruptaki 7 sıçanın sağ kulakları grup IV olarak tanımlandı. Anestezi altındaki sıçanların sağ kulak timpanik membran postero-inferiordan perfore edilerek orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) kök hücre emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün, günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplam 16 mg/kg sisplatin verildi. Dehidrasyonun önüne geçmek için sisplatin verilen 4 gün boyunca subkütan olarak 15 cc serum fizyolojik enjeksiyonu da yapıldı. 7 gün boyunca takip edildi.

Grup V (n=7): Sisplatin+PRP grubu

5. gruptaki 7 sıçanın sağ kulakları grup V olarak tanımlandı. Anestezi altındaki sıçanların sağ kulak timpanik membran postero-inferiordan perfore edilerek orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) PRP emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verildi. Dehidrasyonun önüne geçmek için sisplatin verilen 4 gün boyunca subkütan olarak 15 cc serum fizyolojik enjeksiyonu da yapıldı. 7 gün boyunca takip edildi.

Grup VI (n=7): Sisplatin+kök hücre+PRP grubu

6. gruptaki 7 sıçanın sağ kulakları grup VI olarak tanımlandı. Anestezi altındaki sıçanların sağ kulak timpanik membran posteroinferiordan perfore edilerek orta kulak boşluğunu dolduracak kadar (yaklaşık olarak 0,5 ml) kök hücre ve PRP emdirilmiş gelfoam konuldu. 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin verildi. Dehidrasyonun önüne geçmek için sisplatin verilen 4 gün boyunca subkütan olarak 15 cc serum fizyolojik enjeksiyonu da yapıldı. 7 gün boyunca takip edildi.

Yapılacak işlemlerin zamanlamasının ayrıntılı listesi:

Grup I (n=7) : Kontrol grubu

Grup II (n=7) : Sham grubu

Grup III (n=7) : Sisplatin+SF grubu

Grup IV (n=7) : Sisplatin+kök hücre grubu

Grup V (n=7): Sisplatin+PRP grubu

Grup VI (n=7) : Sisplatin+kök hücre+PRP grubu

Yukarıdaki 6 grup için aşağıdaki zaman çizelgesine uyumlu olarak işlemler uygulandı.

Çalışmanın 1. günü:

42 adet sıçan rastgele 6 gruba ayrıldı. Bütün deneklere i.p. olarak 10 mg/kg ksilazin hidroklorür ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür enjeksiyonu altında ABR ve OAE yapıp işitme eşikleri saptandı.

Çalışmanın 1-7. günü (7 gün):

1. gün sıçanlara intraperitoneal 10 mg/kg ksilazin hidroklorür ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür enjeksiyonu altında ABR ve OAE yapıldıktan sonra bütün sıçanlara bulundukları gruba tanımlanan işlem yapıp 72 saat sonra 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olmak üzere i.p. olarak toplamda 16 mg/kg sisplatin grubuna uygun olarak verildi ya da verilmedi. Dehidrasyonun önüne geçmek için sisplatin verilen 4 gün boyunca subkütan olarak 15 cc serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. 7 gün boyunca takip edildi.

Çalışmanın 8. günü:

Çalışmanın son günü olan 8. gün bütün deneklere ABR yapıldı ve sonrasında yüksek doz eter anestezisi ile sakrifiye edildi.

Sıçanların araştırmadan çıkarılma kriterleri:

Çalışma süresince sıçanların genel durumunda bozulma gözleendiği takdirde sıçanlar çalışmadan çıkarılması planlandı. Planlanan şekilde her bir gruptaki planlanan sayıda sıçan olması sağlanana dek yeni sıçanlarla çalışmaya devam edilmesi planlandı.

Değerlendirme Yöntemleri

Odyolojik Değerlendirme: Tüm denekler 1. gün işlem öncesi ABR ve OAE ile ve 8. gün sakrifikasyon öncesi ABR ile odyometrik olarak değerlendirildi. Tüm sıçanlara işitme testleri yapılmadan önce mikroskopik muayene yapılarak dış kulak yolu ve kulak zarlarının normal olup olmadığı belirlendi.

İstatistiksel Analiz: Veriler ortalama $\pm$ standart sapma biçiminde tablo ve grafik olarak sunulması planlandı. Araştırma sonuçlarının istatistik analizi, SPSS için Windows istatistik programının 15.0 versiyonu kullanılarak $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde incelenmesi planlandı. Kruskal-Wallis testi ile (nonparametrik bir test) ile değerlendirilme yapılması planlandı ve $p<0.05$ 'in altında olması anlamlı kabul edildi.

Çalışma ve kontrol grubu arasındaki farkın, gruplar ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılarak bakılması planlandı.



4. BULGULAR

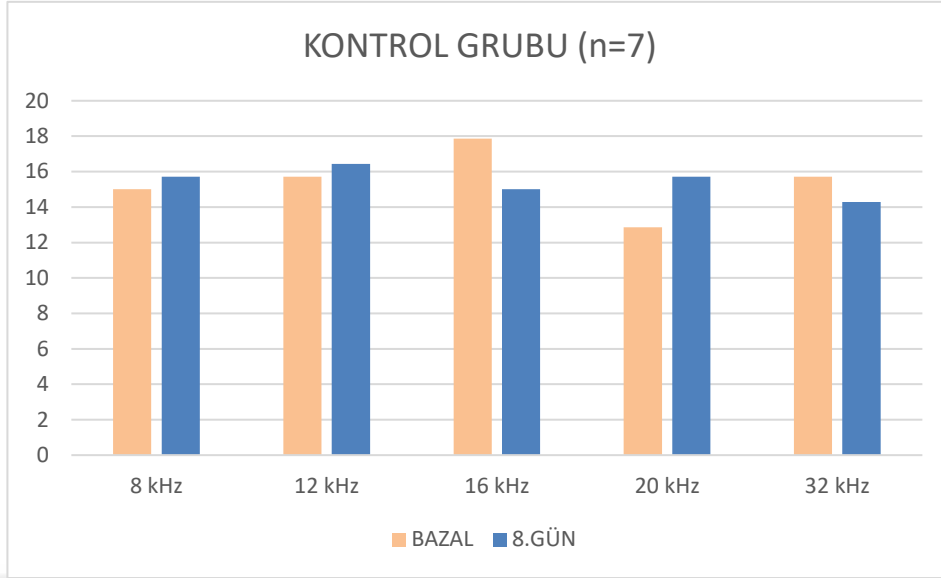
Beş çalışma grubu ve bir kontrol grubundaki toplam 42 sıçana 1. ve 8. günlerde DPOAE ve ABR testleri yapıldı. Birinci gün bütün sıçanların ortalama DPOAE ve ABR değerleri olağan sınırlarda idi (Tablo 1).

ABR		8 khz	12 khz	16 khz	20 khz	32 khz
Grup I	Kontrol	15	15,71428	17,85714	12,85714	15,71428
Grup II	Sham	15	12,85714	17,14285	17,14285	16,42857
Grup III	Sisplatin	16,42857	15,71428	17,14285	15	13,57142
Grup IV	Kök Hücre	18,57142	15,71428	14,28571	16,42857	17,85714
Grup V	PRP	17,85714	14,28571	15	15,71428	17,14285
Grup VI	Kök Hücre+PRP	15,71428	14,28571	15	15	16,42857

Tablo 1. Tüm gruplardaki sıçanların 1. gün ABR ortalamaları (I.,II.,III.,IV.,V. ve VI. gruplardaki toplam 42 adet sıçanın 1. gün hiçbir işlem uygulanmadan bazal ABR eşiklerinin dB cinsinden değerleri)

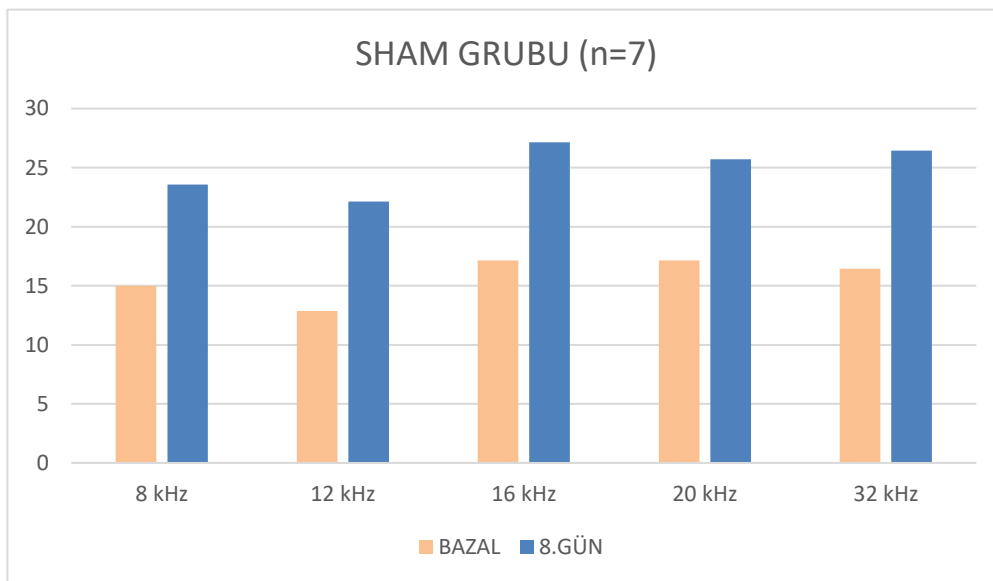
Toplam 42 sıçan ile başlanan çalışmamızda sıçan kaybımız olmadı. Tüm grupların işlem uygulanan sağ kulakları arasında fark olup olmadığı Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi ve sisplatin uygulanan gruplardaki ratlarda 8. gün ABR eşiklerinde anlamlı derecede yükselme izlendi ($p<0.01$).

Kontrol grubundaki ratlarda işitme eşikleri 1. günkü ABR’de 8000 Hz, 12000 Hz, 16000 Hz, 20000 Hz ve 32000 Hz için ortalama olarak sırasıyla 15 dB-15,7 dB-17,8 dB-12,8 dB-15,7 dB iken 8. günkü ABR’de sırası ile 15,7 dB-16,4 dB-15 dB-15,7 dB-14,2 dB’dir. ABR değerlerindeki istatistiksel bir fark bulunmamaktadır (Grafik 1). 1. gün bazal ortalama bazal ABR ve 8. gün ortalama ABR eşikleri sırası ile 16,1 ve 15 dB idi.



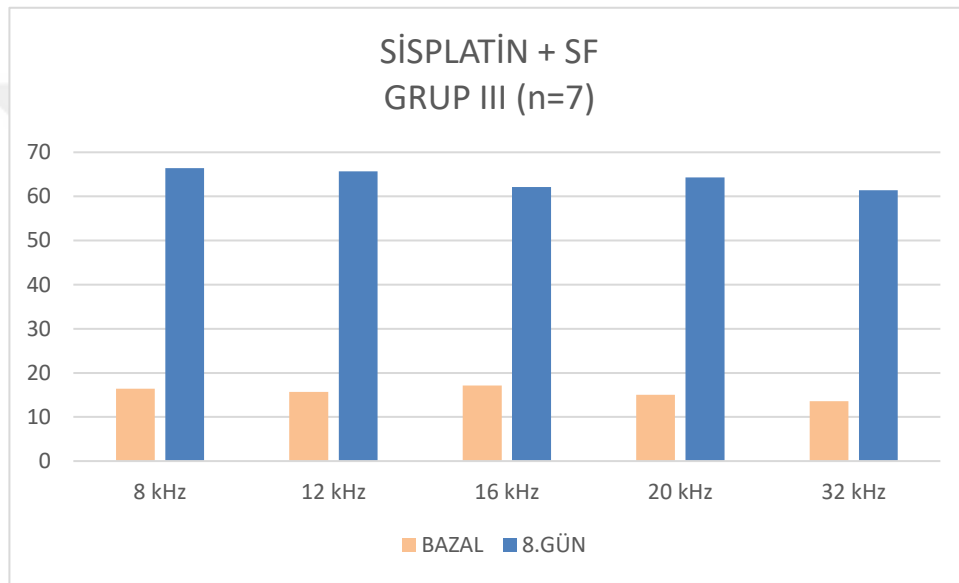
Grafik 1. Kontrol grubundaki (Grup I) sıçanların 1. ve 8. gün sağ kulak ABR eşikleri.

