

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI



ÇAY ÜZÜMÜ EKSTRESİNİN RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ
ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ
UZMANLIK TEZİ

Dr. Doğukan ÖZDEMİR

Yrd. Doç. Dr. Abdulkadir Özgür

Tez Danışmanı

Rize, 2016

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, birlikte çalışmaktan gurur duyduğum, desteğini esirgemeyen değerli hocamız Sayın Prof. Dr. Engin Dursun'a,

Uzmanlık eğitimimde desteklerini benden esirgemeyen, hekimlik yönü kadar insanlık yönünü de örnek aldığım, önerilerinden faydalandığım Sayın Yard. Doç. Dr. Abdulkadir Özgür'e,

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Münir Demirci'ye,

Kliniğimizde birlikte çalışmaktan onur duyduğum, Sayın Yard. Doç. Dr. Zerrin Coşkun'a , Sayın Yard. Doç. Dr. Özlem Çelebi Erdivanlı'ya, Sayın Yard. Doç. Dr. Suat Terzi'ye, Sayın Op.Dr. Metin Çeliker'e,

Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarım, servis ve ameliyathane hemşirelerimiz ve yardımcı personelimize,

Tez çalışmamın deneysel aşamasında desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Yıldırım Kalkan ve Sayın Doç. Dr. Adnan Yılmaz'a,

Benden desteğini hiç esirgemeyen çok sevgili eşim Dr. Şule Özdemir'e, beni hayata hazırlarken hiçbir zorluktan kaçınmayan matematik dehası babama ve anneme sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Doğukan Özdemir

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	III
GRAFİK VE TABLO DİZİNİ.....	IV
ŞEKİL DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kulak Embriyolojisi.....	3
2.2 Kulak Anatomisi	4
2.2.1 Dış Kulak Yolu Anatomisi.....	4
2.2.2 Orta Kulak Anatomisi.....	5
2.2.3 İç Kulak Anatomisi.....	8
2.3 İç Kulak Histolojisi.....	14
2.4 İşitme Fizyolojisi.....	17
2.5 Ototoksisiteye Bağlı İşitme Kaybı.....	19
2.6 Ototoksisitenin odyolojik monitorizasyonu	20
2.7 Cisplatin	24
2.8 Çay üzümü.....	25
3. MATERYAL VE METOD.....	27
4. BULGULAR VE SONUÇLAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	53
6.ÖZET.....	58
7.ABSTRACT.....	59
8.KAYNAKLAR.....	60
9.EK-1. ETİK KURUL	68

SİMGE VE KISALTMALAR

ROS	: Reaktif Oksijen Radikalleri
TAS:	:Total Antioksidan Kapasite
TOS:	:Total Oksidatif Stres
OSI	:Oksidatif Stres İndeksi
OAE	: Otoakustik Emisyon
TEOAE	: Geçici(Transient) Uyarılmış Otoakustik Emisyon
DPOAE	: Distortion Product Otoakustik Emisyon
DTH	: Dış Tüy Hücreleri
İTH	: İç Tüy Hücreleri
DKY	:Dış Kulak Yolu
Hz	: Herz
Db	: Desibel
kHz	: KiloHertz
SNR	: Sinyal Gürültü Oranı (Signal Noise Ratio)
DP	: Distorsiyon Ürünleri
msn	: milisaniye
i.p	: intraperitonal
ml	: mililitre
mg/kg	: miligram/kilogram
mEq	:miliequivalent
µmol	:mikromol
mmol	:milimol

GRAFİK VE TABLO DİZİNİ

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. Denek Grupları.....	28
Grafik 2. Kontrol grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.....	32
Grafik 3. Çözücü kontrol grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.....	33
Grafik 4. Çay üzümü kontrol grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.....	34
Grafik 5. Cisplatin grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.	35
Grafik 6. Cisplatin+100 mg/kg çay üzümü grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.....	36
Grafik 7. Cisplatin+200 mg/kg çay üzümü grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.....	37

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Total antioksidan kapasite (TAS) istatistiksel değerler.....	38
Tablo 2. Total oksidatif stres (TOS) istatistiksel değerler.....	38
Tablo 3. Oksidatif stres indeksleri(OSI) istatistiksel değerler.....	39
Tablo 4. Grupların histolojik parametrelerinin derecelendirilmesi.....	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Cisplatin kimyasal yapısı : cis-diamminedchloroplatinum II.....	24
Şekil 2. OAE ölçüm öncesi örnek model.....	30
Şekil 3. Ratta OAE kayıt alınması.....	30
Şekil 4. Kontrol grubu koklear ışık mikroskopi görüntüsü.....	43
Şekil 5. Çözücü kontrol grubu koklear ışık mikroskopi görüntüsü.....	44
Şekil 6. Çay üzümü kontrol grubu koklear ışık mikroskopi görüntüsü.....	45
Şekil 7 . Cisplatin grubu koklear ışık mikroskopi görüntüsü.....	47
Şekil 8 . Cisplatin+100 mg/kg çay üzümü grubu koklear ışık mikroskopi görüntüsü.....	48
Şekil 9. Cisplatin+200 mg/kg çay üzümü grubu koklear ışık mikroskopi görüntüsü.....	50

1. GİRİŞ

Bir ilacın ya da kimyasal bir ajanın, işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak disfonksiyonuna neden olmasına ototoksisite denir. İç kulak dokuları hem geçici hem de kalıcı olarak zarar görebilir. Birçok ajan ototoksisiteye neden olabilir. Ototoksisite sıklıkla otolojinin alanı dışında uygulanan tedaviler sonrasında meydana gelmektedir (1).

Cisplatin birçok kanser türünde tedavi için sıklıkla kullanılan kemoterapötik bir ajandır. Doz kısıtlayıcı yan etkileri nefrotoksisite, ototoksisite ve nörotoksisitedir. Nefrotoksisite arttırılmış hidrasyon ve güçlendirilmiş diürezle tedavi edilebilirken ototoksisitenin kür sağlayıcı veya koruyucu tedavisi henüz bulunamamıştır. Çalışmalar hastaların %75-100 'ünde işitme eşik değerlerinde kötüleşme olduğunu göstermiştir. Bu yan etki çocuk hastalık grubunda daha belirgindir (2,3) .

Cisplatinle indüklenmiş ototoksisitenin selüler ve moleküler mekanizması tam aydınlatılamamıştır.Cisplatinin özellikle kokleadaki dış tüylü hücreler üzerinde serbest oksijen radikalleri artışına yol açmak suretiyle destrüktif etki yaptığı varsayılmıştır (4,5). Cisplatinin ana sitotoksik etkisinin nükleer DNA ile reaksiyona giren cisplatin monohidrat kompleksinin gerçekleştirdiğine inanılır (6). Sitotoksisitenin oksijen radikalleri ile olan yakın ilişkisinden dolayı tedavide uzun yıllar antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (7). Bununla birlikte günümüzde FDA onaylı herhangi bir ajan bulunmamaktadır (8).

Günümüzde antibiyotikler, diüretikler, antienflamatuarlar, antineoplastik ajanlar, antimalaryal ilaçlar ve diğer bazı ilaçların ototoksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Ancak pek çok yeni ilaç ya da kimyasal maddenin de ototoksik olabileceği daima akılda tutulmalıdır (9).

Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum II) baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu, solid testis, over, mesane, prostat, serviks tümörleri ve küçük hücreli olmayan akciğer karsinomları gibi pek çok malign hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili bir antineoplastik ajandır (10). Bununla birlikte ototoksisite, nefrotoksisite, myelotoksisite, gastrointestinal toksisite ve periferal nöropati gibi ciddi yan etkileri cisplatinin klinik kullanımını kısıtlamaktadır. Özellikle nefrotoksisite ve ototoksisite, doz sınırlayıcı major yan etkilerdir. Nefrotoksisite, hipertonic saline solüsyonu ve diüretik ajanlarla zorlu diürez sağlamak yoluyla etkin şekilde engellenebilmektedir. Bu metod cisplatinin antitümöral dozajını arttırsa da ototoksisite insidansı ve şiddeti üzerinde herhangi bir değişiklik meydana getirmemektedir (11). Cisplatinin ototoksik etkisi tinnitusun eşlik ettiği, irreversible, progresif, bilateral yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ile karakterizedir. Ototoksisite insidansını etkileyen faktörler arasında uygulanım şekli, kümülatif doz, yaş, diyet faktörleri, serum protein seviyeleri, genetik faktörler ve kranial radyoterapi öyküsü yer almaktadır (10,11).

Cisplatin, kokleadaki dış tüylü hücrelerde bazalden apekse doğru progresif olarak hasara neden olur. Bununla beraber iç tüylü hücrelerde de sporadik bir destrüksiyon meydana gelir. Cisplatin ototoksisitesi yalnızca tüylü hücrelerle sınırlı olmayıp stria vaskülariste atrofi, reissner membranının kollapsı ve corti organındaki destek hücrelerinin de hasarını içerir (12). Cisplatin gerek superoksit iyonları gerekse hidroksil radikalleri gibi aktif oksijen türlerini üretebilir ve normal dokudaki antioksidan enzimleri inhibe edebilir (13-15). Reaktif oksijen partiküllerinin akümülyasyonunun cisplatin ototoksisitesine aracılık ettiğine dair bulgular mevcuttur. Bu sebeple antitümöral etkinliği değiştirmeksizin cisplatinin oluşturduğu hasarı azaltmak için birçok koruyucu ajan cisplatin ile birlikte kullanılmaktadır. Çay üzümü de bu ajanlar arasında yer almaktadır.

Çay üzümü umut vadeci potansiyel bir ilaç grubudur. Yaban mersini, frenk üzümü gibi meyve içeriklerinde yüksek oranda bulunan antokainler taze olarak veya kurutulmuş meyve olarak diyetle alınabilirler (16,17) . Yaban mersini ekstrelerinin ratlarda görmeyi geliştirme, antineoplastik, antiinflamatuvar ve nöroprotektif etki gibi geniş bir spektrumda fizyolojik etkisinin olduğu gösterilmiş olmasına rağmen ototoksisitedeki etkisi bilinmemektedir (18).

Bu çalışmada çay üzümü ekstresinin rat modelinde cisplatin ototoksisitesi üzerine olan etkisini DPOAE eşliğinde, histopatolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 KULAK EMBRİYOLOJİSİ

Kulağın üç parçasından ilk gelişimini tamamlayan iç kulaktır. Rhombensephalon'un her iki tarafındaki ektodermden gelişir. Üçüncü haftanın sonunda, embriyo 2-4 mm büyüklüğüne ulaştığında, yüzeyel ektodermin kalınlaşmasıyla otik lamina ortaya çıkar. Lamina otikadaki derin hücrelerin gelişmesi ile bu yapı kısa bir sürede içe doğru çöker. Bu şekilde nöral oluk ve iki tarafındaki akustiko-fasiyal tümsek ortaya çıkar. Bunların birleşimi sonucunda kulak taslağı yüzey epitelinden ayrılır ve bir vezikül haline gelir (19).

Dördüncü ve beşinci haftalarda statoakustik ganglion üst ve alt olarak ikiye bölünerek vestibüler ve spiral ganglionları yapar. Bir taraf işitme duyusu için corti organına diğer taraf ise denge duyusu için utrikulus ve duktus semisirkularisin içine ilerler. Embriyo 8 mm olduğunda vestibüler ve koklear taslaklar birbirinden ayrılır. Ventralde yer alan kısımdan corti organı ve koklea gelişir. Dorsalde kalan kısımdan ise utrikulus, kanalis semisirkularis, duktus endolenfatikus ve duktus utrikulosakkularis gelişir. Koklear kanal altıncı haftada gelişmeye başlar. Yedinci haftada kokleanın birinci turu oluşmuştur ve sekizinci haftanın sonunda 2,5 tur tamamlanmış olur. Bu sırada koklea ile sakkulusun geri kalan kısmı arasındaki bağlantı duktus reuniens halini alır. Daha sonra duktus koklearisin skala vestibüliye bakan tarafında membrana vestibularis (Reissner membranı), skala timpaniye bakan tarafı ise basiller membranı oluşturur (19).

Corti organının gelişmesi bazal turdan apekse doğru olur. Corti organı koklear kanalın duvarındaki hücrelerden gelişir. Yirmi ikinci haftada iç titretili hücreler, dış titretili hücreler, destek hücreleri ve hensen hücreleri ortaya çıkar. Akustikofasiyal ganglion, üst ve alt olarak ikiye bölünür. Üstte bulunandan n.vestibülarisin süperior dalı, altta olandan ise inferior dalı doğar. Sekizinci kranial sinirin alt kısmı kalınlaşır ve koklear siniri meydana getirir (19).

Altıncı haftada otik vezikülün ventral kısmından koklear kanal gelişirken aynı anda dorsal kısımdan iç kulağın denge fonksiyonundan sorumlu kısımları gelişmeye başlar. Bu devrede otik vezikül iç yüzeyinde endolenfatik duktus ortaya çıkar. 14 mm büyüklüğündeki bir embriyoda vestibüler parçada poşlar görülmeye başlar. Bunların periferik parçalarından yarım daire kanalları meydana gelir. 20 mm büyüklüğündeki embriyoda (7. haftada) vestibüler parça utrikül ve sakküle ayrılır ve 30 mm çapındaki bir embriyoda (8. haftada)

erişkin iç kulak çaplarına erişilir. Dokuzuncu haftada vestibüler sistemdeki tüylü hücreler iyice şekillenir ve sinir uçları ile sinapslar yaparlar.