Sham cerrahisi uygulanan ratlarda işlem uygulanan sağ kulak işitme eşikleri 1. günkü ABR’de 8000 Hz, 12000 Hz, 16000 Hz, 20000 Hz ve 32000 Hz için ortalama olarak sırasıyla 15,3 dB-12,8 dB-17,1 dB-17,1 dB-16,4 dB iken 8. günkü ABR’de sırası ile 23,5 dB-22,1 dB-27,1 dB-25,7 dB-26,4 dB’dir. ABR değerlerindeki bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$)(Grafik 2). 1. gün bazal ortalama bazal ABR ve 8. gün ortalama ABR eşikleri sırası ile 16,1 ve 25,7 dB idi.



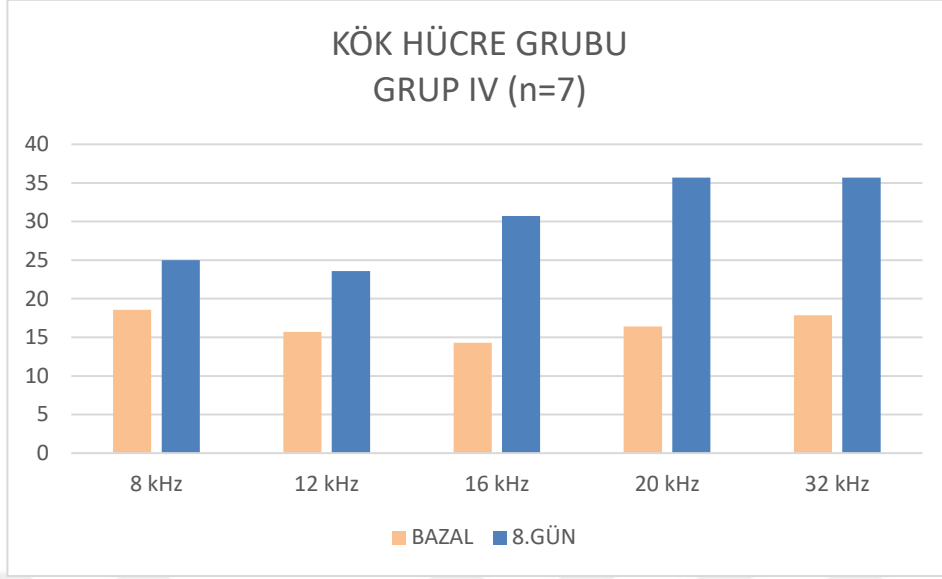
Grafik 2. Sham grubundaki (Grup II) sıçanların 1. ve 8. gün sağ kulak ABR eşikleri.

Yalnız sisplatin uygulanan ratlarda işlem uygulanan sağ kulak işitme eşikleri 1. günkü ABR’de 8000 Hz, 12000 Hz, 16000 Hz, 20000 Hz ve 32000 Hz için ortalama olarak sırasıyla 16,4 dB-15,7 dB-17,1 dB-15 dB-13,5 dB iken 8. günkü ABR’de sırası ile 66,4 dB-65,7 dB-62,1 dB-64,2 dB-61,4 dB’dir. ABR değerlerindeki bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$)(Grafik 3). 1. gün bazal ortalama bazal ABR ve 8. gün ortalama ABR eşikleri sırası ile 15,7 ve 63,3 dB idi.



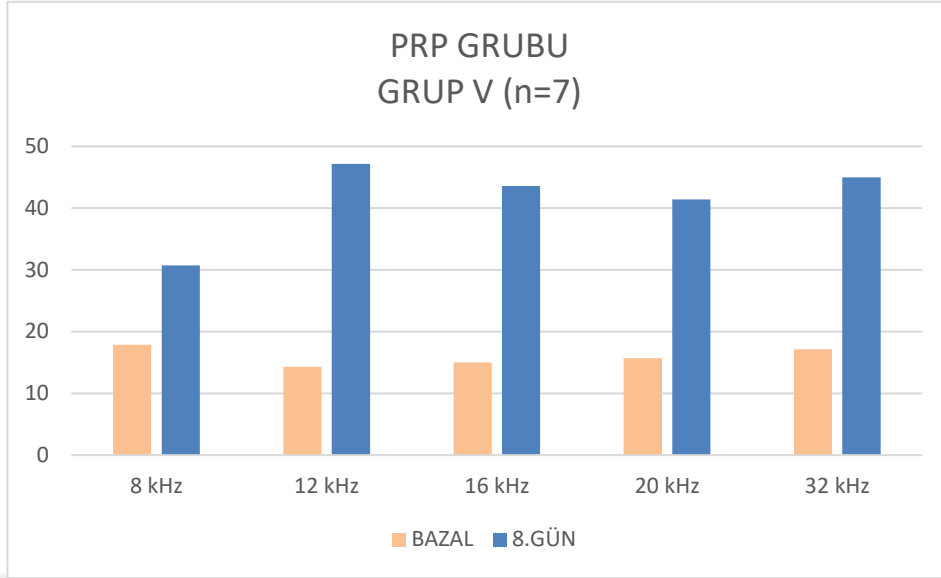
Grafik 3. Sisplatin + SF grubundaki (Grup III) sıçanların 1. ve 8. gün sağ kulak ABR eşikleri.

Sisplatin ve kök hücre uygulanan ratlarda işlem uygulanan sağ kulak işitme eşikleri 1. günkü ABR’de 8000 Hz, 12000 Hz, 16000 Hz, 20000 Hz ve 32000 Hz için ortalama sırasıyla 18,5 dB-15,7 dB-14,2 dB-16,4 dB-17,8 dB iken 8. günkü ABR’de sırası ile 25 dB-23,5 dB-30,7 dB-35,7 dB-35,7 dB’dir. ABR değerlerindeki bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$)(Grafik 4). 1. gün bazal ortalama bazal ABR ve 8. gün ortalama ABR eşikleri sırası ile 16,9 ve 30,4 dB idi.



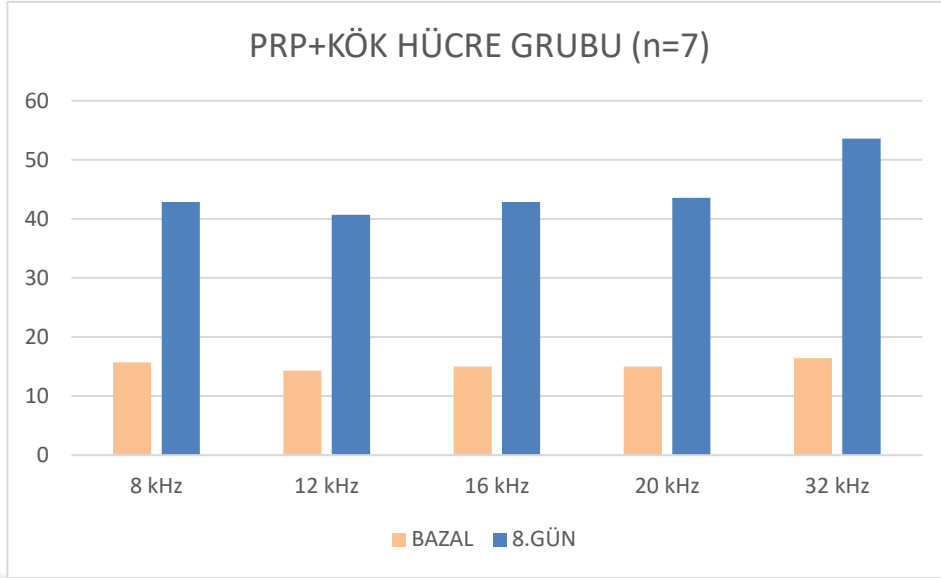
Grafik 4. Kök hücre+sisplatin grubundaki (Grup IV) sıçanların 1. ve 8. gün sağ kulak ABR eşikleri.

Sisplatin ve PRP uygulanan ratlarda işlem uygulanan sağ kulak işitme eşikleri 1. günkü ABR’de 8000 Hz, 12000 Hz, 16000 Hz, 20000 Hz ve 32000 Hz için ortalama olarak sırasıyla 17,8 dB-14,2 dB-15 dB-15,7 dB-17,1 dB iken 8. günkü ABR’de sırası ile 30,7 dB-47,1 dB-43,5 dB-41,4 dB-45 dB’dir. ABR değerlerindeki bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$)(Grafik 5). 1. gün bazal ortalama bazal ABR ve 8. gün ortalama ABR eşikleri sırası ile 16,6 ve 39,7 dB idi.



Grafik 5. PRP+sisplatin grubundaki (Grup V) sıçanların 1. ve 8. gün sağ kulak ABR eşikleri.

Sisplatin, kök hücre ve PRP uygulanan ratlarda işlem uygulanan sağ kulak işitme eşikleri 1. günkü ABR’de 8000 Hz, 12000 Hz, 16000 Hz, 20000 Hz ve 32000 Hz için ortalama olarak sırasıyla 15,7 dB-14,2 dB-15 dB-15 dB-16,4 dB iken 8. günkü ABR’de sırası ile 42,8 dB-40,7 dB-42,8 dB-43,5 dB-53,5 dB’dir. ABR değerlerindeki bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$)(Grafik 6).1. gün bazal ortalama bazal ABR ve 8. gün ortalama ABR eşikleri sırası ile 15,7 ve 46,4 dB idi.



Grafik 6. Kök hücre+PRP+sisplatin grubundaki (Grup VI) sıçanların 1. ve 8. gün sağ kulak ABR eşikleri.

Sonrasında hangi gruplar arasında fark olup olmadığı ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Bu değerlendirmede ise ikişerli olarak karşılaştırma işlem uygulanan kulaklar arasında yapıldı.

Kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında, kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha düşük işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları kök hücre, PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında, kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha düşük işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları sisplatin verilen ve timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında, kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha düşük işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Kök hücre ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları sadece timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında iki grubun işitme eşikleri arasında anlamlı derecede fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları kök hücre, PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha düşük işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları sisplatin ve timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha düşük işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları sadece timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha yüksek işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Kök hücre, PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları sisplatin ve timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha düşük işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Kök hücre, PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları sadece timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında kök hücre, PRP ve sisplatin verilen sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha yüksek işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Sisplatin verilen ve timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları sadece timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları ile karşılaştırıldığında sisplatin verilen ve timpanik zar perforasyonu yapılan sıçanların sağ kulakları anlamlı derecede daha yüksek işitme eşiklerine sahipti ($p<0,01$).

Sham cerrahisi yapılan grupta sağ kulaktaki ortalama işitme eşiği sol kulaktaki ortalama işitme eşiğinden 10 ± 5 dB daha yüksekti. Bu da bize sıçanlardaki intratimpanik enjeksiyon için yapılacak timpanik membran perforasyonunun işitme eşik seviyesini yükselttiğini göstermekte idi.

Tedavi protokolümüz sonrasında yalnızca kök hücre ve sisplatin uygulanan grupta sham cerrahisi ile benzer sonuçlar izlenmiş olup diğer gruplardaki ABR eşiklerinde sham grubu ile karşılaştırıldığında yükselme devam etmiştir, ancak bütün tedavi gruplarındaki hayvanların işitme eşikleri sadece sisplatin verilen gruptaki

sıçanlardan anlamlı derecede düşük işitme eşiklerine sahiptir. Ototoksik etkinin yavaşlatıldığı ve hatta kök hücre ile durdurulabildiği gözlenmiştir.



5. TARTIŞMA

Sisplatin, birçok malign tümör tedavisinde kullanılan yüksek etkili bir kemoterapotiktir. Özellikle testis, over, serviks kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, osteosarkom, özofagus ve baş-boyun kanserleri olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (98). Sisplatin tümör hücrelerinde etkisini, direk DNA hasarı ve hücreyi apoptozise götüren reaktif oksijen metabolitleri oluşturarak göstermektedir (99). Sisplatinin en önemli yan etkileri nefrotoksisite, ototoksisite, kemik iliği baskılanması ve gastrointestinal toksisite olarak karşımıza çıkmakta ve bu etkilerinden dolayı kendi kullanımını sınırlandırmaktadır. (98,100). Nefrotoksik etkiler hidrasyon ve mannitol gibi yöntemlerle, diğer yan etkiler tedavinin bölünmesi ile kontrol edilebilirken ototoksik etkiler için halen etkili bir yöntem bulunmamaktadır (101).