Semisirküler kanallar altıncı haftada oluşmaya başlar. Yedinci haftada kanalların ampullalarında zar labirentteki epitelden crista ampullaris meydana gelir. Onbirinci haftada maküladaki duysal epitelyum ve destek hücreleri ayrılır ve otolitler oluşur. Yirimi ikinci haftada gelişme tam olarak tamamlanır (19).

Makülalar 14. ile 16. haftalar arasında gelişirler. Önce otik vezikülün iç yanı kalınlaşır ve ortak maküla oluşur. Daha sonra maküla ikiye bölünür. Üstte bulunandan utrikulus ve üst ve horizontal kanalların makülaları, altta bulunandan sakkulus ve posterior yarım daire kanalları meydana gelir. Membranöz labirentin geliştiği otik vezikülün etrafı başlangıçta mezenşim ile sarıdır. Mezenşim zamanla değişerek önce kıkırdak, daha sonra da kemik labirenti (otik kapsül) yapar. Kemik labirent ile zar labirent arasında perilenfatik aralık oluşur.

Membranöz otik kapsül gelişmesini tamamladıktan sonra otik kapsül kemikleşmeye başlar. Ondört kemikleşme noktası ile kemikleşir. Bu kemikleşme noktaları aynı zamanda meydana çıkmaz. Otik kapsülün kemikleşmesi altıncı ayın sonunda tamamlanır. Modiolusun gelişmesi otik kapsülden bağımsızdır. Kıkırdak modiolus koklear kanalın iç ucu çevresindeki mezenşimden gelişir ve çevrede oluşan otik kapsül kıkırdağı ile birleşir. Kemik spiral lamina ise 23. haftada gelişmeye başlar (19).

2.2 KULAK ANATOMİSİ

Kulak işitme ve denge fonksiyonlarının periferik organı olup, temporal kemik içine yerleşmiştir. Görevleri ve yapı bakımından birbirinden farklı dış kulak, orta kulak ve iç kulak olmak üzere üç parçadan oluşur (20).

2.2.1 DIŞ KULAK

Dış kulak, kulak kepçesi (aurikula), dış kulak yolu ve timpanik membran lateral yüzünden oluşur. Kulak kepçesi perikondrium ve deri ile örtülü ince elastik, düzensiz kartilajdan oluşmuştur. Kulak kepçesi; deri, dış kulak yolu kıkırdağı, kas ve bağlar aracılığı ile kafatasına yapışmıştır. Kulak kepçesinin beslenmesi a. temporalis superficialis ve a. auricularis posterior tarafından sağlanır. Venler ise arterlere eşlik ederek, v. jugularise dökülürler. Lenfatik akımı preauriküler, retroauriküler ve infraauriküler lenf düğümlerine dökülür. Kulak kepçesinin ön yüzünün duyarlılığını, beşinci kranial sinirin n. auriculatemporalis dalı sağlar. Diğer bölgeleri yedinci kranial sinir ve ikinci, üçüncü servikal sinirler innerve eder (20,21).

Dış kulak yolunun (dky) uzunluğu, kulak zarının oblik yerleşmesi nedeniyle, arka duvarda yaklaşık 25 mm, ön alt duvarda 31 mm'dir. DKY'nun 1/3 dış kısmı kıkırdak, 2/3 iç

kısmını kemik yapı oluşturur. Çocuklarda timpanik kemik henüz tam gelişmediği için DKY'nun kıkırdak kısmı daha uzundur. DKY'nu örten deride; ter, yağ ve serümen bezleri vardır. Kemik kısmı örten deri ise oldukça ince olup periostun üzerini örter ve bu kısım kıl, yağ ve serümen bezleri içermez (22, 23).

DKY'nun beslenmesi eksternal karotid arterin a. auricularis posterior dalı ve a. temporalis superficialis dalı tarafından sağlanır. Venöz drenajı; v. maxillaris ve v. jugularis externa aracılığı ile plexus pterygoideus'a olur. Lenfatikleri anterior, posterior ve inferior auriküler lenf nodlarıdır. Innervasyonunu beşinci kranial sinir sağlar. Ayrıca yedinci, dokuzuncu, onuncu kranial sinirler ve üçüncü servikal sinir de dal vermektedir. Onuncu kranial sinirden gelen dal Arnold siniri adını alır ve bu sinir DKY'nun temizlenmesi sırasında öksürük refleksine neden olabilir (21, 22, 24).

Kulak zarı, DKY'nun sonunda yer alan ve orta kulak boşluğunu DKY'dan ayıran bir perdedir. Vertikal uzunluğu 9–10 mm, horizontal uzunluğu 8-9 mm ve ortalama kalınlığı ise 0,074 mm'dir. Dış yüzde DKY derisinin devamı olan kütanöz tabaka, iç yüzde orta kulak mukozasının devamı olan mukozal tabaka ve arada fibröz tabakadan oluşur. Kulak zarı sulcus timpanicus içine Gerlach halkası denen anulus fibrosus ile tesbit edilmiştir. Anulus üstte tam değildir. Anterior ve posterior malleolar ligamanlarla devam eder. Kulak zarının bu ligamanların üstünde kalan gevşek kısmına pars flaccida (Schrapnell zar), alttaki gergin kısmına da pars tensa adı verilir. Pars tensa kulak zarının büyük kısmını oluşturur ve ses dalgaları ile titreşen kısım burasıdır (21).

Kulak zarı a. maxillaris interna'nın dalı olan a. auricularis profundus dalı ile beslenir. Membranın dış kısmı beşinci, dokuzuncu, ve onuncu kranial sinirler tarafından, iç kısmı ise yedinci ve dokuzuncu kranial sinirler tarafından innerve olur (22).

2.2.2 ORTA KULAK

Orta kulak, kulak zarı ile kemik labirent arasında bulunan, üstteki borusu aracılığı ile dış ortamla, aditus yolu ile mastoidin havalı boşlukları ile bağlantısı olan, mukoz membranlarla örtülü bir alandır. Ortalama hacmi 0,5 cm³ kadardır (20,25).

Vertikal ve anteroposterior çapları 15 mm, mediolateral derinliği üstte 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm'ye iner (26). Orta kulak boşluğu, önde tuba auditiva (Eustachi Borusu) ile nazofarenkse açılmakta, arkada aditus ad antrum yolu ile mastoid antrum ve hücreleriyle devam etmektedir (23). Orta kulak boşluğu topografik olarak kulak zarına göre üç kısma ayrılır. Mezotimpanum kulak zarı düzeyine rastlayan, epitimpanum kulak zarının üstünde kalan ve hipotimpanum ise kulak zarının altında kalan orta kulak boşluğu bölümüdür.

Orta kulak boşluğunun altı duvarı vardır:

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

2. Alt duvar: Hipotimpanumun döşemesini oluşturur. Bulbus vena juguli ve a. carotis interna ile komşudur.

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

4- Arka duvar: Orta kulak ile mastoid arasındaki duvardır. Üst parçasını aditus ad antrum yapar. Eminentia pyramidalis burada yer alır. Eminentia pyramidalis üzerinde m.stapedius bulunur. Bu fasyal sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösterir. Eminentia pyramidalis lateralinden chorda tympani orta kulak boşluğuna girer. Eminentia pyramidalis ile chorda tympani arasında recessus facialis vardır. Eminentia pyramidalis medialinde sinüs timpani bulunur (27).

5- Dış duvar: Bu duvarı kulak zarı ile skutum yapar. Skutum epitimpanumda insisura timpanikusu üstten kapatan skuamöz kemiğin uzantısıdır. Kulak zarı timpanik kemiğin sulkus timpanikusu içine Gerlach halkası adı verilen fibröz anulus ile tespit edilmiştir (27). Anulus üstte tam değildir. Anterior ve posterior malleolar ligamentlerle devam eder. Kulak zarının bu ligamentler üzerinde kalan gevşek kısmına pars flaccida (Shrapnell zarı), alttaki gergin kismada pars tensa adı verilir. Kulak zarı oval, yarı geçirgen ve sedef renklidir. Vertikal uzunluğu 9-10 mm, horizontal uzunluğu 8-9 mm, kalınlığı 0.1 mm'dir (23).

Kulak zarının pars tensa parçasında ortada yukardan aşağı doğru uzanan malleusun kulak zarı içerisinde yer alan parçası olan manubrium mallei bulunur. Manubrium mallei'nin bitimindeki nokta şeklindeki görüntüye umbo denir. Umbodan başlayarak öne ve aşağıya doğru kulak zarının kenarına kadar ilerleyen üçgen görünüşündeki aydınlık alana Politzer üçgeni adı verilir . Kulak zarının pars tensa bölümü üç tabakadan yapılmıştır. Dışta dış kulak yolu derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve bunların arasında fibröz tabaka vardır (28). Kulak zarının pars flaccida bölümünde fibröz tabaka yoktur (23).

6-İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayırır. Epitimpanum kısmında horizontal, anterior ve posterior vertikal semisirküler kanal ile fasyal sinirin geçtiği Fallop kanalı vardır. Mezoitimpanumdaki iç duvarda ise fasyal sinirin hemen altından başlayan ve kokleanın birinci turuna rastlayan promontoryum ve labirent pencereleri bulunur. Promontoryumun arka-üst tarafındaki çukurluk, oval pencere (fossula fenestra vestibüli) adını alır ve stapes tabanının

yerleştiği yerdir. Promontoryumun arka alt tarafında yuvarlak pencere (fossula fenestra cochlea) bulunur ve membrana secundaria denilen fibröz bir doku ile kaplıdır (16-20). Timpanik kaviteye uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına ana geçiş yeri olan yuvarlak pencere yaklaşık 1,5 mm genişliğinde ve 2-3 mm uzunluğundadır (25). Yuvarlak pencere nişinin şekli, orta kulaktaki değişik maddelerin ve orta kulak effüzyonlarının bu bölgede birikmesine neden olur (26). Böylece orta kulak sıvılarının iç kulağa difüzyonlarının artmasına neden olabilir. Yuvarlak pencere membranı ayrıca ses iletiminde de rol alır. Promontoryumun orta kısmının yüzeyinde damar ve sinirden oluşmuş bir ağ (plexus tympanicus) bulunur (20).

Orta kulak boşluğunda malleus, inkus ve stapes olmak üzere üç tane hareketli kemikçik yer almaktadır (23,28). Kemikçikler orta kulak boşluğunun üst ve arka kısmına yerleşmişlerdir ve bu boşluğa bağlarla tutunurlar (20).

Kemikçiklerin en büyüğü Malleus adını alır. Malleus baş, boyun ve üç çıkıntından (manibrium mallei, anterior ve lateral çıkıntılar) oluşur. Manibrium mallei parçası ile kulak zarına yapışır. Malleusun üç adet asıcı ligamenti bulunur: Anterior malleolar, lateral malleolar ve superior malleolar ligament. İnkus, bir gövde ve iki koldan oluşur. İnkusun gövde kısmı malleus ile, uzun kolu ise stapes ile eklem yapar. Medial ve lateral inkudomalleolar ligamanlar inkus gövdesini malleus başına bağlar. Vücudun en küçük kemiği olan stapes, baş, boyun, taban ve iki bacaktan oluşur. Stapes tabanı ligamentum annulare ile oval pencereye sıkıca yapışır.

Kemikçiklere yapışan kaslar ise M.tensor tympani ve M.stapedius'tur. Tensör timpani kası trigeminal sinir tarafından innerve edilir ve kasıldığı zaman manibriumu içe ve arkaya çekerek kulak zarını tespit eder. Stapes kas tendonu, eminentia pyramidalis'den çıkar ve stapesin başına yapışır. Stapes kası fasial sinir tarafından innerve edilir ve kasıldığında yüksek şiddetteki seslerin iç kulağa geçişini engelleyerek koruyucu mekanizmaya yardımcı olur (21).

Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlayan ve nazofarenkse doğru anteroinferolateral seyir gösteren, huni şeklinde bir yapıdır. Çocuklarda daha kısa ve düz bir seyir gösterir. Orta kulak tarafında kalan posterolateral 1/3 kısmı kemik, nazofarenks tarafındaki 2/3 anteromedial kısmı ise kıkırdaktan oluşur. Östaki tüpünün açılıp kapanmasından m. tensör veli palatini, m. levator veli palatini ve m. salpingopharyngeus sorumludur (21).

Orta kulağın kanlanması hem internal hem de eksternal karotid arterden sağlanır. Kulak zarı, malleus, inkus ve kavitenin ön bölümüne a. maxilaris interna'nın dalı olan a. tympanica anterior, arka bölgeye ve mastoid hava hücrelerine a. auricularis posterior'un dalı olan

a.stylomastoidea'dan gelir.İnternal karotid arterin bir dalı olan a. caroticotympanica ön duvarın, a. meningia media'dan ayrılan a. petrosus superficialis dalı ise fasiyal sinirin ve genikülat ganglionun kanlanması sağlar. A. temporalis superficialis, a. stylomastoidea ile plexus oluşturarak inkudostapedial ekleme gider. Venöz drenajı; sinüs lateralis, bulbus jugulare, sinus petrosus superior, plexus pterygoideus ve v. meningea media ile sağlanır.Sempatik ve duyu sinirleri n. glossofaringeus'un dalı n. tympanicus (Jacobson siniri) ve n.caroticotympanicus'tur. Lenfatik damarları, retrofarengeal lenf nodları ve parotis içindeki lenf nodlarıdır (29,30).

2.2.3 İÇ KULAK

İç kulak petröz kemiğin derinliklerine yerleşmiştir. İşitme ve denge organlarını barındırır. Yuvarlak ve oval pencereler yolu ile orta kulak ile koklear ve vestibüler akuaduktuslar yolu ile kafa içi ile bağlantılıdır. Kemik ve zar olmak üzere iki kısımdan oluşur. Kemik kısmın çevresinde otik kapsül bulunur. Otik kapsül vücudun en sert kemiğidir.