Yapılan çalışmalarda sisplatin alan hastalarda % 20-90 arasında değişen oranlarda ototoksisite bildirilmiştir (100,102,103). Sisplatin, morfolojik olarak stria vaskülaris, DTH ve spiral ganglion gibi üç önemli yapıyı hedef alır (104). Ototoksisite genellikle bilateral yüksek frekanslardan başlayıp düşük frekanslara ilerleyen ve geri dönüşümsüz SNİK tip işitme kaybı şeklinde kendini gösterir. Sisplatin, DNA ve aracı proteinlere bağlanarak hücre fonksiyonlarını bozmakta ve ayrıca iç kulaktaki oksidan ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengeyi oksidan lehine kaydırmaktadır. Sonuç olarak, apoptozis ile kokleadaki hücre sayısını azaltmaktadır (105,106). Yapılan birçok çalışmada reaktif oksijen metabolitleri ve oksidanlar sisplatin kaynaklı ototoksisitede suçlanmaktadır. (106). Ototoksik dozda sisplatin verilen hayvanlarda, antioksidan enzimlerde (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) ve glutatyonda azalma, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA (malondialdehit) düzeylerinde artış izlenmiştir (107). Hücrelerin zarlarında ortaya çıkan lipid peroksidasyonu sonucunda çok toksik olan 4-Hydroxynoneal (4-HNE) oluşur ve bu da hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunun artmasına sebep olur (108). Öne sürülen bu hipotezler hücre zarındaki kalsiyum kanallarının işleyişinin düzenlenmesi ve hücre içi serbest oksijen metabolitlerinin üretiminin önlenmesi veya lipid peroksidasyonun engellenmesi sonucunda DTH ölümünün önüne geçilebileceği fikrini akla getirmektedir.

İşitmenin bozulmasına yönelik ilk bulgular genellikle ilk sisplatin dozundan 3-4 gün sonra görülür. Sisplatin ototoksitesinin hücresel düzeyde 3. günde başladığı 7-10 gün içinde maksimum düzeye eriştiği gösterilmiştir (109). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda ototoksik etkinin gecikmeli olarak 5. gün en üst düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Kobaylarda sisplatin ile oluşturulan ototoksitenin OAE (Otoakustik Emisyonlar) ve ABR (Auditory Brainstem Reflex) ile incelenmesi sonucunda; ototoksik etkinin 2. günden sonra ortaya çıktığı, 5. günde maksimuma ulaştığı, 5. gün ile 14. günde elde edilen OAE ve ABR kayıtları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ve 14. günden sonra ototoksik etki nedeniyle alınan yanıtın değişmediği bildirilmiştir (110).

Fonksiyonel çalışmalarda sisplatin hem yüksek dozlarda hem de düşük kümülatif dozlarda koklear hasara yol açtığı, gerek ABR gerekse de endokoklear potansiyelin ölçüldüğü elektrokokleografik yöntemlerle gösterilmiştir (111). Anatomik çalışmalarda ise kokleada hasara uğrayan bölgenin DTH (dış tüylü hücre) kaybının eşlik ettiği korti organı olduğu ve bu hasarın bazal kıvrımda daha yoğun olmakla birlikte kokleanın tüm kıvrımlarında oluşabildiği gözlenmiştir (112-114). Sisplatinin DTH stereosilyalarının mekano-elektrik transdüksiyon mekanizmasını etkilediği düşünülmektedir. İyonik transdüksiyon kanalları voltaja bağımlıdır. Sisplatin, koklear DTH'lerinde depolarizasyon esnasındaki kalsiyum çıkışını bloke eder. Artan intraselüler kalsiyum mitokondrial disfonksiyona sebep olur. Na-K-ATPaz gibi önemli enzimleri bloke edip sodyum reabsorbsiyonunu inhibe etmesi sonucunda sitozolik sodyum artar ve sodyum kalsiyum değişimi azalır. Bu iyonik dengesizlik sonucunda plazma membranından glikoproteinler ayrılır ve lizozomlar artar. Ağır metaller lizozomların parçalanmasını ve sitozole hidrolitik enzimlerin salınmasını indükler. Bunun sonucu olarak tüy hücrelerinde ölüm gerçekleşir. İleri sürülen bir diğer mekanizma ise; sisplatinin hücre içi serbest oksijen radikallerini artırması ve buna bağlı olarak tüylü hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olmasıdır. Lipid peroksidasyonundaki artış ise DTH'lerde hasar ile sonuçlanır (109). Öne sürülen bu mekanizmalar hücre membranındaki kalsiyum kanallarının işleyişinin düzenlenmesi ve hücre içi serbest radikal oluşumunun önüne geçilmesi veya lipid peroksidasyonun önlenmesi halinde DTH ölümünün önüne geçilebileceği fikrini akla getirmektedir.

Sisplatin ototoksisitesi dozla ilişkili ve kümülatiftir. Genellikle düşük dozlu ve uzun süreli tedavilerde ototoksisite, yüksek doz tedavilere göre daha az ortaya çıkmaktadır. Yüksek doz cisplatine maruz kalan hastalarda 2000-8000 Hz arasındaki frekanslarda .40-60 dB işitme kaybı ortaya çıkmaktadır (115). Litaratürde yapılmış çalışmalarda cisplatin dozu ve uygulama sayısı değişmektedir. Kalcıoğlu ve ark. (116) 16 mg/kg, Kuduban ve ark. (117) 5mg/kg, Roldan ve ark. (118) 10mg/kg tek doz şeklinde uygularken Hughes ve ark. (119) 2-3 mg/kg/gün 5-10 gün süreyle multidoz cisplatin uygulamışlardır. S.J. Kim ve ark. (97) 16 mg/kg toplam dozu 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olacak şekilde kullanmışlardır. Bizim çalışmamızda, mortaliteye en az yol açacak ve ototoksik etkiyi oluşturacak uygunlukta bir doz olan 16 mg/kg toplam dozu 4 gün boyunca günlük 4 mg/kg olacak şekilde uyguladık.

Litaratüre bakıldığında cisplatin ototoksisitesinin monitörizasyonunda fizyolojik, histolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılmıştır (98,100, 101, 120-122). Hughes ve ark. (119) sadece ABR sonuçlarını değerlendirirken Özturan ve ark. (123) ise sadece DPOAE sonuçlarını kriter olarak belirlemişlerdir. Kalcıoğlu ve ark (116) fizyolojik monitorizasyon için DPOAE ölçümlerini ve biyokimyasal monitorizasyon için superoksit dismutaz, ksantin oksidaz ve malondialdehit seviyelerini değerlendirmişlerdir (116). Kuduban ve ark. (117) histolojik değerlendirme için ışık mikroskopisini kullanırken biyokimyasal parametreler olarak superoksit dismutaz, glutatyon ve glutatyon peroksidazı kullanmışlardır. Roldan ve ark. (118) fizyolojik olarak ABR ölçümlerini kullanırken histolojik değerlendirme için elektron mikroskopunu kullanmışlardır.

Fonksiyonel çalışmalarda sisplatinin hem yüksek dozlarda hem de düşük kümülatif dozlarda koklear hasara yol açtığı, ABR, OAE ve endokoklear potansiyelin ölçüldüğü elektrokokleografik yöntemlerle gösterilmiştir (124,125). Stavroulaki ve ark. (126) yaptıkları prospektif bir çalışmada, 50 mg/m² cisplatin kullanılan çocuklarda, 1. kür sonrasında, işitme duyusu kaybının erken teşhisi için TEOAE ve DPOAE testlerinin etkinliğini pür ton odyometri ile karşılaştırmışlardır. Ototoksisite monitorizasyonu DPOAE testinin, pür ton odyometri ve TEOAE testlerine göre özellikle yüksek frekanslarda koklear disfonksiyonu saptamakta daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Pür ton odyometri testindeki yüksek frekanslarda eşik değişikliği olmazken, DPOAE amplitüdlerinde belirgin düşüş gözlenmiştir.

Özturan ve ark. (123) prostat kanseri için kümülatif 300 mg/m² cisplatin alan hastalarının ototoksik monitörizasyonunda pür ton odyometri ve DPOAE testlerini karşılaştırmışlardır. DPOAE testi pür ton odyometriye göre 1 kür önceden işitme kaybını göstermiştir. Sockalingam ve ark. cisplatin ototoksitesinde DTH fonksiyonlarını gösteren en duyarlı metotların TEOAE ve DPOAE testleri olduğunu belirtmişlerdir (104). Bizim çalışmamızda cisplatin ototoksitesinin fizyolojik monitörizasyonu için ABR ve DPOAE kullanılmıştır. DPOAE ölçümünü tercih etmemizin sebebi hem kokleaya spesifik hem de kolay uygulanabilir olmasıdır. Testin non-invaziv olması da önemli özelliklerinden birisidir.

Sisplatinin özellikle nefrotoksisite ve ototoksisite yan etkilerini azaltmak ve sisplatin doz artışı ile tedavi etkinliğini artırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda birçok antioksidan ve sitoprotektif ajan kullanılmıştır. Bunlar arasında N-Asetil Sistein (NAC), sodyum tiosülfat, glutasyon, D ve L-metionin, dietilditiokarbamat, metiltiobenzoik asit, ALA, amifostine, fosfomisin, ebselen, deferoxamine, salisilat, caspase inhibitörleri, bazı nörotropinler, E vitamini, süperoksit dismutaz, alfa melanosit stimulan hormon, adenoazin reseptör agonistleri, pantotenik asit, pifithrin, lipoik asit ve melatonin sayılabilir (103,120,121,127,128,129,130). Hayvan çalışmalarında cisplatin ototoksitesinde sitoprotektif veya antioksidan maddeler sistemik ya da intratimpanik yolla kullanılmıştır.

Transtimpanik yolla, sitoprotektif ajan diğer organları etkilemeden direk yolla ve yüksek konsantrasyonda iç kulağa geçer ve sistemik yan etkileri azdır (131). Hughes ve ark. (119) tekrarlayan dozlarda cisplatine karşı intratimpanik deksametazon etkinliğini fareler üzerinde çalışmışlardır. İntratimpanik deksametazonun herhangi bir otoprotektif etkisini saptanılmamıştır. Roldan ve ark. (118) sisplatin ile ilişkili ototoksitede intratimpanik DMSO kullanımının etkinliğini araştırmışlardır. Koklea fonksiyonel ve morfolojik olarak değerlendirilmiştir. Dimetil sülfoksitin etkinliği tespit edilmemiştir.

Sistemik kullanımda dikkat edilmesi gereken, kullanılan maddenin cisplatin ile etkileşimi sonucu antitümör etkinliği bozup bozmamasıdır. Mesna, D-metionin ve sodyum tiyosülfat gibi bileşikler sistemik kullanıldığında cisplatin ile inaktif kompleks oluşturarak cisplatinin antitümör etkinliğini azaltır, bu sebeple

intratimpanik yolla kullanılması önerilmiştir (105,132). N-asetil sistein'in hem sistemik hem de transtimpanik uygulamada cisplatin kaynaklı ototoksisitede koruyucu etkileri saptanmıştır. Choe ve ark. (128) intraperitoneal cisplatine karşı transtimpanik NAC uygulamasında DPOAE ölçümlerinde anlamlı olumlu sonuçlar almışlardır. Chure ve ark. (133) kobaylar üzerinde yaptığı çalışmada yüksek doz aminofostinin otoprotektif etkilerini göstermişlerdir fakat yan etki olarak nörotoksisite geliştiğini raporlamışlardır. So ve ark. (134) T- tipi spesifik kalsiyum kanal blokörü olan flurazinin cisplatin toksisitesinde etkinliğini araştırmışlardır. Cisplatinin lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal geçirgenlik artışı gibi toksik etkilerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca flurazin oksidatif strese karşı endojen koruyucu moleküllerin salınımını arttırmıştır.

Dickey ve ark. tarafından ratlarda yapılan bir çalışmada N-asetilsistein (NAC)'in sisplatin ototoksisitesinde protektif etkisi test edilmiş. Sisplatin tedavisinden 15 dakika önce ratlara intravenöz (i.v) NAC verildikten sonra kontrol grubunda özellikle yüksek frekanslarda belirgin ototoksisite izlenirken çalışma grubunda ABR ölçümlerinde anlamlı proteksiyon izlenmiş (135), yine L-N-asetil sisteinin sisplatin ototoksisitesinde dış tüy hücrelerinde ve işitme sinirinde koruyucu etkinlik gösterdiğini bulmuşlardır (136).

Wang ve arkadaşları ratlarda sisplatin uygulaması sırasında otoprotektif etkisi uzun zamandır bilinmekte olan sodyum thiosülfatı klinik olarak yüksek terapötik dozda intrakohlear perfüzyon şeklinde uygulamışlardır. Bu strateji oldukça başarılı olmuş ve işitme kaybına dair herhangi bir belirti izlenmemiştir. Histolojik analizlerde Korti organındaki dış tüylü hücrelerde neredeyse tam bir korunma izlenirken yalnızca sisplatinle tedavi edilen grupta işitmede ve dış tüylü hücrelerde belirgin kayıp izlenmiştir (137).

Minami ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ratlara uygulanan iki sikluslu sisplatin tedavisinin ikinci siklusu esnasında subkutan olarak uygulanan salisilatın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ABR'deki değişiklikleri anlamlı derecede azalttığı izlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada kohleadaki antioksidan konsantrasyonları incelenmiş ve ikinci siklüs esnasında salisilat verilmesinin kohleadaki total endojen antioksidan miktarını arttırdığı izlenmiştir (138).

Li ve arkadaşları tarafından yapılan detaylı bir çalışmada salisilatın otoprotektif etkisi doğrulanmıştır. Sisplatinin tek doz infüzyonu esnasında uygulanan salisilatın kontrol grubu ratlarla karşılaştırıldığında ABR ölçümlerinde anlamlı iyileşme meydana getirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda salisilatın histolojik olarakta otoprotektif olduğu öne sürülmüştür. Sisplatinle birlikte salisilatın verildiği grupta yalnızca sisplatin alan grupla karşılaştırıldığında kohleanın her üç kıvrımında da dış tüylü hücre kaybının daha az olduğu izlenmiştir. Li' nin hayvan modelinde salisilatın sisplatinin antitümör aktivitesini azaltmadığı izlenmiştir (139).

Korver ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada çinçilla yuvarlak pencere membranlarına direkt olarak D-metionin uygulanmıştır. Sonucunda çinçillaların ABR ölçümlerinde sisplatine karşı neredeyse komplet bir korunma izlenirken aynı zamanda histolojik incelemelerde de dış tüylü hücre hasarının meydana gelmediği tespit edilmiştir. Yalnızca sisplatin alan hayvanların ABR eşiklerinde belirgin artış ve yaygın dış tüylü hücre hasarı izlenmiştir (140). L-metionin'inde sisplatin maruziyetinde yuvarlak pencere membranından ozmotik pompa yoluyla uygulananın ratlarda ABR eşiklerinde ve dış tüylü hücrelerde koruyucu olduğu gösterilmiştir (141).

Rybak ve arkadaşları ratlarda yaptıkları bir çalışmada glutatyon peroksidaz benzeri aktivite gösteren ve antioksidan gibi davranan ayrıca lipid peroksidasyonunda inhibe eden Ebselen ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azaltabilen bir xanthine oksidaz inhibitörü olan Allopurinol'u sisplatinin ototoksik etkisine karşı protektif ajanlar olarak tek başlarına ve kombine olarak uygulamışlardır. Sonuç olarak bu ajanların kombine olarak kullanımının tek başlarına kullanımlarına göre daha düşük dozlarda otoprotektif olduklarını ABR eşik değerlerinde ve dış tüylü hücrelerde korunma ile doğrulamışlardır (142).

Lynch ve arkadaşlarıda rat meme ve over kanser modellerinde yaptıkları çalışmada sisplatin tedavisi sırasında oral allopurinol ve ebselen uygulananın, meme kanserinde antitümöral aktiviteyi etkilemeksizin ve over kanserinde de antitümöral aktiviteyi arttırarak, otorotektif etki gösterdiklerini belirtmişlerdir (143).

Sisplatin öncesi ebselen ve bir metal şeatörü olan 4-metiltiobenzoik asit (MTBA) uygulanması glutatyon seviyelerindeki, antioksidan enzim aktivitesindeki düşüşü

engellemek ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmek suretiyle otoprotektif etki sağlamakta ve ABR eşik değişikliklerini de engellemektedir (142).

Bazı yazarlar sisplatin ototoksisitesinin asıl mekanizmasının; reaktif oksijen partiküllerin üretimi ve indüklenebilir nitrik oksit sentazın (NOS) fazla düzeyde indüklenmesi sonucu oluşan nitrik oksit (NO) üretimi ile ilişkili olduğunu düşünmektedirler.

Watanabe ve arkadaşları guinea piglerde sisplatinle indüklenen ototoksisitede NOS inhibitörü olan NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) in etkisini araştırmışlardır. Sonucunda ABR eşik değişikliklerinin minimal olduğunu ve immunohistolojik incelemelerde de muhtemel NOS II aktivitesinin redüksiyonu sonucunda kohleada düşük NO seviyeleri tespit etmişlerdir(144).

Fetoni ve arkadaşları Wistar ratlarda bir araştırma yaparak sisplatin uygulanan hayvanlara eş zamanlı tiopronin (N-(2-mercaptopropionyl)-glycine) uygulamışlardır. Hayvanlara hem DPOAE (distortion-product otoacoustic emissions) hem de elektron mikroskopik inceleme yapılmıştır. Sisplatin uygulanan hayvanlarda DPOAE amplitüdlerinde ciddi inişler gözlenmesine rağmen sisplatin ile birlikte tiopronin alan hayvanlarda kayda değer bir değişiklik gözlenmemiştir. Bununla birlikte sisplatin alan grupta elektromikroskopik inceleme sonucu kohleanın bazal ve orta kıvrımında (bazalde daha yoğun) dış tüy hücresi kaybı görülmüştür. Aksine sisplatinle birlikte tiopronin alan grupta kohleada orta derece hasarlanma saptanmıştır. Bütün gruplara apikal kıvrımın etkilenmediği de belirtilmiştir (145).

Daldal ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada deksametazonun, ayrıca NO sentezini etkilemek suretiyle sisplatin indüklü ototoksisitede protektif etkisi olduğu DPOAE ölçümleri ile gösterilmiştir (146). Kortikosteroidlerin iç kulakta reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu sınırladıkları daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (147,148). Farelerin iç kulak yapılarında kortikosteroid reseptörlerinin varlığı steroidlerin iç kulakta etkilere yol açabileceğini göstermektedir (149). Bununla birlikte, kortikosteroidler aynı zamanda tümör hücrelerinde apoptozis genlerini azaltıcı etkiye de sahiptirler (150). Bu nedenle sisplatinle indüklenen ototoksisitede sistemik olarak uygulanmaları sisplatinin tümörosidal etkinliğinde azaltabilir. İç kulak hastalıklarının lokal tedavisinde ilaçların intratimpanik uygulanımı güncel bir metod olup, etkilerini gösterecekleri iç kulağa yuvarlak pencere membranı yoluyla

geçiş e olanak tanımaktadır. Özellikle orta kulağa uygulanan steroidlerin yuvarlak pencere membranından iç kulağa diffüze olduğu gösterilmiştir (149,151,152). Bu metodla, oral ya da parenteral yollarla karşılaştırıldığında iç kulakta steroidin çok daha yüksek konsantrasyonları sağlanabilmektedir (151,153). Ayrıca lokal uygulanım hiperglisemi, peptik ülser, hipertansiyon ve osteoporozis gibi steroidlerin sistemik uygulanımında sık görülen yan etkilerinin ortaya çıkmasına (151,154) ve daha önemlisi kemoterapötik ajanların etkinliğinin azalmasına (150) engel olmaktadır.

Altaş ve arkadaşlarının guinea piglerde yaptıkları çalışmada gentamisin ve sisplatinin beraber kullanımının ototoksisiteyi arttırdığı ve pirasetam ile birlikte kullanımının ototoksisiteyi azalttığı gösterilmiştir (155,156). Altaş ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada da guinea piglerde gama radyasyon ototoksisitesinin L-Carnitin ile önüne geçilebileceği gösterilmiştir (157).

Günümüz otolaringolojisinin ana odağı, hasarlı doku veya organların değiştirilmesi ile fonksiyonun restorasyonudur. Bu değişim ya doku nakli ya da yapay materyallerin implantasyonu ile kolaylaştırılabilir. İmmün sistemin reddetme eğilimi, potansiyel verici bölge morbiditesi ve donör dokunun sınırlı tedariki dahil olmak üzere, bu yaklaşımların her ikisiyle ilişkili önemli uyarılar vardır. Hasarlı dokunun etkili, stabil ve uzun süreli onarımı sadece pluripotent progenitör hücrelerin transplantasyonunu gerektirebilir; ancak, tamamlanmak için özellikle iç kulakta fonksiyonel restorasyon, hem kök hücre transplantasyonu hem de normal farklılaşmayı indüklemek için uygun ortamın sağlanması için doku mühendisliğinin gerekli olacağı düşünülmektedir (158).

Kusurun tersine çevrilmesi için yeterli sayıda hücrenin üretilmesi, hücrelerin doğru fenotipe göre ayrılması, uygun üç boyutlu doku yapılarının oluşumu, mekanik ve yapısal olarak uyumlu hücrelerin / dokuların üretimi dahil olmak üzere fonksiyonel restorasyona ulaşmak için birçok kriter yerine getirilmelidir (158).

Terapötik uygulama için kök hücrelerin en etkili kaynağını oluşturan şey tartışmalıdır. Erişkin kök hücrelerinin, sinir sistemi, dermis, kan ve iç kulak dahil olmak üzere, tahmin edilenden çok daha fazla sayıda dokuda bulunduğu ve daha önce düşünülen çok daha fazla plastisitesinin olduğundan şüphe yoktur (159).

Bu hücreler in vitro olarak farklılaşma potansiyellerini kaybetmeden korunabilir ve birçok nesil için çoğalır. Daha sonra osteoblastlar, kondrositler veya adipositler oluşturmak için ayrı soyları ayırmak için indüklenebilirler (159).

Bir dizi hücre tedavisi çalışması başarı göstermiştir. ES ve erişkin kök hücrelerinin normal ve hasarlı dokulara in vivo olarak verilmesi ile bazı durumlarda terapötik bir etkinin gözlemlendiği görülmüştür (160,161). Yetişkin sıçan hipokampus türevi nöral kök hücreler (NSC'ler) beyin bölgelerine başarılı bir şekilde aşılanmıştır (162-164).

Bjorklund ve meslektaşları (2002) tarafından yapılan bir araştırma, ES hücrelerinin terapötik sonuçlar için potansiyelini göstermektedir. Fare ES hücreleri, bağışıklık sistemi baskılanmış sıçanların striatumlarının içine transplante edildi. ES hücreleri, 14-16 haftalık bir süre boyunca striatum içinde tamamen farklılaşmış dopaminerjik nöronlara kendiliğinden çoğaldılar. Bu nöronlar, dopamin aracılı motor asimetrisinin tedrici ve sürekli davranışsal restorasyonunu başlattı(161). Bu çalışmanın iç kulağa yönelik hücre tedavisi için benzer bir yaklaşım bağlamında ümit vericidir. Eşit ölçüde cesaret verici çalışmaların bir kısmı, yetişkin kemik iliği kök hücrelerinin diğer organlardan gelen dokuları onararak tamir edebildiğini göstermiştir (165-167).

Kokleada hücre tedavisinin amacı hasarlı veya kayıp hücrelerin yerine koklear mimariyi bozmadan ve mevcut işitme fonksiyonunu korumaktır veya tedavi etmektir. Ototoksik ilaçların uygulanması tüylü hücrelerde kalıcı işitme kusurlarına neden olabilir (168).

İç kulağa kök hücre uygulamasının ilk raporlarından biri, Ito ve arkadaşları (2001) tarafından sıçan koklearına implante edilen yetişkin sıçan NSC'lerinin hayatta kalma ve göçünü gösteren bir çalışmadır. Kök hücreler morfolojisini benimsediği Corti organına göç etmiştir (169). Bununla birlikte, bu morfolojiyi benimseyen NSC'lerin sayısı sınırlıdır. Yazarlar, kök hücrelerin kokleanın doğru bölgesine lokalize olabilmesi halinde tüylü hücre karakteristiklerini alabileceklerini iddia etmişlerdir (169). Ancak, kök hücrelerin tek başına Corti organına doğru hedeflenmesinin yeterli olması muhtemel değildir. Hücre gelişimi ve uygun gelişimsel işaretler olarak farklılaşma yetişkin kokleada mevcut olmayabilir.

Başka bir çalışmada koklear saç hücreleri, ototoksik antibiyotik neomisin'in lokal enjeksiyonu ile tahrip edildi ve NSC'ler, kokleanın ikinci dönüşünden bir delik açılarak implante edildi. Nakledilen hücrelerin neredeyse yarısı vestibüler epitele göç etti ve % 5'i 25 gün sonra tüylü hücre markeri miyozin VIIa'yı eksprese etti. Aksine, çok az sayıda kök hücre koklear duyu epiteline göç etmiştir ve hiçbir miyosin VIIa eksprese etmemiştir (170).