İç kulak morfolojisinin anlaşılması içindeki zar yapılar ve çeşitli sıvılar nedeniyle zor olmuştur. Bu konudaki çalışmalar, geçen yüzyılın ortalarında başlamış ve bu yüzyılda hızlanmıştır. İç kulak morfolojisinin incelenmesinde en önemli adım, Alphonso Corti (1851)'nin bugün de kabul edilen metodudur. Önce dış yapılar temizlenir ve hazırlanır, daha sonra radyal kesitler yapılır ve yapılar tanınmaya çalışılır. İç kulağın kan akımını a. auditiva interna (labirentin arter) sağlar. A. auditiva interna genellikle a. cerebelli anteroinferior'dan kaynaklanır. Ancak, direkt olarak baziller arterden hatta vertebral arterden de kaynaklanabilir (21,23,27,). İç kulağın venöz dönüşü arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yolu ile oluşan labirentin ven ile olur.Lenfatik sistem endolenf ve perilenf olarak kabul edilir (31).

İç kulak sıvıları perilenf, endolenf ve kortilenf olmak üzere üç çeşittir. Perilenf kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıyı andırır, Na^+ 'dan zengin (Na^+ 148 mEq/L), K^+ 'dan fakirdir (K^+ 4-6 mEq/L). Endolenf yapımında stria vaskularis rol alır. K^+ 'dan zengin (K^+ 140-160 mEq/L), Na^+ 'dan fakirdir (Na^+ 6-10 mEq/L). Kortilenf Corti tüneli ile Nuel boşluklarında bulunur. Beyin omurilik sıvısından kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde seyreden akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin yüksek K^+ içeriği nöral iletiyi engelleyeceği için Corti tünelinin içinden geçen dış tüylü hücrelerin lifleri kimyasal olarak perilenfe benzeyen kortilenf ile sarılmıştır (22).

2.2.3.1. Kemik (osseöz) labirent

Kemik labirenti otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik dokusu oluşturur. Zar labirent bunun içinde yer almaktadır. Aralarında perilemf adı verilen sıvı bulunur (32).

Kemik labirent şu kısımlardan oluşur:

1. Vestibulum
2. Kemik semisirküler kanallar
3. Koklea
4. Aquaduktus vestibuli
5. Aquaduktus koklea

1.Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid bir kavitedir. Dış yan duvarı yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla timpanik kaviteye; ön duvar kokleaya komşudur. Üst ve arka duvarda semisirküler kanallarla birleşir. İç yan duvarda ise ön altta sakkulus'un yerleştiği spherical resess, arka üstte ise utrikulus'un yerleştiği eliptical resess bulunur (22).

2.Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior ve lateral olmak üzere üç adet semisirküler kanal uzayın üç ayrı düzlemine yerleşmiştir. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadar olan bu kanallar vestibulumu açılır.

3. Koklea: İç kulağın ön kısmında bulunan ve şekli salyangoza benzeyen kemik bir tüptür. Modiolus, canalis spiralis cochlea ve lamina spiralis ossea'dan oluşur. Modiolus, kokleanın eksenini oluşturur. Modiolus içindeki ince kanallardan koklear damarlar, VIII. kranial sinirin lifleri geçer.Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral bir şekilde olmasından dolayı modiolusun spiral kanalı adı da verilen Rosenthal kanalına açılırlar. Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen Corti ganglionu bulunur. Canalis spiralis cochlea, modiolusun çevresini iki buçuk defa spiral olarak dolanan kemik bir yoldur. Bu yol, vestibulun ön alt kısmından başlar ve zirve veya kupula adı verilen kapalı bir uçla sonlanır.

Lamina spiralis ossea, modiolustan uzanan kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak canalis spiralis cochlea'yı ikiye böler. Vestibulumu açılan üst parçaya skala vestibuli, fenestra koklea aracılığıyla kavum timpaniye açılan alt parçaya skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema denilen delikle birleşir. Lamina osseanın serbest kenarı ile canalis spiralis cochlea'nın dış yan duvarı arasındaki baziller membranın üzerinde, Corti organı adı verilen işitme organı bulunur (32,33).

4. Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlayıp petroz kemiğin fossa subarkuata denilen çukurunda sonlanır. Bu kanalın içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus vardır (22).

5. Aquaduktus koklea: Skala timpaniden başlayıp petroz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. Bu kanal içinde duktus perilenfaticus ve v.canalikuli koklea vardır.

2.2.3.2. Zar (membranöz) labirent

Zar labirent kemik labirentin içinde aynı şekli alır. Zar labirent kemik labirenti tamamen doldurmaz. Onun ancak 1/3 kısmını doldurur.

Zar labirent şu kısımlardan oluşur:

1. Utrikulus
2. Sakkulus
3. Duktus semisirkularis
4. Duktus endolenfatikus
5. Duktus perilenfaticus
6. Duktus koklearis
7. Korti organı (21)

1. Utrikulus: Vestibulumun içyan duvarındaki eliptikal reseste bulunur. İç yan duvarında makula utrikuli adı verilen kısımda denge hücreleri bulunur ve buradan n. utrikularis başlar. Utrikulusta duktus semisirkularislerin açıldığı beş ve duktus utrikulosakkularisin açıldığı bir adet delik bulunur (22,31).

2. Sakkulus: Vestibulumun iç yan duvarındaki sferikal reseste bulunur. Bunun da iç yan duvarında makula sakkuli adı verilen kısımda denge hücreleri vardır ve buradan n. sakkularis başlar. Sakkulusta bir tane duktus utrikulosakularise ait, bir tane de sakkulusu duktus koklearise bağlayan duktus reuniense ait iki delik vardır (31).

3. Duktus semisirkularis: Kemik semisirküler kanalların içerisinde bulunurlar. Ancak kemik kanalların 1/5 kalınlığındadır. Diğer 4/5'lik kısmı perilenf ile doludur. Membranöz kanalların ampullaları içerisinde krista ampullaris adı verilen kabarık bölgelerde duyu epiteli mevcuttur. Buralardan n. ampullaris anterior, n. ampullaris posterior ve n. ampullaris lateralis başlar. Her üç n. ampullaris daha sonra n. utrikularis ve n. sakkularis ile birleşerek n. vestibularisi oluşturur (22).

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

5.Duktus perilenfatikus: Aquaduktus koklea içerisinde bulunur ve skala timpani ile subaraknoid boşluğu birleştirir.İçinde perilenf bulunur.

6.Duktus koklearis: İki ucu kapalı üç yüzlü bir boru şeklinde olan duktus koklearisin tepesinde bulunan kör ucuna çekum kupulare, taban kısmındaki kör ucuna ise çekum vestibulare denir.Çekum vestibulareye yakın bölümünden çıkan duktus reuniens aracılığıyla sakkulusa bağlanır. Duktus koklearis koklear kesitlerde üç duvarlı bir yapı olarak görülür (22,31).

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

Spiral ligaman; Koklear duktusun lateral duvarının en büyük kısmını oluşturur. Gevşek bağ dokusu ve iyon transportunda görevli enzimleri içeren hücrelerden oluşur. Lateral sınırını otik kapsülün iç yüzü, medial sınırını ise stria vaskülaris ve spiral prominens oluşturur. Spiral ligaman skala vestibüli ve skala timpani içlerine kadar uzanarak bu iki perilenfatik kanal arasındaki ilişkinin lateral yolunu oluşturur. Spiral ligaman matriksi fibroblast benzeri hücreler ve çok sayıda ekstraselüler filaman içerir. Spiral ligamanda tip I fibroblast benzeri hücreler baskındır. Bununla birlikte diğer dört tip fibroblast benzeri hücre (II,III,IV,V) ve dış sulkus hücreleri spiral prominens yakınlarında bulunabilir.

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

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

Dış sulkus; Spiral ligaman ve baziler membranın Cladius hücreleri tarafından oluşturulan açık kanala denir (32).

Baziller membran; Kemik spiral laminanın lateral kenarından spiral ligaman içine kadar uzanır. İnsanda ortalama uzunluğu 31,5 mm'dir. Genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru artar. Baziler membranın uzunluğu boyunca, kalınlığı ve genişliğindeki değişiklikler membranın frekans spesifik maksimum vibrasyonlar ve "travelling wave" oluşumundan sorumludur. Baziler membranın dış tarafında Claudius ve Boettcher hücreleri bulunur. Bundan sonra Corti organı başlar (20,32,33).

7. Corti organı: Baziller membranın iç kenarında dizilmiş nöroepitelial yapıları içerir. İnsanda koklea içerisindeki toplam uzunluğu yaklaşık 35 mm civarındadır. Genişliği bazalden apekse giderek artar. İç tüylü hücreler (İTH) ve dış tüylü hücreler (DTH) olmak üzere iki farklı duyuşal hücre ve destek hücrelerini içerir. DTH'in etrafını saran geniş bir ekstrasellüler boşluk (Nuel boşluğu) ve DTH ile İTH arasında tünel biçiminde bir boşluk (Corti tüneli) bulunur. Bu boşluklar destek hücrelerinin özelleşmesi ile meydana gelir. Boşlukların içerisinde perilemf bulunur. Corti organı yapısında destek hücreler olarak; Hensen hücreleri, Deiters hücreleri, Sütun hücreleri (pillar hücreler) ile Falangeal (parmakası) hücreler bulunmaktadır (32,33).

Corti organı yapısındaki DTH ve İTH mekanik (akustik) enerjinin, elektriksel (nöral) enerjiye transdüksiyonunda majör rol oynar. Her iki hücre morfolojik olarak ve nöral innervasyon yönünden belirgin farklılık gösterir (20). Dış tüylü hücreler; silindirik yapıda olup, nükleusları bazal yerleşim gösterir. Üç veya dört sıra halinde bulunurlar. Dış tüy hücre demetleri karakteristik olarak "W" şeklinde izlenir. Tektoryal membran ile temas halindedir ve üç sıralı 46-148 adet stereosilyadan oluşur. DTH'in uzunlukları koklea bazalinden apekse doğru giderek artar. Stereosilyalarında da benzer bir artış olur. İç tüylü hücreler; basık ve silindirik yapıdadır. Genelde tek sıra halinde yerleşirler. Bu hücrelerin tüycükleri düz bir hat veya geniş bir "U" şeklinde dizilirler. Stereosilyalar tektoryal membran ile temas etmez. Her hücrenin tüyleri, apeksleri modiolustan uzakta yerleşmiş, iki sıralı ve çift "V" şeklinde düzenlenmiş 120 stereosilya içerir (32,33).

Afferent sinir liflerinin % 90-95'i İTH ile sinaps yapar. Bunlar Tip I nöron olarak adlandırılır. Her bir iç tüylü hücre yaklaşık 15-20 Tip I nöron tarafından innerve edilir. DTH geri kalan %5-10'u tarafından innerve edilir. Bunlara Tip II nöron denir. Her bir Tip II nöron yaklaşık 10 dış tüylü hücreyi innerve eder. Tip I'ler miyelinli liflerdir. Tip II nöronlar ise miyelinsizdirler. İç ve DTH'i innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmiştir (20,26,32).

İç Kulağın Damarları: Labirentin arter, çoğunlukla a. cerebelli anterior inferior'dan ayrılır ve labirenti kanlandırır. Labirentin arter, basiller arterden hatta doğrudan vertebral

arterden de çıkabilir.İç kulak kanalına sekizinci kranial sinirle birlikte girer ve iki ana dala ayrılır. A.vestibularis anterior ve a. cochlearis communis. Bu dallardan, vestibülü ve kokleayı (32, 34, 35) besleyecek olan dallar çıkar.Bunlar a. vestibulocochlearis ve a. cochlearisdir.

A. vestibulocochlearis ve a. cochlearis, koklear kanalın lateral duvarında stria vaskülaris ve spiral laminada kapiller ağ oluşturarak sonlanır. A. cochlearis apekse doğru ilerlerken spiral modiolar arter adını alır. Bu arter bir end arterdir ve obstrüksiyonları sağlığa yol açabilmesinden dolayı önemlidir (34). Spiral modiolar arterden arterioller ayrılarak kapiller dallar verirler ve koklear beslenmeyi temin ederler .

Kokleada damar sistemi, segmental düzene sahiptir. Spiral kapiller sistem, sarmal yapısı nedeni ile anastomozlara olanak tanır. Özellikle bazal kıvrımda anastomozlar sıktır ve kapiller alana geçebilecek şantlar mevcuttur (35).

İç kulağın venöz dönüşü arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yolu ile oluşan v. labirentica ile olur.Bu da sinüs petrosus superior ve inferior, sinüs transversus ve v. jugularis interna'ya dökülür. Lenfatik sistem endolenf ve perilenf olarak kabul edilir. Bunlarda beyin omurilik sıvısına (BOS) dökülürler (31).

İç Kulak Sinirleri: Bipolar afferent sinirlerin hücre gövdeleri Rosenthal kanalındaki spiral ganglionu oluşturur. İki tip nöron vardır. Tip 1 nöronlar miyelinlidir, tüm popülasyonun % 95'ini oluşturur ve iç tüylü hücelere dağılırlar. Tip 2 nöronlar miyelinsizdir, toplamın % 5'ini oluşturur ve dış tüylü hücelere dağılırlar. Lifler kendi miyelin tabakalarını kayb ettikleri yer olan habenula perforata yoluyla kemik spiral laminadan corti organına geçerler. Dış tüy hücreleri için olan lifler, Deiters hücreleri arasındaki üç grup içerisinde olan spiral ve baziller membran boyunca kortinin tüneline geçerler. Terminal dallar spiral liflerden kaynaklanırlar ve çok sayıda dış tüy hücrelerini inerve ederler. Bunun tersine her bir iç tüy hücresi çok sayıda tip1 lifler ile innerve edilirler.

Tüm sinir sonlanmaları kadeh şeklinde ve vezikülsüzdür. Granülsüz sonları ile birlikte bu afferent liflere ilaveten granüle olmuş birçok sonlanımlar hem dış tüy hücreleri ile hem de afferent liflerin terminal sonlanımları ile kontakt yapacak şekilde gözlenmiştir. Bu granüle olmuş sonlar Rasmussen'nin olivokoklear demetindeki beyin kökünden kaynaklanan efferent liflerdir. Hücre gövdeleri süperior olivary kompleks içerisinde yerleşmiştir. Lifler inferior vestibuler sinir ile birlikte ilk olarak beyin kökünde ilerler fakat vestibulokoklear anastomoz şeklinde kokleaya girerler.İntraganglionik spiral demetlerde lifler, internal spinal demetler ile iç tüy hücrelerini innerve eden afferent liflere dağılırlar. Alternatif olarak lifler korti tüneline ortasından geçerler ve iç tüy hücrelerinin gövdelerine dağılırlar. Bu liflerin baskılayıcı olduğu sanılır (36).

2.3 İÇ KULAK HİSTOLOJİSİ

Koklea: Kokleanın en önemli ve duyuşal reseptör hücrelerinin lokalize olduğu yer olan duktus koklearis 3 bölüme ayrılır.

Reissner membranı: Skala vestibuli ve skala medıayı birbirinden ayıran birer sıra hücre arasına yerleşmiş ince bir bazal laminadan yapılmıştır. Endolenfe bakan hücreler küboid yapıda olup apikal mikrovilluslar içerirler. Perilenfe bakan hücreler ise gevşek biçimde birbirlerine bağlı skuamöz yapıya sahiptir.

Lateral duvar: Duktus koklearisin yan ve dış duvarını yapar. En dışta çoğunluğu tip 1 fibroblast benzeri hücrelerden oluşmuş spiral ligament bulunur. Spiral ligamentin iç tarafında ise çok katlı yassı epitelden stria vaskülaris bulunur. Stria vaskülaris endolenfteki yüksek potasyum, düşük sodyum iyon potansiyelini sağlayan marjinal hücreler; fagositoz yeteneği olan intermediate hücreler; epitel ve endotelin bazal membranının birleşmesinden oluşan ve molekül geçişine izin vermeyen bazal hücrelerden oluşur. Stria vaskülaris ile bazal membran arasında iyon ileten enzimler içeren çok sayıdaki tip 2 fibroblast hücrelerinden oluşmuş spiral prominens bulunur.

Baziller Membran: Bağ dokusundan oluşan bir membrandır. Membran boyunca genişlik bazal turdan başlayarak apikale doğru artar. Baziller membran hareketlerinin frekansa özel olması, frekans analizi ve ses şiddetinin alınabilmesi bu sayede olmaktadır. Baziller membranın dış tarafında endolenfle temas eden kübik küçük mikrovilluslu hücrelerden oluşan ve büyük moleküllerin geçişine izin vermeyen Cladius hücreleri; Cladius hücreleri taban kısmı ile baziller membran arasına yerleşmiş, tek katlı küboid hücrelerden oluşan, fibronektin üreten ve karbonik anhidraz içerdiğinden dolayı iyon ve sıvı trasportunda etkili olan Boettcher hücreleri bulunur. Bazal membranın dış tarafında Cladius ve Boettcher hücreleri bulunur. Bundan sonra ise corti organı başlar (32).

Corti Organı: İşitme fonksiyonunda görev alan en önemli yapıdır. Perilenfteki mekanik titreşimleri sinir liflerini uyaran elektriksel akımlara dönüştürür. Transdüksiyonda rol alır. Corti organı birçok yapıdan oluşur. Bunları dıştan içe doğru sıralayacak olursak; Hensen hücreleri, dış Corti tüneli, 3-4 sıra tüylü hücre dizisi, Deiters hücreleri, Nuel aralıkları, dış sütun (pillar) hücreleri, iç titreşim tüylü hücreler, iç parmaklı hücreler, iç sınır hücreleri dir (37). Retiküler lamina denen sert tabaka, Corti organı destek hücrelerinin apikal uzantıları ile duyu hücrelerinden oluşur. Corti organı bazal turdan apikal tura doğru bazı değişiklikler gösterir. Örneğin; iç ve dış titreşim tüylü hücrelerin uzunlukları, sterosilyaların uzunlukları, Corti

organının genişliği, sütun hücrelerinin başlıklarının uzunluğu, Hensen hücrelerinin yüksekliği apikale doğru giderek artar. Daha öncede belirtildiği gibi Corti organı radyal kesitlerle incelenir. Titrek tüylü hücrelerin haritası çıkarılır: kokleogram ve sitokokleogram. Bunlar Corti organı fonksiyonunun değerlendirilmesi için gereklidir (37,38).

Destek Hücreleri

Deiters hücreleri: Dış tüylü hücrelerin destekleyici hücreleridir. Dış titrek tüylü hücrelerin çevresini sararlar. Sadece tabanda açıktır, buradan da efferent ve afferent sinir lifleri dış titrek tüylü hücrelere ulaşırlar.

Sütun hücreleri (pillar hücreler): Dış ve iç olmak üzere iki tip pillar hücre vardır. Pillar hücrelerin parmaksı çıkıntıları, hem dış titrek tüylerin ve hem de iç titrek tüylü hücrelerin yan sınırlarını yapar (37).

Hensen hücreleri: Corti organının yan sınırını oluşturur. Koklea apeksine doğru uzunlukları artar. Çekirdekleri sitoplazmanın üst kısmında bulunur. Birkaç dizi halindedirler. Hensen hücreleri ile dış titrek tüylü hücreler arasında dış korti tüneli bulunur (39).

İçsınır ve Falangeal (parksı) hücreler: İç titrek tüylü hücreler ile iç sulkus hücrelerini birbirinden ayırır.

Duyusal Hücreler

Sterosilyalar: Sterosilyalar hem iç hemde dış titrek tüylü hücrelerin apikal kısmında bulunur. Uzunlukları bazal turdan apikal tura gittikçe artar. Ayrıca içten dışa doğru da uzunlukları gittikçe artar. İç titrek tüylü hücrelerin sterosilyaları dış titrek tüylü hücrelerin sterosilyalarına göre iki kat daha kalındır ve küp şeklindedir. Sterosilyalar gerçek silya değildirler. Titrek tüyün kutiküler tabakasından uzanan uzun ve sert mikrovilluslardır. En uzunları en dışta bulunur ve uzunlukları içten dışa doğru artar. Sterosilyalar birbirlerine iki çeşit bağ ile bağlanmışlardır. Bunlardan birisi sterosilyaları birbirine bağlayan yatay bağlar. Bunların dışında vertikal bağlar da bulunur. Sterosilyaların sertliğini içindeki aktin filamanı sağlar. Bunlar dik bir şekilde kutiküler tabakanın içine girerler. Sterosilyaların bir özelliği de kinosilyum içermemeleridir. Fakat kutiküler tabakada bazal cisimcikleri vardır.

Dış titrek tüylü hücre sterosilyaları V ya da W şeklinde dizilmişlerdir. Her titrek tüylü hücrenin apeksinde altı veya yedi dizi sterosilya vardır. Dış titrek tüylü hücrelerin en uzun sterosilyaları tectoryal membranın alt yüzüne bağlanır. Ancak kısa olan iç titrek tüylü hücrelerin sterosilyaları tectoryal membranla ilişki kurmaz (38).

Dış tüylü hücreler: Corti organı içinde, apikal ya da bazal uçlardan Deiters hücrelerine ve bunların parmaksı çıkıntılarına bağlanır.İnsanda ortalama 13400 dış tüylü hücre vardır. Dış tüylü hücreler retikuler lamina içinde medialden laterale doğru dizilmişlerdir. Hücre uzunluğu

apekse doğru artar ve 14 mikrondan 55 mikrona ulaşır. Tüy hücrelerinin apikal yüzündeki parmaklı uzantılara stereosilya denir. En uzun dış tüy hücrenin stereosilyası, tektorial membranın alt yüzüne bağlanır. İç plazma membranı boyunca Hensen cisimcikleri içeren yüzey altı sisternalar vardır. Bu sisternaların dış tüy hücrelerinin hareketleriyle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Deiters hücrelerinin uzantıları dış tüy hücrelerinin dış ve yan tarafına bağlanır. Dış tüy hücrelerinin taban sonlarında, birkaç küçük afferent sinir ucu ve on tane geniş vezikül dolu efferent sinir ucu vardır (32).

İç tüylü hücreler: Bu hücreler vestibüler hücrelere benzerler ve bazı özellikleri ile dış titreşim tüylü hücrelerden ayrılırlar. Tek katlı hücre dizileri biçiminde yerleşmişlerdir ve destek hücreleri ile çevrilidirler. Çekirdekleri hücrenin ortasında ve yuvaraktır. Organelleri sitoplazma içine dağılmıştır. Bu hücrelerin taban kısmında birçok sinaptik sinir sonlanması görülür. Her afferent ucu komşu sitoplazma içinde, bir presinaptik kalıp vardır. Efferent uçlar daha geniş veziküller içerir ve daha çok afferent uçlarla sinaps yaparlar (20,32).

İç Sulkus: Dış kenarında spiral limbus, iç kenarında Corti organı ve yukarıda tektorial membran ile sınırlı üstü açık spiral bir kanaldır. İç sulkus hücreleri Cladius hücrelerine benzerler. Hücrelerin üst yüzeylerinde mikrovilliler vardır ve hücre arası flamanları ile birbirlerine sıkıca bağlanmışlardır (20).

Spiral Limbus: Kemik spiral laminanın iç kenarında bulunan damarsal konnektif doku tabakasıdır. En iç kenarına Reissner membranı tutunur. Dış kenarını, iç sulkus hücrelerinin yaptığı Huschke dişi diye adlandırılan sivri bir çıkıntı oluşturur. Spiral limbusun endolenfatik yüzü tektorial membranın limbal bölümü diye adlandırılan ince ekstrasellüler matriksle örtülüdür. Spiral limbus; bağ dokusu fibroblast benzeri hücreler, damarsal elementler ve ekstrasellüler filamentler içerir (32).

Lamina Spiralis Ossea: Modiolustan baziller membranının iç tarafına kadar uzanan raf biçiminde bir kemik çıkıntıdır. İç kanallarla doludur bu kanalların içinden sinir lifleri Corti organına gider ve oradan geri döner. Spiral lamina, aynı zamanda, spiral limbus ve iç sulkusun ve bunların hücrelerinin oluşmasına katkıda bulunur. İç titreşim tüylü hücreler de lamina spiralis osseanın dış kenarında bulunurlar.

Spiral Ganglion: İç ve dış titreşim tüylü hücreleri innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmişlerdir. Otonom sinir sistemine ilişkin lifler de spiral gangliondan geçerler.

2.4 İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Ses

İşitmenin oluşması için ses kaynağı, ses dalgalarını ileten bir ortam ve bunları algılayan reseptör organ olan kulak gereklidir (40).

Ses elastik bir ortamdaki partiküllerin çok yoğun ve az yoğun bölgeler meydana getirecek şekilde yer değiştirmesi ile oluşan enerji dalgalarıdır, işitme duyusunun ortaya çıkmasını sağlar (41). Bir tek titreşimde pozitif ve negatif iki faz mevcuttur. Bir saniyedeki titreşim o sesin frekansını belirtir, frekans Hertz (Hz) ile ifade edilir. Amplitüdü ise o sesin şiddetini oluşturur. Sesin şiddet birimi desibeldir (dB). Normal bir insan kulağı 20-20000 Hz arası sesleri işitebilir. Konuşma sesleri 500-4000 Hz arasındadır (40).

Bir ses dalgasının iki özelliği vardır: İnertia ve esneklik. Diapozon bu iki özelliğe en güzel örnektir. Titreşildiği zaman deforme olur fakat esnekliği nedeniyle istirahat konumuna geri döner. Ancak "inertia" nedeniyle de ters yönde de hareket eder. Bu titreşim siklusu denir. Bir ortamın ses dalgalarının yayılmasına gösterdiği dirence akustik direnç ya da impedans denmektedir. İmpedans, ortam moleküllerinin yoğunluğu ve esnekliği ile orantılıdır. Ses dalgaları ortam değiştirirken her iki ortamın impedansı birbirine ne kadar yakın ise yeni ortama geçen enerji miktarı da o kadar fazla olur (38).

İşitme

Aurikulanın topladığı ses enerjisinin, kulağın çeşitli bölümlerinde değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri halinde beyine gönderilip burada ses halinde algılanması olayına işitme denir (23). İşitme, işitme sistemi (auditory system) adı verilen geniş bir bölgeyi ilgilendirir (20).

Dış kulak, orta kulak ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır. İşitme birbirini izleyen bir kaç fazda gerçekleşir.

İletim (conduction) fazı

Dönüşüm (transduction) fazı

Sinirsel kodlama (neural coding) fazı

Birleştirme-Algılama (association-cognition) fazı

a)İletim (conduction) fazı: İşitmenin olabilmesi için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden dış ve orta kulak aracılığı ile corti organına iletilmesi gereklidir. Bu mekanik olay sesin bizzat kendi enerjisi ile sağlanır.