Matsuoka ve arkadaşları MSC'lerin in vivo olarak SGN'lerin özelliklerini benimseme potansiyelini araştırdılar (171). MSC'ler ACTbEGFP farelerinden elde edildi ve yetişkin gerbil koklelara timpanik veya modiolar enjeksiyon yoluyla enjekte edildi. İmplantasyondan 7 gün sonra yapılan histolojik analizlerde hücrelerin scala timpani ve scala vestibuli'de olduğu ve sadece birkaçının scala mediaya geçtiği görüldü.

Corrales ve meslektaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise gerbillere doğrudan doğruya uygulanmış ouabain ile işitme kaybı yaratıldı. Sonrasında ise kök hücreler yuvarlak pencere nişlerinden koklear sinir gövdesine enjekte edildi. İmplantasyon sonrası iyileşme normal distorsiyon ürünü otoakustik emisyonların ve koklear sinir lifi aktivitesini temsil eden artmış bileşik aksiyon potansiyeli eşiklerinin ölçülmesiyle doğrulanmıştır (172).

Hücre tedavisi için önemli bir husus, yabancı hücreler bir organizmaya verildiğinde immünolojik reaktivite potansiyelidir. Bu etkiler alograflar veya otolog transplantasyonla açık bir şekilde sınırlandırılrsa da, insan dokusunun kullanımıyla ilgili etik kaygılar ve pratik zorluklar mevcuttur. Bu transplantasyon formlarının uygulanması olası değildir. Bu nedenle, sıçanlar, fareler, kobaylar ve domuzlar gibi organizmalardan alınan dokular ve hücreler çok daha erişilebilir olduğundan, deneysel stratejileri ksenotransplantasyonu içermektedir. Aslında, hücre terapisinde önemli ilerlemeler ksenotransplantasyon ile kolaylaştırılmıştır. Özellikle karaciğer yetmezliği, Huntington hastalığı ve epilepsi gibi beyin rahatsızlıkları için domuz greftleri kullanılmaktadır(173). Bununla birlikte, her zaman yeni enfektif ajanların hayvandan insana bulaşma riski vardır.

Birçok çalışma, insanlarda gözlemlenen bir dizi nörolojik bozukluğu tedavi etmek için hücrelerin ve dokuların başarılı çapraz tür transplantasyonunu göstermiştir. Örneğin, Gray ve meslektaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada,

Parkinson hastalığında transgenik bir farenin gelişmekte olan hipokampusundan türetilen multipotent hücrelerinin, etkilenen farelerin ve marmosetlerin hipokampusne transplantasyonu tarif edilmiştir (174). Daha sonra hücrelerin hasarlı bölgeye göç ettiği ve hem nöronal hem de glial fenotipleri benimsediği gösterilmiştir.

Qu ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan daha umut verici bir çalışma, insan kök hücrelerinin diğer türlerden organizmalara başarılı bir şekilde aşılanabileceğini ve hatta işlevi geri kazandırabildiğini göstermiştir. Bu araştırma grubu insan NSC'lerini olgun (6 aylık) ve yaşlı (24 aylık) sıçanların ventrikllerine gönderdi. Yaşlı fareler, bilişsel işlevlerine dayanarak iki gruba ayrıldı: yaşlı bellek bozuk ve bozulmamış. İnsan NSC implantasyonundan sonra, yaşlı hayvanların çoğunluğunun olgun hayvanlarla aynı aralıkta kognitif fonksiyon geliştirdiği ve bir yaşlı bellek engelli hayvanın olgun hayvanların herhangi birinden daha iyi davranış sergilediği bulunmuştur (175).

Tamura ve arkadaşları tarafından farelerde yapılan bir çalışmada farelerin dorsal telensefalonu nroepitelinden elde edilen NSC'ler kullanılmıştır. Farelerin sol posterior semisirküler kanalından sisplatin solüsyonu (fiziyojik salin içinde 2.5 mg / ml; Sigma, St Louis, MO, ABD) enjekte edildi. Bu modelde, SG hücrelerinin yaklaşık% 60'ı sisplatin tedavisinden 14 gün sonra kaybolur. Sisplatin uygulanmasından 14 gün sonra NSC agregatları yuvarlak pencereden enjekte edildi. Transplantasyondan 14 gün sonra, yapılan histolojik incelemelerde SG hücrelerindeki iyileşme gösterilmiştir (176).

Yapılan çalışmalarda yeni doğan farelerin (177) ve yetişkin farelerin (178) i kulağana aşılanan NSC'lerin hayatta kaldığını göstermiştir. Ek olarak NSC'lerin aminoglikozidlerle hasar gören kokleaların modiolus ve duyusal epitelyumuna gç ettiği gösterilmiştir (179).

Yong-Bum ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ouabain ile hasar görmüş kobayın skala timpanisine 7 gün sonra mezenkimal kök hücre transplante edilmiştir. Bu şekilde yaratılmış olan işitsel nöropati modelinde kök hücre verilen grupta SG nöronları arttı ve ABR sonuçları transplantasyondan sonra hafif işitme iyileşmesi gösterdi (180).

Li-Dong ve arkadaşları, yetişkin ve aminoglikozit ile sağırlaştırılmış Sprague-Dawley sıçanların skala timpanisine transplante edilen fare embriyonik kök

hücrelerinin (ESC'ler), g   edip ve kısmen iç kulağın duysal epitelinin yapısını geri y kleyebileceğini gösterdi. Normal kokleaya transplante edilen kök hücreler g   etmemişlerdir, ancak amikasin ile hasar görmüş kokleadakiler scala mediaya ve vestibüler sisternaya g   edebilir (181).

Fu Y. ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada normal sağlıklı sıçanlarda yuvarlak pencere aracılığı ile kokleaya nöral kök hücre implante etmişlerdir. Pre ve post implantasyonel ABR testleri yapmış ve ABR sonuçları arasında fark bulmamışlardır. Kök hücre implantasyonu sonrası ışık ve elektron mikroskopy ile yapılan histolojik incelemelerde de belirgin bir fark görmemişlerdir (182).

Fare veya sıçan kokleasına, embriyonik veya mezenkimal kök hücre implantasyon tedavisini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda implante edilen kök hücrelerin koklea içerisinde yaygın bir şekilde dağıldığı ve yerleştikleri alanlara uyumlu bir şekilde yüzey markerlarını sentezlediği ve koklear histolojiyi restore ettiği gösterilmiştir (183-185).

Bizim  alı mamızda kök hücre+sisplatin grubu tüm gruplarla kar ıla tırıldı. Kök hücre ve sisplatin uygulanan grup sham ve kontrol grupları dışındaki gruplardan anlamlı derecede daha düşük işitme e iklerine sahipti. Kontrol grubu bütün gruplardan anlamlı derecede daha düşük işitme e iklerine sahipti. Bu sonucu kontrol grubu haricindeki sıçanların timpan membranlarına yapılan perforasyona ve uygulanan sisplatinin neden olduğu ototoksisiteye bağlı olduğunu düşünüyoruz. Kök hücre ve sisplatin uygulanan grup ile sham grubu arasında işitme eşikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktaydı. Bu da bize kök hücre kullanımının sisplatine bağlı ototoksisiteyi nötralize edebilme potansiyelini gösteriyordu.

PRP grubu ve sisplatin grubu karşılaştırıldığında PRP uygulanan gruba, sisplatin gruba göre anlamlı derecede daha düşük ABR eşikleri mevcuttu. PRP grubu ve sham grubu karşılaştırıldığında ise aralarında anlamlı farklılık var ve PRP grubunun ABR eşikleri belirgin olarak daha yüksekti. PRP, sisplatin ototoksisitesini önlemede etki ediyor ancak kök hücre tek başına daha etkili görünmektedir. Kök hücre+PRP+sisplatin grubu ve sham grubu arasında anlamlı farklılık var ve kök hücre+PRP+sisplatin grubunun ABR eşikleri daha yüksekti.

Kök hücre+PRP+sisplatin uygulanan grup hem kök hücre+sisplatin hem de PRP+sisplatin uygulanan gruba göre anlamlı derecede daha yüksek işitme eşiklerine sahipti. Kök hücre ve PRP'nin beraber kullanılmasının her ikisinin de tek kullanılmasına göre birbirlerinin etkisini azalttığı görüldü. Bu konuda daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda, başka çalışmalarda da kullanılmış olan 4 gün boyunca günlük 4mg/kg yani toplamda 16mg/kg olan bölünmüş dozlarda sisplatin uyguladık (97). Sisplatin verilen sıçanlara sisplatin verilen 4 gün boyunca günlük 15 ml subkütan serum fizyolojik enjeksiyonu yapıp dehidratasyonun önüne geçildi. Hem bölünmüş sisplatin dozları hem de günlük yapılan hidrasyon ile çalışma süresince sıçan kaybımız olmadı.

Bütün bu sonuçlar belki şöyle yorumlanabilir: Sisplatin ototoksitesini önlemede kök hücre de PRP de etkiliydi. Kök hücre kullanımı sham grubuna benzer bir ABR sonucu göstermiş olup sisplatin ototoksitesini nötralize edebilme potansiyeli göstermiştir. Ancak bu iki ajanın(kök hücre ve PRP) beraber kullanılması tek tek kullanılmasına göre daha az etkili izlenmiştir. Kök hücre ve PRP'nin sisplatin ototoksitesini önlemedeki rolünün araştırılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.SONUÇ

Literatür taramamızdan görülebildiği kadarı ile sisplatin ototoksitesinden korunmak için ve/veya geri döndürebilmek için sayısız çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir. Ancak henüz bu çalışmaların sonuçlarından hiçbiri günlük pratik kullanıma dahil olmamıştır. Bu çalışmalarda kullanılan ajanların hangisinin kullanılacağı konusunda ortak bir görüşe varılamamıştır.

Biz de çalışmamızda son yıllarda koklear toksisite ve hasarlanma çalışmalarında kullanılmakta olan kök hücre ve literatür taramasından anlaşıldığı kadarı ile daha önce bu amaçla denenmemiş olan PRP ajanlarının ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıkları takdirde nasıl sonuçlar doğuracağını araştırmayı planladık. Kullandığımız sisplatine bağlı gelişen ototoksisite ABR ile gösterildi.

Çalışmamızda kullandığımız kök hücre ve PRP, sadece sisplatin uyguladığımız gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük ABR eşiklerine sahipti. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derece de yüksek ABR eşikleri mevcuttu. Ayrıca kök hücrenin PRP'ye üstünlüğü mevcuttu ve kök hücre ile PRP'nin beraber kullanımının birbirinin etkisini azalttığı görülmüştür.

Bu sonuçların doğrulanması için immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik çalışmaların da dahil edildiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Batwe, W.. “ Current Diagnosis and Treatment in Otolaryngology Head and Neck Surgery”. New York: McGraw Hill; p. 577-82, (2008).
2. Akyıldız, N.. “İç Kulak Anatomisi. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi”. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; p. 49-61 (1998).
3. Wackym, P.A.. “Ballenger JJ Diseases of the Nose, Throat, Ear, Head&Neck: Lea&Febiger;. p. 922-7, (1991).
4. Paul P.W., “Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery”. St Louis: Mosby;. p. 2533-46, (1998).
5. Devranoglu, I.A.. “Dış ve Orta Kulak Anatomisi. Dış ve Orta Kulak Cerrahisi”. Istanbul, Deomed Yayıncılık. p. 1-11, (2011).
6. Gerçeker, M.. “Temporal kemiğin cerrahi anatomisi”. Ankara: MN Medikal ve Nobel Tıp Kitabevi. p. 3-17, (2013).
7. Shambaugh, G.E. “Development of Anatomy of the Temporal Bone and Skull Base”. Philadelphia, WB Saunders. p. 3-35, (2003).
8. Gerçeker, M., Beton, S.. “Kokleanın mikroskopik anatomisi”. Ankara: MN Medikal ve Nobel Tıp Kitabevi;. p. 17-23 (2013).
9. Lim, D.J., “Functional structure of the organ of Corti:A review”. Hear Res.;22:117-146, (1986).
10. Karasalihoğlu, A.R.. “Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi”. Ankara. Güneş Kitabevi. 2. Baskı.: 3-16 (1992).
11. Lee, K.J.. “Essential Otorinolaringology- Head and Neck Surgery”. New York. Medical Examination Publishing Company p. 1-24, (1991).
12. Çelik, O.. “Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi” Asya Tıp Kitabevi, p. 1-35, 63-76, 269-282, (2007)
13. Duckert, L.G.. “Cummings Otolaryngology-Head and Neck Surgery” Vol.4, St.Luis Missouri: Mosby Year Book Inc.;:2483-2496, (1993).
14. Şerbetçioğlu, B., Dizdar, H.. “Temel Odyoloji”. Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri, p.113-122, (2011).
15. Uysal, S.G.. “Ratlarda aksutik travma sonrası intratimpanik retinoik asit uygulamasının elektrofizyolojik etkilerinin araştırılması (Deneysel çalışma)”.

Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Odyoloji, Konuşma ve Ses Bozuklukları Yüksek Lisans Programı, Ankara, (2015).

16. Russell, I.J.. “Origin of the receptor potential in inner hair cells of the mammalian cochlea, evidence of Davis' theory”. *Nature*.;301:334-336, (1983).

17. American Speech Language Hearing Assosiation (ASHA). Working group on auditory processing disorders. (Central) auditory processing disorders. Technical report,,2005.

18. Akyıldız, N.. “Temporal Kemik ve İşitme Organlarının Anatomisi. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi”. Cilt 1. Ankara, Bilimsel TıpYayınevi. 22-62, (1998).

19. Zeigelboim, B.S.,Carvalho, H.A.S.,Teive, H.A.G.. “Central auditory processing in patients with spinocerebellar ataxia”. *Hearing Research* 3:1-10, (2015).

20. Cope, T.E., Baguley, D.M., Griffiths, T.D.. “The functional anatomy of central auditory processing”. *Pract Neurol* 15: 302–308, (2015).

21. Kelly, J.B., Masterton, B.. “Auditory sensitivity of the albino rat”. *J Comp Physiol Psychol*, 91(4):930-6, (1977).

22. Gibbs, R.A., Weinstock, G.M., Metzker, M.L.. “Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution”. *Nature*, 428(6982):493-521, (2004).

23. Antonio, J., Oliveira, A. D.. “Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research”. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 75:43–49, (2009).

24. Fleischer, G.. “Evolutionary principles of the mammalian middle ear, *Advances in anatomy, embryology and cell biology*”, New York, 55:5-70 Springer-verlag, (1978).

25. Göksu, N.. “Anatomy of the guinea pig temporal bone”. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 101: 699-704, (1992).

26. Sehitoğlu, M.A.. “Surgical anatomy of the guinea pig”. *Ear Nose Throat Journal*: 69, 91-7, (1990).

27. Şerbetçioğlu, B., Dizdar, H.. “Temel Odyoloji”. Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri, p.113-122, (2015).

28. Penner, M.J., Glotzbach, L., Huang, T.. “Spontaneous otoacoustic emissions:measurement and data”. *Hear Res.*, 68: 229-37, (1993).

29. Oysu, Ç., Külekçi, M., Kavak, L.. “Kontralateral Akustik Uyarının Spontan Otoakustik emisyonlar Üzerine Etkileri”. Turk Arch Otolaryngol, 39(2): 96-101, (2001).
30. Lonsbury-Martin, B.L., McCoy, M.J., Whitehead, M.L.. “Clinical testing of distortionproduct otoacoustic emissions”. Ear Hear, 14(1):11-22, (1993).
31. Erdem, T.. “Otoakustik emisyonların klinikte kullanım alanları (Çeşitli tiplerde işitme kaybı gösteren veya isitme taraması yapılan 166 olgunun 287 kulagı üzerinde yapılan çalışma)”. Uzmanlık Tezi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı İzmir, (1998).
32. Özturan, O., Lew, H., Jerger, J.. “Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları”. KBB İhtis Derg, 2: 194–205, (1994).
33. Mills, D.M., Feeney, M.P., Drake, E.J.. “Developing standards for distortion product otoacoustic emission measurements”. J Acoust Soc Am., 122(4) : 2203-14, (2007).
34. Lonsbory-Martin, B.L., Martin, G.. “A review of otoacoustic emissions”. J Acoust Soc Am 89:2027-67, (1991).
35. Kemp, D.T., Brown, M.B.. “Ear canal acoustic and round window electrical correlates of $2f_1-f_2$ distortion generated in the cochlea”. Hear Res. 13:39-46 (1984).
36. Lonsbory-Martin, B.L., Harris, F.B., Stagner, B.B., Hawkins, M.D., Martin, G.K.. “Distortion product otoacoustic emissions in human. II. relations to acoustic immittance and stimulus frequency and spontaneous emissionss in normally hearing subjects”. Ann Otol Rhinol Laryngol 99: 15–29, (1990).
37. Neely, S.T., Johnson, T.A., Kopun, J., Dierking, D.M., Gorga, M.P.. “Distortion-product otoacoustic emission input/output characteristics in normal-hearing and hearing impaired human ears”. J Acoust Soc Am 126(2):728-38 (2009).
38. Yılmaz, H.R., Uz, E., Yücel, N., Altuntaş, I., Özçelik, N.. “Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes indiabetic rat liver”. J Biochem Mol Toxicol 18(4):234-8 (2004).
39. Dağlı, A.Ş.. “Distortion product otoakustik emisyonlar (Uyarı/cevap eğrileri)”. K.B.B. BBC Derg., 4 : 2-140-2 (1996).

40. Martin, G.K., Probst, R., Lonsbury-Martin, B.L.. "Otoacoustic emissions in human ears: Normative Findings". *Ear Hear.* 11: 106-20, (1990).
41. Lonsbury-Martin, B.L., Harris, F.B., Stagner, B.B.. "Distortion product otoacoustic emissions in human. II. relations to acoustic immittance and stimulus frequency and spontaneous emissions in normally hearing subjects". *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 147:15–29, (1990).
42. Korres, G.S., Balatsouras, D.G., Tzagaroulakis, A.. "Distortion product otoacoustic emissions in an industrial setting". *Noise Health* 11(43):103-10, (2009).
43. Bonfils, P., Avan, P., Francois, M., Trotoux, J., Narcy, P.. "Distortion-product otoacoustic emissions in neonates: normative data". *Acta Otolaryngol.* 112(5):739 - 44, (1992).
44. Muş, N.. "İşitsel Beyin Sapı Cevapları". Ankara, (1996).
45. Gorga, M.P., Thornton, A.R.. "The choice of stimuli for ABR measurements". *Ear and hearing.* 10(4):217-30, (1989).
46. Gorga, M.P., Worthington, D.W., Reiland, J.K., Beauchaine, K.A., Goldgar, D.E.. "Some comparisons between auditory brain stem response thresholds, latencies, and the pure-tone audiogram". *Ear and hearing.* 6(2):105-12, (1985).
47. Stapells, D.R., Picton, T.W.. "Technical aspects of brainstem evoked potential audiometry using tones". *Ear and hearing.* 2(1):20-9, (1981).
48. Burkard, R.. "Handbook of clinical audiology". USA: Williams and Wilkins; p. 222-41, (2009).
49. Koga, K., Tonaka, Y.. "Auditory brainstem responses and behavioral audiometry: Developmental correlates". *Arch Otolaryngol Head and Neck Surg.* 106:564-6, (1986).
50. Özdamar, Ö., Stein, L.. "Auditory brain stem response (ABR) in unilateral hearing loss". *The Laryngoscope.* 91(4):565-74, (1981).
51. Giroux, A.P., Pratt, L.W.. "Brainstem evoked response audiometry". *Gir Ann OtolRhinol Laryngol.* 92:183-6, (1983).
52. Niyazi, M., Yağlıdere, Ö., Önder, T., Dündar, A.. "Erişkin İnsanlarda Beyin Sapı Uyarılmış İşitme Cevaplarına Elektrot Lokalizasyonunun Rolü". *Türkiye Klinikleri Journal of Case Reports.* 9(6):419-24, (1991).

53. Paludetti, G., Maurizi, M., Ottaviani, F.. "Effects of stimulus repetition rate on the auditory brain stem responses (ABR)". *Otology & Neurotology*. 4(3):226-34, (1983).
54. Church, M., Jen, K.L., Anumba, J., Jackson, D., Adams, B., Hotra, J.. "Excess omega-3 fatty acid consumption by mothers during pregnancy and lactation caused shorter life span and abnormal ABRs in old adult offspring". *Neurotoxicology and teratology*. 32(2):171-81, (2010).
55. Proctor, T.B., Velde, T.M., Dayal, V.S., Bhattacharyya, T.K., Arthwol, J, Towle, V.L.. "Auditory brainstem response in young and old guinea pigs". *The American Journal of Otology*, 19;226-229, (1998).
56. Yumuşakhuylu, A.C.. "Kobaylarda sistemik resveratrol tedavisinin sisplatin ototoksitesi üzerine koruyucu etkilerinin ABR ile incelenmesi". Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz ve Baş-Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul 2010.
57. Fischer, Janos., Ganellin, C.R.. "Analogue-based Drug Discovery". John Wiley & Sons. p. 513. ISBN 9783527607495, (2016).
58. Loehrer, P. J., Einhorn, L. H.. "Drugs five years later. Cisplatin". *Annals of Internal Medicine*. 100 (5): 704–13. doi:10.7326/0003-4819-100-5-704. PMID 6370067,(1984).
59. Milosavljevic, N., Duranton, C., Djerbi, N., Puech, P. H., Gounon, P., Lagadic-Gossman, D., Dimanche-Boitrel, M. T.; Rauch, C., Tauc, M., Counillon, L., Poët, M. "Nongenomic effects of cisplatin: acute inhibition of mechanosensitive transporters and channels without actin remodeling". *Cancer Res*. 70 (19): 7514–22. doi:10.1158/0008-5472,(2010).
60. Schacht, J., Talaska, A.E., Rybak, L.P.. "Cisplatin and aminoglycoside antibiotics: hearing loss and its prevention". *Anat Rec (Hoboken)*. 295(11):1837-50. doi: 10.1002/ar.22578, (2012).
61. Wang, D., Lippard, S.J.. "Cellular processing of platinum anticancer drugs". *Nature Reviews Drug Discovery*. 4 (4): 307–320. doi:10.1038/nrd1691. ISSN 1474-1776,(2005).
62. Johnstone, T.C., Suntharalingam, K., Lippard, S.J.. "The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs". *Chem. Rev*. 116: 3436–3486. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00597. PMC

4792284 .PMID26865551,(2016).

63. Peyrone, M.. "Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Platinchlorür" [On the action of ammonia on platinum chloride]. *Ann. Chem. Pharm.* 51 (1): 1–29. doi:10.1002/jlac.18440510102, (1844).

64. Rosenberg, B., Vancamp, L., Krigas, T.. "Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode". *Nature*. 205 (4972): 698–699. Bibcode:1965 Natur.205..698R. doi:10.1038/205698a0. PMID 14287410, (1965).

65. Rosenberg, B., Van Camp, L., Trosko, J. E., Mansour, V. H.. "Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents". *Nature*. 222 (5191): 385–6. Bibcode:1969 Natur.222..385R. doi:10.1038/222385a0. PMID 5782119, (1969).

66. Carpenter, D. P. "Reputation and power: organizational image and pharmaceutical regulation at the FDA". Princeton, NJ: Princeton University Press. ISBN0-691-14180-0,(2010).

67. Park, Y.H.. "Stem Cell Therapy for Sensorineural Hearing Loss, Still Alive?". *J Audiol Otol.* 19(2):63-7. doi: 10.7874/jao.2015.19.2.63, (2015).88- Schöler, H.R.. "The Potential of Stem Cells: An Inventory". Ashgate Publishing. p. 28. ISBN 978-0-7546-5755-2,(2007).

68. Loehrer, P. J., Einhorn, L. H.. "Drugs five years later. Cisplatin". *Annals of Internal Medicine*. 100 (5): 704–13. doi:10.7326/0003-4819-100-5-704. PMID 6370067, (1984).

69. Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., Jones, J.M.. "Blastocysts Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human". *Science*. 282 (5391): 1145–47. Bibcode:1998Sci...282.1145T. doi:10.1126/science.282.5391.1145. PMID 9804556, (1998).

70. Jiang, Y., Jahagirdar, B.N., Reinhardt, R.L., Schwartz, R.E., Keene, C.D., Ortiz-Gonzalez, X.R., Reyes, M., Lenvik, T., Lund, T., Blackstad, M., Du, J., Aldrich, S., Lisberg, A., Low, W.C., Largaespada, D.A., Verfaillie, C.M.. "Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow". *Nature*. 418 (6893): 41–9. doi:10.1038/nature00870.PMID12077603,(2002).