Aurikula ses dalgalarının toplanmasında, dış kulak yolu da bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde rol oynar. Sesin atmosferden corti organına iletilmesi sürecinde

başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici ve/veya şiddetlendirici etkileri vardır. Ses dalgaları başa çarpınca yansır ya da az miktarda da olsa kırılır. Sesin geliş yönüne göre, ses dalgalarının çarptığı kulak tarafında ses dalgalarının basıncı artar aksi taraftaki kulak bölgesinde basınç düşer. Bu sesin iki kulağa ulaşması arasında 0,6 m/sn lik bir fark oluşturur ki sesin geliş yönünü bu şekilde ayırt edebiliriz.

Orta kulak, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarının iç kulaktaki sıvı ortama geçmesini sağlar. Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken yani direnci düşük olan gaz ortamdan direnci daha yüksek olan sıvı ortama geçerken ortalama 30 dB civarında bir enerji kaybına uğrar. Orta kulak, bu ses dalgalarındaki enerji azalmasını önlemek amacı ile empedans (direnç) denkleştirme görevi üstlenir (42,43). Orta kulağın ses yükseltici etkisi üç mekanizmayla olmaktadır.

1. Kulak zarının işitmede rol oynayan pars tensa kısmı, hem kemik anulus içine sıkıca yerleşmiştir hem de manubrium malleiye sıkı bir şekilde yapışıktır. Kulak zarı kemiğe sıkı bir şekilde yapıştığı için anulusta titreşmez, ince olan orta kısımda titreşir ve titreşim enerjisi yarı sabit manubrium malleide yoğunlaşır. Bu şekilde ses enerjisi iki katına çıkar.

2. Kemikçikler bir kaldıraç gibi etki eder. Bu kaldıraçta, manubrium mallei ve inkusun uzun kolu kaldıraçın kollarını, malleus başı da destek noktasını oluşturur. Ses dalgası ile inkudo-malleolar kompleks tek bir ünite gibi hareket eder. Bu şekilde kulak zarını titreştiren ve manubrium üzerinde yoğunlaşan ses enerjisi inkudo-malleolar kompleks aracılığıyla stapesin başına 1,3 kat güçlenerek ulaşmış olur.

3. Kulak zarı ve stapes tabanındaki titreşim alanları arasındaki oran yaklaşık olarak 18/1dir. Kulak zarının en periferik bölgelerinin titreşmediği düşünülürse efektif oran 14/1dir. Ses, kulak zarı ile stapes tabanının birbirine oranı ile orantılı olarak 14 kat güçlenerek iç kulağa geçer. (20, 42- 44)

b) Dönüşüm (transduction) fazı: Corti organında ses enerjisi sinir enerjisi haline dönüşür. Tıpkı elektrik enerjisinin bir ampulde ışık enerjisine dönüşmesi gibi, Corti organı da ses enerjisini sinir enerjisi haline dönüştürür. Bu olaya dönüşüm (transduksiyon) denir.

c) Sinirsel kodlama (neural coding) fazı: İç ve dış titreşim tüylerde meydana gelen elektrikli akım kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre değişik sinir liflerine iletilir. Yani ses, şiddet ve frekansına göre Corti organında kodlanmış olur. İnsanlarda işitme sınırı 30000 liften yapılmıştır. Bu liflerin % 90-95'i miyelinli, bipolar ve İTH'nde sonlanan tip I nöron şeklindedir. Buna karşılık % 5-10'u

miyelinsiz, unipolar ve DTH'nde sonlanan tip II nöron şeklindedir. Tıpkı tüylü hücrelerde olduğu gibi her sinir lifinin duyarlı olduğu bir frekans vardır (45).

d) Birleştirme-Algılama (association-cognition) fazı: Tek tek gelen bu sinir iletimleri işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür. Yani sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale getirilir. Bu olaya “cognition” veya “association” denir.

Spiral gangliondaki sinir hücrelerinin aksonları n. cochlearis adını alarak ponstaki koklear nukleuslara ulaşırlar. Koklear nukleuslar, ventral ve dorsal olmak üzere iki gruptur. Düşük frekanslı seslerle oluşan uyarı ventral nukleusta, yüksek frekanslı seslerle oluşan uyarı dorsal nukleusta sonlanır. Bu liflerin çoğu beyin sapının karşı tarafına geçerek superior olivar komplekse katılırlar. Lifler buradan lateral lemniskus ve inferior kollikulusa giderler.İnferior kollikulustan çıkan lifler medial genikulat nukleus aracılığı ile temporal loptaki Silvan fissürüne yerleşmiş işitme merkezine gelirler (43,45).

2.5 OTOTOKSİSİYE BAĞLI İŞİTME KAYBI

İç kulak çeşitli eksternal faktörlere bağlı olarak zarar görebilir. Bunlar gürültü, ilaç ve enfeksiyonlardır (51). Ototoksisite, herhangi bir terapötik ajan ya da kimyasal maddenin, iç kulak dokularında özellikle sekizinci kranial sinir ve son organlarında hücresel hasar ve fonksiyonel bozukluğa neden olması şeklinde tarif edilmiştir (51,52). İç kulağın çeşitli kimyasal maddelere karşı duyarlılığı yüzyıllardan beri bilinmektedir (53). Günümüzde de ototoksisite işitme kaybı ve denge bozukluğuna yol açan önemli bir nedendir. Ototoksisite semptomları, yeni gelişen tedavi ajanlarının uzun klinik kullanımları sonrasında ortaya çıkmaktadır. Bu yeni klinik kullanımdaki ajanların da ototoksik etkilerinin olabileceği göz önünde bulundurularak, bu konuyla ilgili her türlü bilgiye ulaşmaya çalışılmaktadır. (53,54)

Günümüzde, ototoksisiteye neden olduğu bilinen ajanlar ana başlıklar halinde antibiyotikler, antineoplastik ajanlar, diüretikler, antienflamatuar, şelat yapıcı ajanlar, antimalaryal ilaçlar, ototropik ilaçlar ve diğerleri şeklinde sıralanabilir (51,55).

Antibiyotiklere bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve vertigodur. Çoğunlukla tinnitus en sık görülen semptomdur ve ardından oluşabilecek pek çok toksik etkinin erken habercisidir. Tinnitus, genellikle yüksek perdeli ve 4-6kHz arasında değişen frekansdadır. Sıklıkla işitme kaybından önce ortaya çıkar ve onun yerini alır. Tinnitusun tam olarak kaybolması nadirdir. Ancak zamanla nöral elemanların dejenerasyonu tinnitusun şiddetinde azalma olabilmektedir. Geri dönüşümlü tinnitus ve işitme kaybı, salisilatlar ve kinin ile oluşur. Loop diüretikler akut işitme kaybına yol açarlar

ancak tedavinin kesilmesiyle düzelme olur. Ayrıca geçici işitme kaybı, aminoglikozid grubu antibiyotiklere bağlı olarak da görülür. Ancak kayıp genellikle kalıcı olur. Antibiyotik kullanımına bağlı işitme kaybı genellikle 3-4 gün sonra oluşur, ancak ilk doz sonrasında ortaya çıkabilir. Hatta kalıcı ototoksik işitme kaybı tedavinin bitiminden günler, haftalar ya da aylar sonra bile oluşabilir. İşitme kaybı ve tinnitus genellikle bilateral ve hemen hemen simetrik, bununla birlikte bu semptomlar unilateral olduğunda ototoksisite yoktur denemez. Ototoksik işitme kaybı sensörinöraldir. Antibiyotikler yüksek frekanslarda dik eğimli bir kayıp oluştururken, diüretikler genellikle düz veya hafif eğimli odyometrik kayba neden olurlar. Bazı hastalar ototoksisite için daha yüksek risk taşırlar (51,55).

Odituar toksisite için böbrek, karaciğer ve bağışıklık yetersizliği durumları, ileri yaş , ototoksisite öyküsü, bilinen ototoksik ajanların aynı zamanda kullanılması, gürültüye maruz kalma, önceden sensörinöral işitme kaybı olması ve kollajen-vasküler hastalıklar potansiyel olarak daha yüksek risk durumları sayılır (51,55).

2.6 OTOAKUSTİK EMİSYONLAR

1978'de Kemp'in otoakustik emisyonları tanımlamasından beri , Kulak Burun Boğaz bilim dalında yeni bir dönem açıldı. Bazı araştırmacılara göre gelecekteki otoloji dalının tanıdaki en önemli silahlarından biri, bazılarına göre ise bir süre uğraşlardan sonra tarihte yerini alacak, sadece kısıtlı bir bölümde kullanılabilecek ayrıntı idi. Aslında Kemp'den önce 1948'de Gold 35 iç kulakta baziller membranın hareketlerinin otoakustik emisyonlara yol açtığı ve bunların dış kulak yolundan kayıt edilebileceğini öne sürmüştü. Ancak otoakustik emisyon 30 yıl sonra David Kemp tarafından ispat edilebildi. Gold'un 1948'den beri geliştirdiği ve kokleanın pasif bir transdüktör olmadığı; skala vestibülü, Reisser membranı, bazal membran ve skala timpani sisteminin ossilasyonunun sadece uyaran enerjisine bağlı olduğu yönündeki teori ile Bekesy'nin pasif modeller ile yaptığı çalışmalar doğrulanmıştır. Özet olarak dış tüylü hücrelerin titreşimi kokleadan kaynaklanan bir uyaran olmakta ve bu uyarı sırası ile stapes tabanına, kemikçiklere ve zar yolu ile dış kulak yoluna geçmekte (sesin aksi yönünde), buradan da kayıt edilebilmektedir (56-58).

Otoakustik emisyonlar (OAE), insanların ve hayvanların dış kulak yolundan tespit edilebilen, koklear kaynaklı, hafif şiddette akustik enerji yayılımlarıdır. OAE'lar perinöral bir olay olup, stapes tabanı ile afferent koklear sinir liflerinin sinapsları arasında meydana gelir (59). Oluşumunda, dış tüylü hücrelerin önemli rolleri olduğuna dair birçok kanıt mevcuttur. İşitme kaybının olduğu frekanslarda emisyonların saptanmayıp, işitmenin normal olduğu

frekanslarda emisyonun saptanması, OAE'ların koklear orjinli olduğunu gösteren bulgulardandır (60).

Bazal membran titreşimleri, uyarı şiddetindeki artışa paralel olarak orta kulaktaki lineer artışa karşın, nonlinear özellikler gösterir. Buna göre orta veya yüksek şiddette olan uyarılar, OAE amplitüdlerinde çok kısıtlı miktarda (nonlinear tarzda) artışa yol açar. OAE amplitüd gelişimi, çoğu kulakta düşük amplitüdü uyarılar için artan uyarı amplitüdü ile lineer artış gösterir. Ancak uyarı amplitüdü arttıkça, OAE oluşumunda non lineer artış olur. Bu da OAE'ların koklear orjinli olduğunu destekler (20, 61).

Koklear kaynaklı herhangi bir sesin dış kulak yolundan alınarak kaydedilmesi sonucu OAE cevapları ortaya çıkar. OAE'lar iki grupta tanımlanmaktadır (59).

1-Spontan otoakustik emisyonlar.

2-Uyarılmış otoakustik emisyonlar.

Spontan OAE dış uyaran olmadan oluşur. Normal işiten popülasyonda %35-60'ı spontan OAE sahiptir. Elde edilmesi sağlıklı DTH fonksiyonlarını gösterir fakat normal işiten bireylerin çoğunluğunda elde edilemeyebilir. Bu nedenle tanınma değeri yoktur .

Uyarılmış OAE'ler uyarının tipine göre kendi aralarında üçe ayrılırlar. Kısa süreli akustik uyarılardan sonra kayıt edilenler geçici uyarılmış OAE'ler "*transient evoked-TEOAE*", tek bir saf ses uyarısı sonrası kayıt edilen stimulus frekans emisyonları (SFOAE), genellikle iki saf ses ile elde edilen distorsiyon ürünü OAE'ler "*distorsion product-DPOAE*" olarak adlandırılırlar (62,63).

2.6.1 Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE) sabit frekans ve şiddette iki saf ses verilerek saptanırlar. Normal işitmesi olan insanların % 90'ında saptanırlar. TEOAE'nin aksine 40 dB'den daha fazla sensörinöral işitme kaybı olan hastalarda da saptanabilirler.100,109,122,151 DPOAE'ler ototoksik ilaçlar, akustik travma gibi iç kulağı zedeleyen durumlarda diğer otoakustik emisyon türlerine göre daha geç ve daha zor etkilenirler.(64,65) Aslında von Helmholtz ve von Bekesy gibi daha önceki araştırmacılar insan odituar sisteminde distorsiyonu tanımlamışlardı. 1967'de Goldstein bunun orta kulak değil iç kulağın bir özelliği olduğunu gösterdi. DPOAE da f1 ve f2 olarak adlandırılan iki pür ton uyaran eş zamanlı olarak uygulanır. Bu iki uyarana karşı olarak gelen emisyon cevabı matematiksel olarak ilişkilidir. Bu ilişki 2f1-f2 olarak özetlenebilir. İnsan kulağında en belirgin distorsiyon ürünü otoakustik emisyonların 2f1-f2 frekansında oluştuğu gözlenmiştir (66,67). DPOAE normal koklear çalışma şartlarında iki ton uyarısının kokleada farklı iki

ilerleyen dalga oluşturmasına ve bunların üst üste bindiği koklea bölgelerinde otoakustik emisyonlar ortaya çıkmasına bağlıdır. Bu özellik DPOAE'nin kokleadan frekansa özgü bilgi vermesini sağlar (68). DPOAE normal çalışma şartlarında oluştuğundan ve patolojik koklear bölgeler test edildiğinde azalmış veya kaybolmuş olduklarından, yani frekansa özgü olduklarından direkt klinik uygulama alanı bulurlar. Bununla birlikte DPOAE ile işitme kaybının derecesi ve odyometrik konfigürasyon ile ilgili tahminde bulunulabilir (65,66).

Dört kHz üzeri ölçümde TEOAE'ye göre daha kullanılıştır. DPOAE ölçümlerinde TEOAE ölçümlerinden farklı bir prop kullanılır. İki ufak hoparlör (her iki uyarıcı için ayrı ayrı) ve bir mikrofon bulunur. Her iki uyarıcının şiddeti 60 dB üstündedir. DPOAE presinaptik işitme fonksiyonunun değerlendirilmesinde non-invaziv, hızlı ve ucuz bir ölçüm yöntemidir. Ayrıca DPOAE'lerin değişkenliği günler ve haftalar sonra yapılan ölçümlerle araştırılmış ve 5 ila 9 dB arasında farklılık olabileceği görülmüştür (69). Kemirgenlerde iki tonla uyarıcı verilmesi sırasında yüksek seviyeli distorsiyon oluşur. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki 2f1-f2 frekansı koklear monitörizasyonda daha büyük hassasiyet sağlar (70). Yenidoğanlardaki DPOAE amplitüdüleri erişkinlerden daha yüksektir ve yenidoğanlarda DPOAE amplitüdüleri frekansa bağlı olarak 3 ila 10 dB SPL arasında değişiklikler gösterebilmektedir. DPOAE'ler yenidoğanlarda olduğu gibi sıçanlarda da kolaylıkla saptanabilir.

2.6.2 Transient Uyarılmış Otoakustik Emisyon

Normal bir kokleada yaklaşık 80 dB SPL şiddetinde geniş bantlı bir stimulus olan klik uyarıcı verilerek , kokleanın geniş bir bölümünün uyarılması sonucunda oluşur. TEOAE'lerin zamana göre dalga formasyonu, stimulusun verilmesini takip eden yaklaşık 20 ms içinde izlenmeye başlayan bir dizi osilasyonlardan oluşur ve yüksek frekanslı komponentler, düşük frekanslı komponentlere göre daha kısa latanslı frekans grupları şeklindedir. TEOAE komponentlerinin her birinin latansı, kokleadaki yürüyen dalga mekaniğince belirlenir (72).

TEOAE'ler tipik olarak frekans dağılımına göre analiz edilir. Sinyal gürültü oranının (SNR, signal noise ratio) 3'e 6 dB çiftinden fazla olması ve tekrarlanabilme oranının %90'dan yüksek olması, spesifik bir frekans bandında cevap alınıp alınmamasının tespiti için en sık kullanılan kriterlerdir (41,72). 30-40 dB' den fazla sensörinoöral işitme kayıplarında kayıp koklear kaynaklı ise TOAE elde edilemezken nöral tutulumlu kayıplarda elde edilir (41).

Otoakustik Emisyon Ölçümünün Yararları

1. Non invaziv: Anestezi gerektirmeyen ağrısız bir yöntemdir.
2. Pasif kooperasyon gereksinimi: Çocuk ve mentalretarde hastalarda kullanılır.
3. Güvenilirliği yüksektir.
4. Duyarlı bir testtir.
5. Koklea için spesifiktir: DTH'lerini değerlendirir.
6. Kısa test zamanı: Geniş hasta grubu taranabilir (20,73,74) .

Otoakustik Emisyon Kullanım Alanları

1. İşitme kaybının belirlenmesinde:

- Yenidoğan, süt çocuğu ve çocuklar (tarama amacı ile)
- Davranış odyometresinde zor karar verilen olgularda, psikojenik işitme kayıplarında
- Eriskinlerde

2. Koklea fonksiyonunun moniterizasyonunda:

- Ototoksisite: Aminoglikozidler, cisplatin, diüretikler vs.
- Gürültüye bağlı işitme kaybı, presbiyakuzide erken tanı
- Ani işitme kaybı

3. Odyolojik ayırıcı tanı: Koklear lezyonların ayırıcı tanısında kullanılır (20).

OAE ölçüm tekniği

OAE'ların elde edilmesi için dış kulak yolu, orta kulak ve kokleanın normal olması gerekmektedir. OAE'ların objektif ve noninvaziv olmasının yanı sıra kısa sürede yapılabilmesi odyolojide kullanımını arttırmıştır. Ölçüm sırasında sadece pasif kooperasyona ihtiyaç vardır.OAE ölçümü için, öncelikle otoskopik muayene yapılarak dış kulak yolu ve kulak zarının normal olup olmadığına bakılmalıdır. Dış kulak yolunu tıkayıcı lezyonlar ve orta kulak patolojilerine bağlı olarak gelişen orta kulaktaki basınç değişiklikleri, OAE cevabını büyük ölçüde etkilemektedir. OAE ölçümleri sessiz bir ortamda yapılmalıdır. Kulağa takılan prob içerisinde iki minyatür hoparlör ve bir mikrofon vardır. Hoparlörden verilen klik şeklindeki ses uyarılarına alınan cevaplar, mikrofon aracılığı ile kayıt edilir. Kullanılan mikrofon, OAE'ların düşük seviyelerde olduğu hallerde önem kazanır.İyi mikrofon sensitif ve ortam gürültüsünden az etkilenir özelliğe sahip olmalıdır (75,76).

2.7 CİSPLATİN



Şekil 1: Cisplatin kimyasal yapısı : cis-diamminedchloroplatinum II

Cisplatin (cis-diamminedchloroplatinum II) çok çeşitli neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılan, güçlü alkilleyici olan bir antineoplastik ilaçtır. Baş boyun skuamöz hücreli karsinomu, solid testis tümörleri, over tümörleri, serviks tümörleri, mesane ve prostat tümörleri, küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri gibi geniş bir kullanım alanı olan güçlü bir antineoplastik ajandır. Bununla birlikte nefrotoksisite, ototoksisite, miyelotoksisite, gastrointestinal toksisite, periferik nöropati gibi ciddi yan etkileri mevcuttur (77,78).

Cisplatinin ototoksik etkisi irreversible, bilateral, progresif, yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ve tinnitus ile karakterizedir. Bu ototoksisite insidansını veriliş yolu, yaş, diyet faktörleri, genetik faktörler, serum protein düzeyleri, kranial radyoterapi öyküsü gibi faktörler etkilemektedir (79-81).

Cisplatin ototoksisitesinin mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir. Reaktif O₂ radikalleri patogenezinde suçlanmaktadır. Reaktif O₂ radikalleri hücre membran lipitlerinde toksik aldehit üretimine neden olur. Bu da corti organı ve spiral ganglion hücrelerinde apoptozis ve hücre ölümünü etkiler. Ratlarda cisplatin ototoksisitesinde iç ve dış tüylü hücrelerin kaybedildiği stria vaskularisin dejenere olduğu , spiral ganglion hücre sayısının azaldığı izlenmiştir. Morfolojik olarak cisplatin üç önemli yapıyı hedef alır; kohlea (corti

organını içeren), spiral ganglion ve stria vaskularis; buralarda DNA hasarı ile indüklenen apoptozis dış tüylü hücreler ve spiral ganglion hücrelerinde etki eder (46,47).

Kokleada dış tüy hücrelerini bazaldan apekse doğru progresif haraplayarak etki gösterir. Cisplatin gerek superoksit iyonları gerekse hidroksil radikalleri gibi aktif oksijen türlerini üretebilir, normal dokudaki antioksidan enzimleri inhibe edebilir (78). Bu ototoksiste sadece tüy hücreleriyle sınırlı değildir. Düşük cisplatin düzeylerine maruziyette ilk olarak stereosilyaların uç hasarı ortaya çıkmakta ve sonrasında stereosilya füzyonları görülmektedir. Cisplatin dozu arttırıldığında mitokondri ve endoplazmik retikulum hasarı, stereosilia ve tüy hücre kaybı gözlenmektedir. Yüksek doza maruz bırakıldığında ise stria vaskularis atrofisi, Reissner membranı kollapsı, Corti organındaki destek hücre hasarı meydana gelir. Cisplatinin işitme sinirine yönelik nörotoksitesisi iki tiptir. Birincisi direkt olarak nöron toksisitesidir. İkinci tip ise tüy hücrelerini innerve eden sinirler için gerekli olan nörotropin tip 3 faktörünün kaybıyla birlikte gelen dejeneratif süreçtir (77,79).

2.8 ÇAY ÜZÜMÜ (*Vaccinium myrtillus*)

Yaban mersini anavatani Avrupa ve Kuzey Amerika olan kuzey ormanlarının otsu tabakasında bulunan ve yavaş büyüyen Ericaceae ailesinden bodur çalığıdır. Çay üzümü (*Vaccinium myrtillus*), yaban mersininin 200'ün üzerinde tür barındıran *Vaccinium* cinsine bağlıdır. Önde gelen türlerden *Vaccinium corybosum* ve *Vaccinium oxycoccos* türleri *Vaccinium myrtillus* diyede adlandırılan Avrupa yaban mersinidir. Kuzey Avrupada yaban mersini en önemli yabancı ailelerden biridir (48).

Çay üzümünün yüksek antosiyanin, flavanoidler ve fenolik asit içeriğine sahip olduğu bilinmektedir (18). Antosiyaninler flavonoidler ve diğer fenolik asit bileşiklerinin antioksidan, antimutajenik, antineoplastik, antiinflamatuvar, antihipertansif, antihiperlipidemik, antiproliferatif ve antimikrobiyal olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (82). Bundan başka yaban mersininin güçlü bir antiradikal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (18). Son zamanlarda, flavonoid ve fenolik asit içeren kızılıçık (*Vaccinium macrocarpon*) sıçanlarda kardiyotoksisteğe karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (48).

Çay üzümü özü retina damarlarını iyileştirerek gece görme keskinliğinin artmasına hem de mikrosirkulatuvar hastalıkların tedavisi ve normal vasküler geçirgenliğin korunmasında yardımcı olur (83).

Çay üzümü umut vadeci potansiyel bir ilaç grubudur. Yaban mersini, frenk üzümü gibi meyve içeriklerinde yüksek oranda bulunan antokainler taze olarak veya kurutulmuş meyve olarak diyetle alınabilirler (16,17). Yaban mersini ekstrelerinin ratlarda görmeyi geliştirme,antineoplastik, antiinflamatuvar ve nöroprotektif etki gibi geniş bir spektrumda fizyolojik etkisinin olduğu gösterilmiş olmasına rağmen ototoksitedeki etkisi bilinmemektedir (18,82).

Yaban mersini üzümünün göz hastalıkları ve damar bozukluklarında tedavi edici farmasitik preparatları mevcuttur. Antosiyanin içeren sıvıların tüketilmesi plazma antioksidan kapasitesini anlamlı olarak arttırdığı gözlenmiştir.Yaban mersininin güçlü biyolojik faydası yüksek antosiyanin pigment içeriği ile korele edilebilir. Son zamanlarda yaban mersini üzümünün in vitro çeşitli modellerde oksidatif hasara karşı koruyucu etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (49).

Antioksidanlar oksidatif strese bağlı oluşan ilerlemenin önüne geçebilir. Oksidatif stresi önlemek adına besinlerdeki antioksidanlara ilgi büyüyor. Antioksidan komponentler bazı meyve ve sebzelerde oldukça yaygındır. Antioksidanların asıl terapötik faydası içerdiği antosiyaninler sayesinde DNA düzenini korumaktır. Antosiyaninler ayrıca antiinflamatuvar ve antimutajenik kardiyoprotektif ve vasküler permeabilite artıdır. Yaban mersini antosiyaninden en zenginlerdendir. Bir yaban mersini subgrubu olan çay üzümü 100 gr taze meyvede 300-600 mg antosiyanin içerir. Çay üzümünün ototoksiteden koruyuculuk etkisi tam olarak bilinmiyor (50).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Hazırlanması

Bu çalışmada toplamda 48 adet, erkek, erişkin (3-5 aylık), ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen Spraque Dawley albino cinsi rat kullanıldı. Deney hayvanları, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun onayı alınarak (kabul numarası: 2015/19), Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Deney Hayvanları Uygulama Ünitesi'nden temin edildi. Çalışma RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2015.53002.106.02.01 numaralı proje olarak desteklendi.

Deney hayvanlarının bakımı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Deney Hayvanları Uygulama Ünitesi'nde yapıldı. Laboratuvar koşullarına uyum için yeterli süre geçtikten sonra 48 deney hayvanı 6 gruba ayrıldı. Tüm hayvanlar steril, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, % 55-60 nem oranı ve 22 ± 3 C° oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabii tutuldu. Otoskopik muayene ile ratların dış kulak yolları ve orta kulak muayeneleri yapıldı. Buşon saptanılan kulaklar temizlenip, dış kulak yolunda enfeksiyon, timpanik membranda opasifikasyon, perforasyon, orta kulakta enfeksiyon olan ratlar çalışma dışı bırakılarak yeni ratlar grup sayısını tamamlamak için çalışmaya dahil edildi. Takip sırasında ölen, otit olan sıçanlar çalışma dışı bırakılarak yeni ratlar çalışmaya dahil edildi.

3.2. Çay Üzümü Ekstresinin Hazırlanması

Beslenme destek ürünü olarak yarı yarıya etanol ve distile su ile 1 ml'de 330 mg çay üzümü ekstresi içerecek şekilde hazırlanmış olan çay üzümü ekstresi [Bilberry (vaccinium myrtillus) Herbal Liquids, Health Aid, İngiltere] yine steril şartlarda yarı yarıya etanol ve distile su ile seyreltilerek ml'de 50 mg olacak şekilde hazırlandı.