71. Ratajczak, M.Z., Machalinski, B., Wojakowski, W., Ratajczak, J., Kucia, M.. "A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4(+) stem cells in adult bone

marrow and other tissues". *Leukemia*. 21 (5): 860–7. doi:10.1038/sj.leu.2404630. PMID17344915,(2007).

72. Narasipura, S.D., Wojciechowski, J.C., Charles, N., Liesveld, J.L., King, M.R.. "P-Selectin coated microtube for enrichment of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells from human bone marrow". *Clin Chem*. 54 (1): 77–85. doi:10.1373/clinchem.2007.089896. PMID 18024531, (2008).

73. Terai, S., Ishikawa, T., Omori, K., Aoyama, K., Marumoto, Y., Urata, Y., Yokoyama, Y., Uchida, K., Yamasaki, T., Fujii, Y., Okita, K., Sakaida, I. "Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy". *Stem Cells*. 24 (10): 2292–8. doi:10.1634/stemcells.2005-0542. PMID16778155,(2006).

74. Subramaniyan, R., Amalorpavanathan, J., Shankar, R... "Application of autologous bone marrow mononuclear cells in six patients with advanced chronic critical limb ischemia as a result of diabetes: our experience". *Cytotherapy*. 13 (8): 993–9, doi:10.3109/14653249.2011.579961. PMID 21671823, (2011).

75. Madhusankar, N.. "Use of Bone Marrow derived Stem Cells in Patients with Cardiovascular Disorders". *J Stem Cells Regen Med*. 3(1):28-9, (2007).

76. Moore, M., Keith, L., Persaud, T.V.N., Mark, G.. "Before We Are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects". Philadelphia, PA: Saunders, Elsevier. 2013Print.

77. Kang, K.S., Kim, S.W., Oh, Y.H., Yu, J.W., Kim, K.Y., Park, H.K., Song, C.H., Han, H.. "A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study". *Cytotherapy*. 7 (4): 368–73. doi:10.1080/14653240500238160. PMID 16162459, (2005).

78. Strauer, B.E., Schannwell, C.M., Brehm, M.. "Therapeutic potentials of stem cells in cardiac diseases". *Minerva Cardioangiol*. 57 (2): 249–67. PMID 19274033, (2009).

79. Yen, A.H., Sharpe, P.T.. "Stem cells and tooth tissue engineering". *Cell Tissue Res*. 331 (1): 359–72. doi:10.1007/s00441-007-0467-6. PMID 17938970, (2008).

80. Hanson, C., Hardarson, T., Ellerström, C., Nordberg, M., Caisander, G., Rao, M., Hyllner, J., Stenevi, U.. "Transplantation of human embryonic stem cells onto a

partially wounded human cornea in vitro". *Acta Ophthalmologica*. 91 (2): 127–130. doi:10.1111/j.1755-3768.2011.02358.x. ISSN 1755-3768. PMC 3660785 . PMID 22280565,(2013).

81. Vastag, B.. "Stem Cells Step Closer to the Clinic: Paralysis Partially Reversed in Rats with ALS-like Disease". *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 285 (13): 1691–1693. doi:10.1001/jama.285.13.1691. PMID 11277806, (2001).

82. Gurtner, G.C., Callaghan, M.J., Longaker, M.T.. "Progress and potential for regenerative medicine". *Annu. Rev. Med.* 58: 299–312. doi:10.1146/annurev.med.58.082405.095329. PMID 17076602, (2007).

83. Smith, P.A.. "Intra-articular Autologous Conditioned Plasma Injections Provide Safe and Efficacious Treatment for Knee Osteoarthritis: An FDA-Sanctioned, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial". *The American Journal of Sports Medicine*. 44 (4): 884–891. doi:10.1177/0363546515624678. ISSN 1552-3365. PMID 26831629, (2016).

84. Mishra, A., Woodall, J., Vieira, A.. "Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma". *Clinics in Sports Medicine*. 28 (1):11325. doi:10.1016/j.csm.2008.08.007. PMID 19064169, (2009).

85. Andia, I., Sanchez, M., Maffulli, N.. "joint pathology and platelet-rich plasma therapies". *Expert Opinion in Biological Therapies*. 12 (1): 7–22. doi:10.1517/14712598.2012.632765. PMID 22171664, (2012).

86. Griffin, X.L., Smith, C.M., Costa, M.L.. "The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: a systematic review". *Injury*. 40 (2): 158–62. doi:10.1016/j.injury.2008.06.025. PMID 19084836, (2009).

87. Esposito, M.. "Effectiveness of sinus lift procedures for dental implant rehabilitation: a Cochrane systematic review". *Eur J Oral Implantol*. 3 (1): 7–26. PMID 20467595,(2010).

88. Por, Y.C., Shi, L., Samuel, M., Song, C., Yeow, V.K.. "Use of tissue sealants in face-lifts: a metaanalysis". *Aesthetic Plastic Surgery*. 33 (3): 336–9. doi:10.1007/s00266-008-9280-1. PMID 19089492, (2009).

89. Foster, T.E., Puskas, B.L., Mandelbaum, B.R., Gerhardt, M.B., Rodeo, S.A.. "Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications". *Am J Sports Med.* 37 (11): 2259–72. doi:10.1177/0363546509349921. PMID 19875361, (2009).
90. Pocaterra, A., Caruso, S., Bernardi, S.. "Effectiveness of platelet-rich plasma as an adjunctive material to bone graft: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials". *Int J Oral Maxillofac Surg.* 45: 1027–1034. doi:10.1016/j.ijom. 2016.02.012, (2016).
91. Pavlovic, V., Ciric, M., Jovanovic, V., Stojanovic, P.. "Platelet Rich Plasma: a short overview of certain bioactive components". *Open medicine (Warsaw, Poland).* 11 (1): 242–247. doi:10.1515/med-2016-0048. PMID 28352802, (2016).
92. Bielecki, T., Dohan Ehrenfest, D.M., Everts, P.A., Wiczowski, A.. "The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives". *Current pharmaceutical biotechnology.* 13 (7): 1153–62. doi:10.2174/138920112800624373. PMID 21740376, (2012).
93. Borriore, P., Gianfrancesco, A.D., Pereira, M.T., Pigozzi, F.. "Platelet-rich plasma in muscle healing". *Am J Phys Med Rehabil.* 89 (10): 85461. doi:10.1097/PHM. 0b013e3181f1c1c7. PMID 20855985, (2010).
94. Yu, W., Wang, J., Yin, J.. "Platelet-Rich Plasma: A Promising Product for Treatment of Peripheral Nerve Regeneration After Nerve Injury". *Int J Neurosci.* 121 (4): 176–180. doi:10.3109/00207454.2010.544432. PMID 21244302, (2011).
95. Arora, N.S., Ramanayake, T., Ren, Y.F., Romanos, G.E.. "Platelet-rich plasma: a literaturereview". *ImplantDent.* 18(4):30310. doi:10.1097/ID. 0b013e31819e8ec6. PMID 19667818, (2009).
96. Marx, R.E.. "Platelet-rich plasma: evidence to support its use" (PDF). *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 62 (4): 489-96. doi:10.1016/j.joms. 2003.12.003. PMID 15085519,(2004).
97. Kim, S.J., Ho Hur, J., Park, C., Kim, H.J., Oh, G.S., Lee, J.N., Yoo, S.J., Choe, S.K., So, H.S., Lim, D.J., Moon, S.K., Park, R.. "Bucillamine prevents cisplatin-induced ototoxicity through induction of glutathione and antioxidant genes". *Exp Mol Med.* 20;47:e142. doi: 10.1038/emm.2014.112 (2015).

- 98.Saleh S, Demerdash E. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97:91-7.
- 99.Wang D, Lippard S. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature reviews Drug discovery* 2005; 4(4):307-320.
- 100.Özkırış M, Kapusuz Z, Karaçavuş S, Saydam L. The effects of lycopene on cisplatin-induced ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2013; 270(12):3027-3033.
- 101.Goncalves MS, Silveira AF, Teixeira AR, Hyppolito MA. Mechanisms of cisplatin ototoxicity: theoretical review. *J Laryngol Otol* 2013; 127(6): 536-41.
- 102.Stocks RM, Gould HJ, Bush AJ, Dudney BW, Pousson M, Thompson JW. Ototoxic protection of sodium thiosulfate: daily vs constant infusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 131:115-9.
- 103.Rutka R. Ototoxicity. pp.50-179, BC Decker Company, Canada, 2004.
- 104.Sockalingam R, Freeman S, Cherny L, Sohmer H. Effect of high-dose cisplatin on auditory brainstem responses and otoacoustic emissions in laboratory animals. *Otology & Neurotology* 2000; 21(4):521-527.
- 105.Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing research* 2007; 226(1):157-167.
- 106.Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V. Cisplatin ototoxicity and protection: clinical and experimental studies. *The Tohoku journal of experimental medicine* 2009; 219(3):177.
- 107.Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Otology & Neurotology* 2000; 21(4):513-520.
- 108.Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, Butterfield DA. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hearing research* 1996; 98(1):116-124.
- 109.Çakıl B. Deneysel Olarak Oluşturulan Cisplatin Ototoksitesini Önlemede Gingko Biloba Ekstresinin Etkinliğinin DPOAE Testi ile Araştırılması (uzmanlık tezi). Samsun: 19 Mayıs Ü. Tıp Fakültesi, 2007.

- 110.Güneri EA. Kobaylarda Deneysel Olarak Cisplatinle Oluşturulmuş Ototoksisitede Pantotenik Asit Kullanımının OAE ile Değerlendirilmesi (yüksek lisans tezi). İzmir: Dokuz Eylül Ü. 1998
- 111.Laurell G, Engström B. The ototoxic effect of cisplatin in guinea pigs in relation to dosage. *Hearing Res* 1989;58:871-875
- 112.Sie KC, Norton SJ. Changes in otoacoustic emissions and auditory brain stem response after cisplatin exposure in gerbils. *Otolaryngology Head and Neck Surgery* 1997;116:585-592
- 113.Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D. Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol* 1997;18:559-71.
- 114.Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otol Neurotol* 2004;25:910-5.
- 115.Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Cilt 2, s.269-282, Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 2007.
- 116.Kalcioglu MT, Kizilay A, Gulec M, Karatas E, Iraz M, Akyol O, ve ark. The protective effect of erdosteine against ototoxicity induced by cisplatin in rats. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology and Head & Neck* 2005; 262(10):856-863.
- 117.Kuduban O, Kucur C, Sener E, Suleyman H, Akcay F. The Role of Thiamine Pyrophosphate in Prevention of Cisplatin Ototoxicity in an Animal Model. *The Scientific World Journal* 2013; 2013:1-5
- 118.Roldan FA, Trinidad A, Rodriguez VA, Garcia BJ, Millan I, Coronado M, et al. Effect of intratympanic dimethyl sulphoxide (DMSO) in an in vivo model of cisplatin-related ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2014; 271:3121-32261. 47
- 119.Hughes AL, Hussain N, Pafford R, Parham K. Dexamethasone Otoprotection in a Multidose Cisplatin Ototoxicity Mouse Model. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2014; 150(1):115-120.
- 120.Çakıl B. Deneysel Olarak Oluşturulan Cisplatin Ototoksisitesini Önlemede Ginkgo Biloba Ekstresinin Etkinliğinin DPOAE Testi ile Araştırılması. 19 Mayıs

Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Samsun, 2008.

121.Kanter M, Tarladaçalışır YT, Uygun M. Cisplatin nefrotoksisitesinde E vitamininin koruyucu etkileri: ışık ve elektron mikroskopik çalışma. Tıp Araştırmaları Dergisi 2007; 5(3):83-90.

122.Freitas M, Castro BG, De CJ, Gomes R, Barreto MM, Albuquerque RR. Light microscopy study of cisplatin-induced ototoxicity in rats. The Journal of Laryngology & Otology 2009; 123(06):590-597.

123.Ozturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR. Monitoring of Cisplatin Ototoxicity by Distortion-Product Otoacoustic Emissions. Auris Nasus Larynx 1996; 23(1):147-151.

124.Güneri EA. Kobaylarda Deneyisel Olarak Cisplatinle Oluşturulmuş Ototoksisitede Pantotenik Asit Kullanımının OAE ile Değerlendirilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 1998

125.Laurell G, Engström B. The ototoxic effect of cisplatin on guinea pigs in relation to dosage. Hearing research 1989; 38(1):27-33.