3.3. Kontrol ve Deney Grupları

Laboratuvar koşullarına uyum için yeterli süre geçtikten sonra 48 deney hayvanı 6 gruba ayrıldı. Ratlara anestezi verildikten sonra DPOAE kayıtları yapılarak işitme eşikleri

belirlendi. Anestezi için 50 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p) Ketamine hidroklorür (Ketalar ®, Eczacıbaşı Parke-Davis, İstanbul,Türkiye) ve 10 mg/kg dozunda i.p Xylazine HCl (Alfazyne ®, Alfasan International B.V. Woerden, Holland) ile anestezi uygulandı. Rektal ısıları anestezi altındayken düzenli olarak ölçülerek, vücut ısılarını yaklaşık 35 °C'de tutan sıcak battaniye üzerine yerleştirildi.DPOAE'da değerlendirilen beş frekanstan üçünde 3 db ve üstünde SNR değeri alınan ratlar işitmesi sağlam olarak kabul edildi. Ratlar rastgele her grupta sekiz denek olmak üzere altı gruba ayrıldı (Tablo 1) .

GRUP ADI	RAT SAYISI
KONTROL	8
ÇÖZÜCÜ KONTROL(distile su+etanol)	8
ÇAY ÜZÜMÜ 100 MG KONTROL	8
CİSPLATİN	8
CİSPLATİN+100 MG ÇAY ÜZÜMÜ	8
CİSPLATİN+200 MG ÇAY ÜZÜMÜ	8

Tablo 1. Denek grupları

Grup 1 (Kontrol grubu / n=8); kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba enjeksiyon uygulanmadı. Çalışmanın başlangıcında ve 8. gün DPOAE kayıtları alındı. Anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 2 (Çözücü kontrol grubu / n=8); distile su ve etanol içeren çözücü kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba intraperitoneal çay üzümü çözücüsü 8 günlük doz verildi. Çalışmanın başlangıcında ve 8.gün DPOAE kayıtları alındı. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 3 (Çay üzümü kontrol grubu / n=8); çay üzümü kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba sadece intraperitoneal çay üzümü ekstresi 100 mg/kg ,distile su ve etanol içeren çözücü 8 doz günlüklik verildi. Çalışmanın başlangıcında ve 8.gün DPOAE kayıtları alındı. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 4 (Cisplatin grubu /n=8);cisplatin kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba 5.gün intraperitoneal 16mg/kg tek doz cisplatin (Cisplatin DBL 100mg/100 ml flakon, Orna

İlaç,İstanbul) verildi. Çalışmanın başlangıcında ve 8. gün DPOAE kayıtları alındı. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

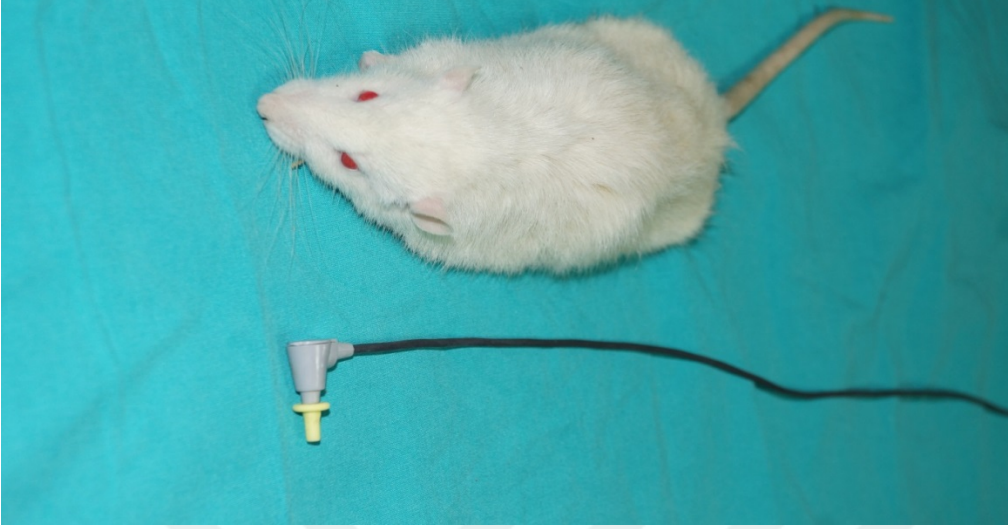
Grup 5 (Cisplatin+100 mg çay üzümü grubu/ n=8);16 mg/kg cisplatin ve 100mg/kg çay üzümü grubu olarak belirlendi. Bu gruba 8 gün boyunca her gün i.p.100 mg/kg çay üzümü ve 5. gün intraperitoneal 16 mg/kg tek doz cisplatin ve verildi. Çalışmanın başlangıcında ve 8.gün DPOAE kayıtları alındı. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar ve çay üzümü çözücüsü haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 6 (Cisplatin+200 mg çay üzümü grubu/ n=8); 16 mg/kg cisplatin ve 200mg/kg çay üzümü grubu olarak belirlendi. Bu gruba 8 gün boyunca her gün i.p.200mg/kg çay üzümü ve 5. gün intraperitoneal 16 mg /kg tek doz cisplatin verildi. Çalışmanın başlangıcında ve 8. gün DPOAE kayıtları alındı. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar ve çay üzümü çözücüsü haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

3.4. Distortion-Product Otoakustik Emisyon Ölçümü

Distorsiyon product otoakustik emisyonlar Echoport ILO292-II (Otodynamics,Hatfield, İngiltere) cihazı kullanılarak DPOAE modunda ölçüldü. Sessiz odada, ratın kafası yere yatay pozisyona getirildikten sonra dış kulak yoluna uygun yenidoğan probu kullanılarak ölçüm yapıldı. Cihazdaki prob göstergesi ve uyarın dalga formu uygun konfigürasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görüldükten sonra ölçüme başlandı. f2 ve f1 frekansları arasındaki oran (f2/f1) 1.22 olacak şekilde tutuldu. Uyarın şiddeti f1 frekansı için L1 ve f2 frekansı için L2 olarak alındı ve L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1=65dB SPL, L2=55dB SPL) düzeyinde tutuldu. Sonuçlar birincil tonların (f1 ve f2) geometrik ortalamasında gösterildi. Otoakustik emisyonlar dış kulak kanalındaki iki adet uyarın (f1 ve f2) için iki farklı hoparlör kullanılarak uyarıldı. DPOAE'lar dış kulak kanalındaki mikrofon ile 2f1-f2 frekansında ölçüldü ve f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frekanslarında kaydedildi. Test süresi yaklaşık 60 sn idi. DPOAE amplitüdlerinin gürültü eşiğinin 3 dB üstündeki değerleri anlamlı kabul edildi. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde; elde edilen 2f1-f2 kübik distorsiyon ürünleri f1 ve f2'nin geometrik ortalamasında yani 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frekans bantlarında oluşan sinyal gürültü oranı "Signal/Noise-Ration (SNR)" esas alındı. SNR oranı DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilirdir (56,58). Çalışmamızda SNR oranları her rat için frekansa özgü olarak değerlendirildi. SNR frekans eğrileri çizildi. Tüm deneklere çalışmanın başlangıcında DPOAE testi yapılarak bazal değerler hesaplandı. Cisplatin uygulamasından üç gün sonra tekrar DPOAE ölçümleri

yapıldı. Tüm grupların DPOAE sırasında elde edilen SNR değerleri grup içi ve gruplar arası karşılaştırıldı.



Şekil 2. OAE ölçüm öncesi örnek model.



Şekil 3. Ratta OAE kayıt alınması.

3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Tüm gruplardan çalışmanın sonunda anestezi altında kardiyak kan örnekleri alındı. Biyokimyasal analizler için alınan kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki serum örnekleri ile serum TAS ve TOS düzeyleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda otoanalizörle (Abbott C16000, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) Rel Assay Total Antioksidan Status ve Total Oksidan Status Test Kitleri (Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü.

Total antioksidan seviye (TAS): Numunelerin total antioksidan düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini indirgemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak rengini kaybetmesi prensibine dayanır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (85).

Total oksidan seviye(TOS): Numunelerin toplam oksidan seviye düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçümde örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesi prensibine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edildi (86).

Oksidatif stres indeksi (OSİ);

$$\text{Oksidatif stres indeksi} = \frac{\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ ekivalent/L})}{\text{TAS } (\mu\text{mol Trolox ekivalent/L})}$$

formülü kullanılarak hesaplandı.

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmamızın histolojik değerlendirilmesinde; tüm ratlar son DPOAE testi uygulandıktan ve kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildi. Temporal kemikleri diseke edilip bulla açıldı. Kokleanın lateral duvarı çıkartılarak % 2,5 gluteraldehit solüsyonu yavaşça enjekte edilerek fiksasyon yapıldı. Temporal kemikler aynı solüsyonda +4 C derecede bir gece bekletildi. Fiksasyon sonrası temporal kemikler dekalsifikasyon için %10 luk EDTA solüsyonunda +4 C derecede 10 gün bekletildi. Koklea spesmenleri etanol ile

dehidrate edildikten sonra parafin bloklara gömüldüler. Parafin bloklar 5 mikron kalınlığında kesitler halinde hazırlanıp hematoksilin-eozin ile boyandı. Her bir rat kokleası için en az 15 kesit değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede sitoplazmik vakuolizasyon, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apoptotik hücreler ve sinir dejenerasyonları 0-4 arası kör derecelendirme yapılarak değerlendirildi. Değerlendirmede 0: normal, 1: hafif, 2: orta, 3: orta-ileri, 4: ileri derece dejenerasyon olarak belirlendi.

3.7. İstatistik Uygulamalar ve Karşılaştırmalar

Altı gruba ayrılan deneklerin DPOAE testiyle ölçülen değişkenleri, histopatolojik değişkenleri, biyokimyasal değişkenleri hem gruplar arasında hem de gruplar içinde karşılaştırıldı. Tüm istatistik karşılaştırmaları bilgisayar ortamında SPSS 16.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Grup içerisindeki karşılaştırmalar ve gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren veriler için *t* testi, normal dağılım göstermeyen veriler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm ölçümlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

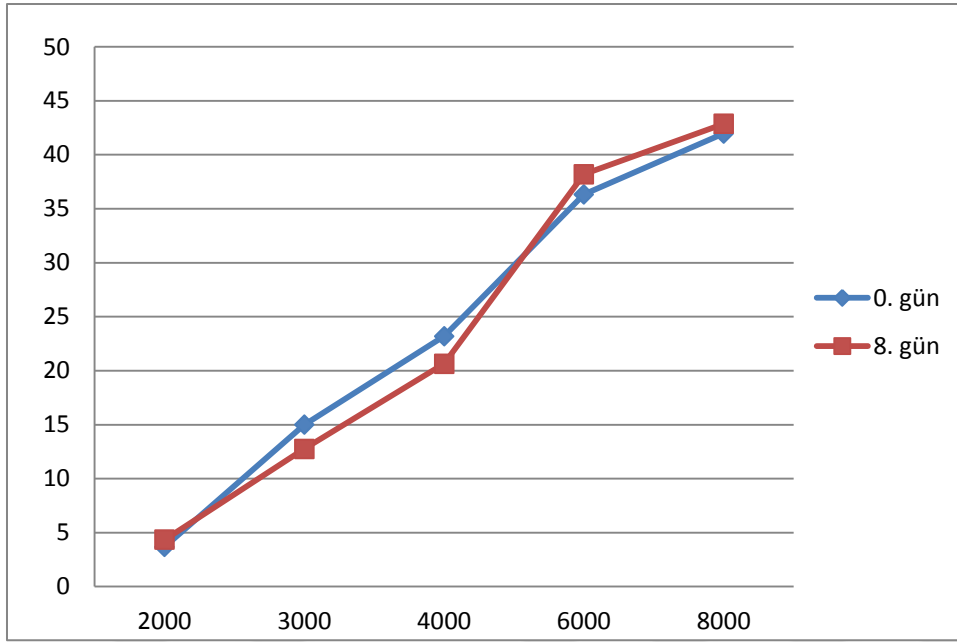
4. BULGULAR VE SONUÇLAR

4.1 DPOAE Sonuçları

Tüm gruplardaki ratlara çalışmaya başlamadan önce DPOAE yapılarak, her frekanstaki baz SNR değerleri hesaplandı (ilk ölçüm (İÖ)). Çalışmanın 8. gününde tekrar DPOAE yapılarak SNR değerleri hesaplandı (Son ölçüm(SÖ)). Elde edilen SNR değerleri grup içinde ve gruplar arası karşılaştırıldı. Grup içi yapılan değerlendirmelerde iki kulak arasında anlamlı fark saptanmadığından ölçümler sağ kulak üzerinden değerlendirildi.