126.Stavroulaki P, Apostolopoulos N, Segas J, Tsakanikos M, Adamopoulos G. Evoked otoacoustic emissions-an approach for monitoring cisplatin induced ototoxicity in children. International journal of pediatric otorhinolaryngology 2001; 59(1):47-57.

127.Minami SB, Sha SH, Schacht J. Antioxidant protection in a new animal model of cisplatin-induced ototoxicity. Hear Res 2004; 198(1-2):137-43.

128.Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. Otology & Neurotology 2004; 25(6):910-915.

129.Dündar MA. Cisplatinin indüklediği ototoksisite üzerine melatonin ve alfa lipoik asitin etkileri. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Konya, 2009.

130.Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. Journal of pineal research 2000; 28(2):73-80.

131.Light JP, Silverstein H. Transtympanic perfusion: indications and limitations. Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery 2004; 12(5):378-383.

- 132.Campbell KCM, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. D-Methionine protects against cisplatin damage to the stria vascularis. *Hearing Research* 1999; 138:13-28.
- 133.Church MW, Blakley BW, Burgio DL, Gupta AK. WR-2721 (Amifostine) ameliorates cisplatin-induced hearing loss but causes neurotoxicity in hamsters: dose-dependent effects. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology* 2004; 5(3):227-237.
- 134.So H, Kim H, Lee J, Lee J, Park S, Park C, et al. Flunarizine induces Nrf2-mediated transcriptional activation of heme oxygenase-1 in protection of auditory cells from cisplatin. *Cell Death & Differentiation* 2006; 13(10):1763-1775.
- 135.Dickey DT, Muldoon LL, Kraemer DF, Neuwelt EA. Protection against cisplatin-induced ototoxicity by N-acetylcysteine in a rat model. *Hearing research*. 2004;193(1):25-30.
- 136.Feghali JG, Liu W, Van De Water TR. L-N-Acetyl-Cysteine Protection Against Cisplatin Induced Auditory Neuronal and Hair Cell Toxicity. *The Laryngoscope*. 2001;111(7):1147-55.
- 137.Wang J, Faulconbridge RL, Fetoni A, Guitton M, Pujol R, Puel J. Local application of sodium thiosulfate prevents cisplatin-induced hearing loss in the guinea pig. *Neuropharmacology*. 2003;45(3):380-93.
- 138.Minami SB, Sha S-H, Schacht J. Antioxidant protection in a new animal model of cisplatin-induced ototoxicity. *Hearing research*. 2004;198(1):137-43.
- 139.Li G, Sha S-H, Zotova E, Arezzo J, Van De Water T, Schacht J. Salicylate protects hearing and kidney function from cisplatin toxicity without compromising its oncolytic action. *Laboratory investigation*. 2002;82(5):585-96.
- 140.Korver KD, Rybak LP, Whitworth C, Campbell KM. Round window application of D-methionine provides complete cisplatin otoprotection. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2002;126(6):683-9.
- 141.Li G, Frenz DA, Brahmblatt S, Feghali JG, Ruben RJ, Berggren D, et al. Round window membrane delivery of L-methionine provides protection from cisplatin ototoxicity without compromising chemotherapeutic efficacy. *Neurotoxicology*. 2001;22(2):163-76.
- 142.Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Otology & Neurotology*. 2000;21(4):513-20.

- 143.Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Combined oral delivery of ebselen and allopurinol reduces multiple cisplatin toxicities in rat breast and ovarian cancer models while enhancing anti-tumor activity. *Anti-cancer drugs*. 2005;16(5):569-79.
- 144.Watanabe K-i, Hess A, Bloch W, Michel O. Nitric oxide synthase inhibitor suppresses the ototoxic side effect of cisplatin in guinea pigs. *Anti-cancer drugs*. 2000;11(5):401-6.
- 145.Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. *International journal of audiology*. 2004;43(8):465-70.
- 146.Daldal A, Odabasi O, Serbetcioglu B. The protective effect of intratympanic dexamethasone on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2007;137(5):747-52. Epub 2007/10/31.
- 147.Kolls J, Xie J, LeBlanc R, Malinski T, Nelson S, Summer W, et al. Rapid induction of messenger RNA for nitric oxide synthase II in rat neutrophils in vivo by endotoxin and its suppression by prednisolone. *Experimental Biology and Medicine*. 1994;205(3):220-5.
- 148.Nagura M, Iwasaki S, Wu R, Mizuta K, Umemura K, Hoshino T. Effects of corticosteroid, contrast medium and ATP on focal microcirculatory disorders of the cochlea. *European journal of pharmacology*. 1999;366(1):47-53.
- 149.Hargunani CA, Kempton JB, DeGagne JM, Trune DR. Intratympanic injection of dexamethasone: time course of inner ear distribution and conversion to its active form. *Otology & Neurotology*. 2006;27(4):564-9.
- 150.Herr I, Ucur E, Herzer K, Okouoyo S, Ridder R, Krammer PH, et al. Glucocorticoid cotreatment induces apoptosis resistance toward cancer therapy in carcinomas. *Cancer Research*. 2003;63(12):3112-20.
- 151.Parnes LS, Sun AH, Freeman DJ. Corticosteroid pharmacokinetics in the inner ear fluids: an animal study followed by clinical application. *The Laryngoscope*. 1999;109(S91):1-17.
- 152.Chandrasekhar SS, Rubinstein RY, Kwartler JA, Gatz M, Connelly PE, Huang E, et al. Dexamethasone pharmacokinetics in the inner ear: comparison of route of

administration and use of facilitating agents. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 2000;122(4):521-8.

153.Bird PA, Begg EJ, Zhang M, Keast AT, Murray DP, Balkany TJ. Intratympanic versus intravenous delivery of methylprednisolone to cochlear perilymph. *Otology & Neurotology*. 2007;28(8):1124-30.

154.Doyle KJ, Bauch C, Battista R, Beatty C, Hughes GB, Mason J, et al. Intratympanic steroid treatment: a review. *Otology & Neurotology*. 2004;25(6):1034-9.

155. Öztürk A, Altaş E, Aktan B et al. Guinea Piglerde Cisplatin ve Cisplatin +Gentamisin Kombinasyonunun Ototosik Etkilerinin Histopatolojik Olarak Araştırılması, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 5, 2-3 (1998).

156. Altaş E et al. The Effect of Piracetam in Preventing Combined Cisplatin and Gentamicin-Induced Ototoxicity in a Guinea Pig Model. *The Pain Clinic*, Vol. 16, No. 4, pp. 427-433 (2004).

157. Altaş E et al. L-Carnitine Reduces Cochlear Damage Induced by Gamma Irradiation in Guinea Pigs. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, Vol. 36, No. 3, pp. 312-318 (2006).

158.Vats, A, Tolley, NS, Polak, JM and Buttery, LD. Stem cells: sources and applications. *Clin Otolaryngol* (2002)27: 227–232.

159.De Bari, C, Dell’Accio, F, Vandenabeele, F, Vermeesch, JR, Raymackers, JM and Luyten, FP (2003). Skeletal muscle repair by adult human mesenchymal stem cells from synovial membrane. *J Cell Biol* 160: 909–918.

160.Rideout, WM, Hochedlinger, K, Kyba, M, Daley, GQ and Jaenisch, R. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell* (2002)109: 17–27.

161.Bjorklund, LM, Sanchez-Pernaute, R, Chung, S, Andersson, T, Chen, IY, McNaught, KS et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 2344–2349.

162.Gage, FH, Coates, PW, Palmer, TD, Kuhn, HG, Fisher, LJ, Suhonen, JO et al. Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA* (1995)92: 11879–11883.

- 163.Gage, FH, Ray, J and Fisher, LJ. Isolation, characterization, and use of stem cells from the CNS. *Annu Rev Neurosci* (1995)18: 159–192.
- 164.Suhonen, JO, Peterson, DA, Ray, J and Gage, FH . Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons *in vivo*. *Nature* (1996) 383: 624–627.
- 165.Orlic, D. Adult bone marrow stem cells regenerate myocardium in ischemic heart disease. *Ann NY Acad Sci* (2003) 996: 152–157.
- 166.Korbling, M and Estrov, Z. Adult stem cells for tissue repair—a new therapeutic concept? *N Engl J Med* (2003)349: 570–582.
- 167.Jackson, KA, Majka, SM, Wang, H, Pocius, J, Hartley, CJ, Majesky, MW *et al*. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* (2001)107: 1395–1402.
- 168.Palomar Garcia, V, Abdulghani Martinez, F, Bodet Agusti, E, Andreu Mencia, L and Palomar Asenjo, V. Drug-induced ototoxicity: current status. *Acta Otolaryngol Suppl* (2001)121: 569–572.
- 169.Ito, J, Kojima, K and Kawaguchi, S . Survival of neural stem cells in the cochlea. *Acta Otolaryngol Suppl* (2001)121: 140–142.
- 170.Tateya, I, Nakagawa, T, Iguchi, F, Kim, TS, Endo, T, Yamada, S *et al.*. Fate of neural stem cells grafted into injured inner ears of mice. *Neuroreport* (2003) 14: 1677–1681.
- 171.Matsuoka, AJ, Kondo, T, Miyamoto, RT and Hashino, E . *In vivo* and *in vitro* characterization of bone marrow-derived stem cells in the cochlea. *Laryngoscope* (2006) 116: 1363–1367.
- 172.Corrales, CE, Pan, L, Li, H, Liberman, MC, Heller, S and Edge, AS. Engraftment and differentiation of embryonic stem cell-derived neural progenitor cells in the cochlear nerve trunk: growth of processes into the organ of Corti. *J Neurobiol* (2006)66: 1489–1500.
- 173.Isacson, O and Deacon, TW . Specific axon guidance factors persist in the adult brain as demonstrated by pig neuroblasts transplanted to the rat. *Neuroscience* (1996)75: 827–837.

- 174.Gray, JA, Hodges, H and Sinden, J. Prospects for the clinical application of neural transplantation with the use of conditionally immortalized neuroepithelial stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* (1999) 354: 1407–1421.
- 175.Qu, T, Brannen, CL, Kim, HM and Sugaya, K . Human neural stem cells improve cognitive function of aged brain. *Neuroreport* (2001)12: 1127–1132.
- 176.Tamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Tateya I, Endo T, Kim TS. Transplantation of Neural Stem Cells into the Modiolus of Mouse Cochleae Injured by Cisplatin. *Acta Otolaryngol* 2004; Suppl. 551: 65/68
- 177.Ito J, Kojima K, Kawaguchi S. Survival of neural stem cells in the cochlea. *Acta Otolaryngol* 2001; 121: 140/2.
- 178.Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, et al. Trophic support of mouse inner ear by neural stem cell transplantation. *Neuroreport* 2003; 14: 77/80.
179. Tateya I, Nakagawa T, Iguchi F, et al. Fate of neural stem cells grafted into injured inner ears of mice. *Neuroreport* 2003 (in press).
180. Yong-Bum Cho¹, Hyong-Ho Cho, Sujeong Jang, Han-Seong Jeong, and Jong-Seong Park. Transplantation of Neural Differentiated Human Mesenchymal Stem Cells into the Cochlea of an Auditory-neuropathy Guinea Pig Model. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 492-498
- 181.Li-Dong Zhao, Li Li. Migration and differentiation of mouse embryonic stem cells transplanted into mature cochlea of rats with aminoglycoside-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol*. 2013 Feb;133(2):136-43.
- 182.Fu Y¹, Wang S, Liu Y, Wang J, Wang G, Chen Q, Gong S. Study on neural stem cell transplantation into natural rat cochlea via round window. *Am J Otolaryngol*. 2009 Jan-Feb;30(1):8-16. doi: 10.1016/j.amjoto.2007.12.006. Epub 2008 Jul 9.
- 183.Nakagawa, T.; Ito, J.Cell Therapy for Inner Ear Diseases.Current Pharmaceutical Design, Volume 11, Number 9, April 2005, pp. 1203-1207(5)
- 184.Mark Praetorius, Ignacio Vicario. Efficient transfer of embryonic stem cells into the cochlea via a non-invasive vestibular route. *Acta Otolaryngol*. 2008 Jul;128(7):720-3
- 185.Ks Ahn, S-J Jeon, Ks Ahn, S-J Jeon, J-Y Jung, Ys Kim, Jh Kang, S Shin, T Choi, Isolation of embryonic stem cells from enhanced green fluorescent protein-

transgenic mouse and their survival in the cochlea after allotransplantation.
Cytotherapy Volume 10, 2008 - Issue 7 Pages 720-723.