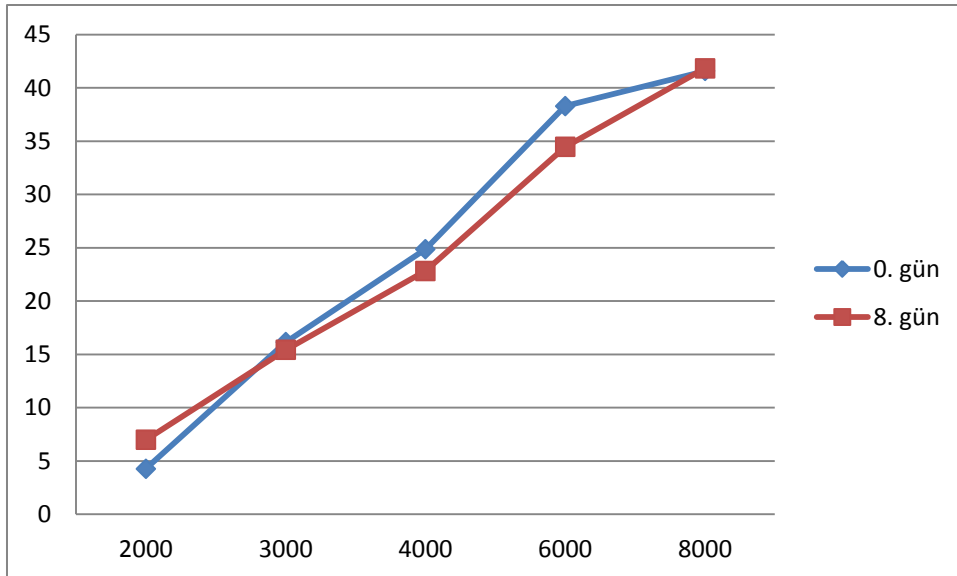
Çalışma öncesi ve sonrası 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz deki SNR değerleri gruplar arasında karşılaştırıldı. Uygulama öncesi gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$).

Kontrol grubunun 0. ve . 8 günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından anlamlı bir fark izlenmedi ($p > 0,05$) (Grafik 2).



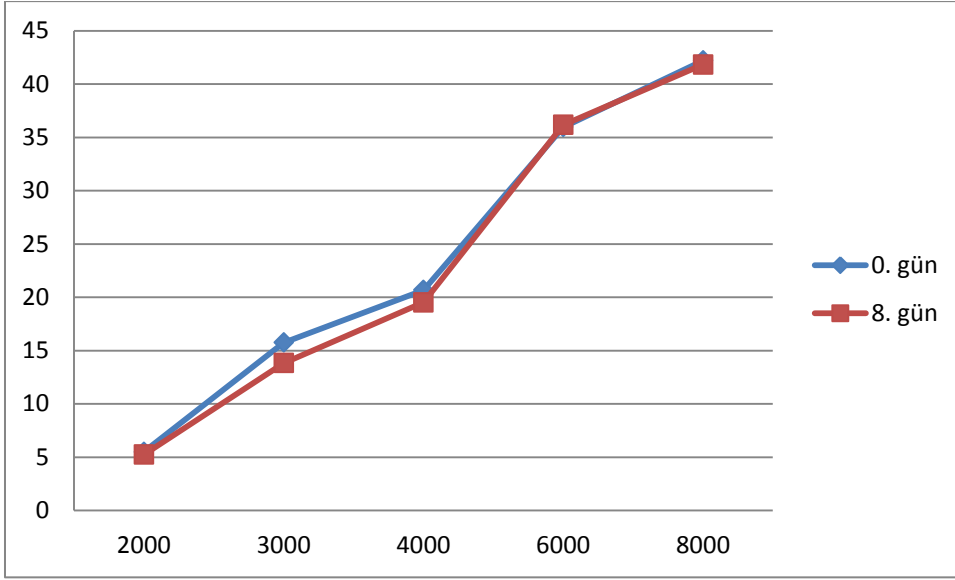
Grafik 2. Kontrol grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.

Çözücü kontrol grubunun 0. ve . 8 günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$) (Grafik 3).



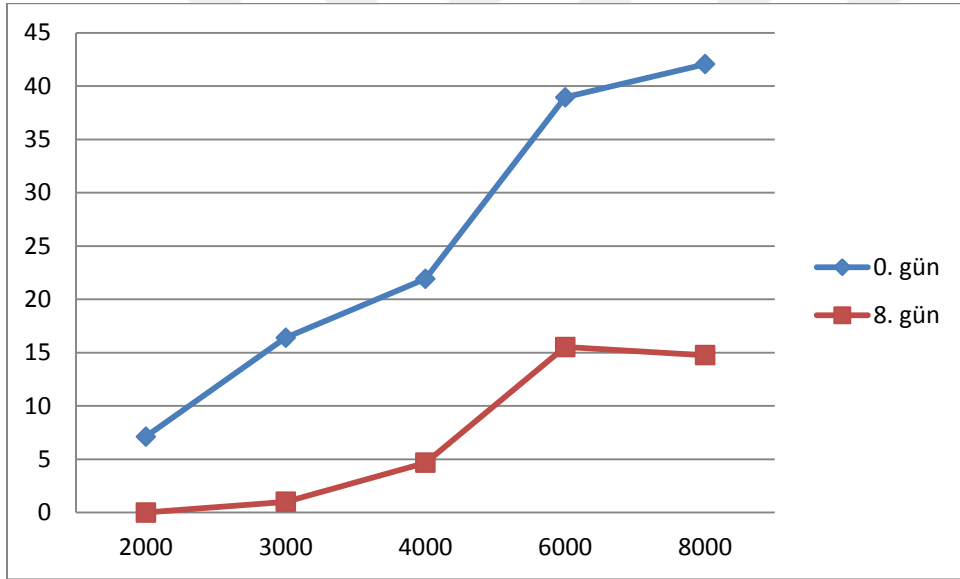
Grafik 3. Çözücü kontrol grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.

Çay üzümü kontrol grubunun 0. ve 8 günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$) (Grafik 4). Çay üzümü ekstresinin normal kulakta işitme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Sekizinci günde 2000 Hz’de sadece cisplatin grubu ile çözücü kontrol arasında anlamlı fark izlendi ($p=0.033$).



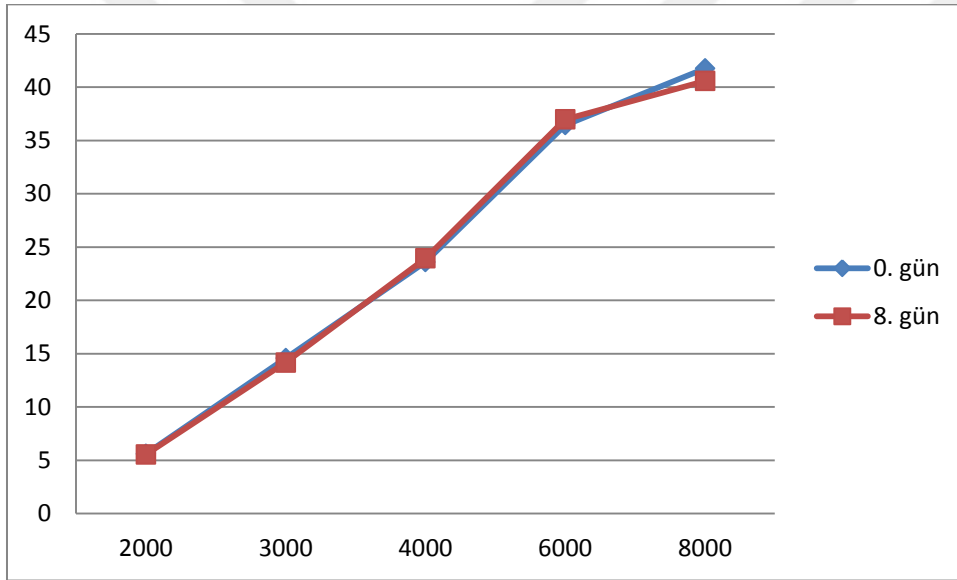
Grafik 4. Çay üzümü kontrol grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.

Cisplatin grubunun 0. ve 8 günde yapılan DPOAE testlerinde cisplatinin rat kulaklarında işitme azlığı yaptığı gözlenmiştir. 2000 Hz’de 3000 Hz’de ve 4000 Hz’de cisplatin grubu tüm gruplara göre anlamlı oranda işitmede azalma yaptığı ($p<0.015$), 6000 ve 8000 Hz’de cisplatin grubu tüm gruplara göre daha fazla oranda işitme azlığı ile karakterizedir ($p<0.001$). (Grafik 5)



Grafik 5. Cisplatin grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.

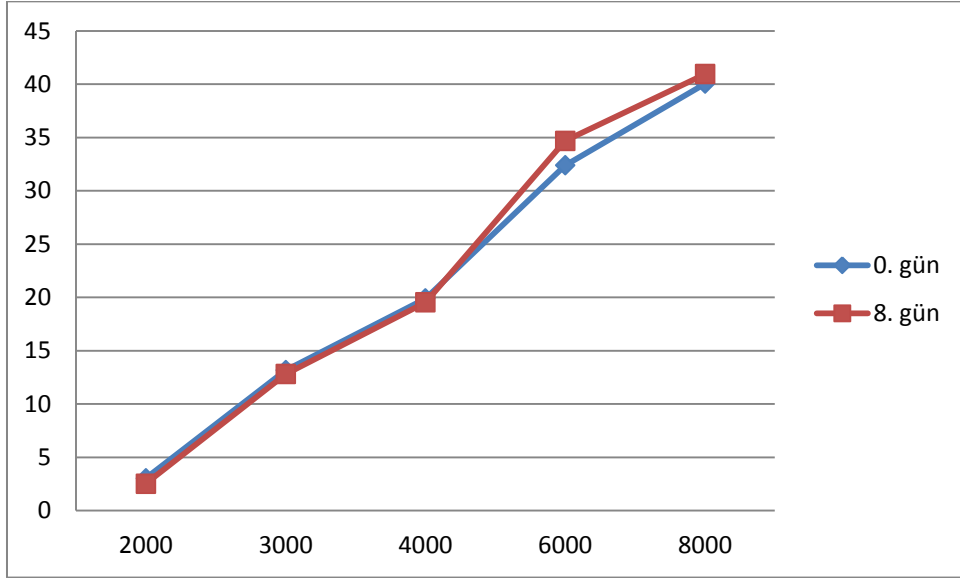
Cisplatin+100mg/kg çay üzümü grubunun 0. ve . 8 günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$). Cisplatinin rat kulaklarında yaptığı işitme azlığının çay üzümü ekstresi ile korunulabilir nitelikte olduğu ve anlamlı oranda düzeldiği saptanmıştır (Grafik 6).



Grafik 6. Cisplatin+100 mg/kg çay üzümü grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.

Cisplatin+200mg/kg çay üzümü grubunun 0. ve . 8 günde yapılan DPOAE testlerinde işitme açısından anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$) (Grafik 7). Cisplatinin rat kulaklarında

yaptığı işitme azlığının çay üzümü ekstresi ile korunulabilir nitelikte olduğu ve anlamlı oranda düzeldiği saptanmıştır. Ancak uygulanan düşük doz çay üzümü ile yüksek doz çay üzümünün arasında belirgin fark saptanmamıştır.



Grafik 7. Cisplatin+200 mg/kg çay üzümü grubunun tüm frekanslardaki 0. ve 8. gün SNR değerleri.

4.2 Biyokimyasal Sonuçlar

Ölçülen total antioksidan kapasite (TAS) , total oksidatif stres (TOS), oksidatif stres indeksleri (OSI) karşılaştırıldı. Grupların TAS, TOS ve OSI değerleri Tablo 1, 2, ve 3'de özetlenmiştir.

	TOTAL ANTIÖKSİDAN KAPASİTE (TAS)
Gruplar	Ortalama \pm standart sapma(min-max)
Kontrol grubu	1,12 mmol Trolox Equivalent/L \pm 0,10(0,96-1,60)
Çözücü kontrol grubu	1,11 mmol Trolox Equivalent/L \pm 0,11(0,98-1,27)
Çay üzümü kontrol	1,45 mmol Trolox Equivalent/L \pm 0,16(1,12-1,60)
Cisplatin grubu	1,04 mmol Trolox Equivalent/L \pm 0,05(0,97-1,11)
Cisplatin+çay üzümü 100	1,21 mmol Trolox Equivalent/L \pm 0,12(1,01-1,36)
Cisplatin+çay üzümü 200	1,34 mmol Trolox Equivalent/L \pm 0,03(1,27-1,38)

Tablo 1. Total antioksidan kapasite (TAS) istatistiksel değerler

Total antioksidan kapasite açısından kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; çözücü kontrol grubu, cisplatin grubu ve çay üzümü 100 mg grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Fakat çay üzümü kontrol grubu ($p<0,001$) ve cisplatin+çay üzümü 200 mg grubunun ($p=0,002$) değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Çözücü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; çay üzümü kontrol grubunun ($p<0,001$) ve cisplatin+çay üzümü 200 mg grubunun ($p=0,001$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Cisplatin grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; çay üzümü kontrol ($p<0,001$), cisplatin+çay üzümü 100 mg ($p=0,026$) ve cisplatin+çay üzümü 200 mg ($p<0,001$) gruplarının değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Çay üzümü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; cisplatin+çay üzümü 200 mg ($p=0,230$) grubunun değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin+çay üzümü 100 mg grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; çay üzümü kontrol grubunun ($p < 0,001$), cisplatin grubunun ($p=0,026$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin+çay üzümü 200 mg grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubunun ($p=0,002$), çözücü kontrol grubunun ($p=0,001$), cisplatin grubunun ($p < 0,001$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

	TOTAL OKSİDATİF STRES (TOS)
Gruplar	Ortalama \pm standart sapma(min-max)
Kontrol grubu	7,40 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L \pm 1,56 (5,60-9,56)
Çözücü kontrol grubu	12,88 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L \pm 6,57(6,48-23,76)
Çay üzümü kontrol	10,71 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L \pm 4,21(5,79-18,73)
Cisplatin grubu	22,49 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L \pm 10,73(11,54-40,09)
Cisplatin+çay üzümü 100	18,90 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L \pm 5,38(8,95-24,37)
Cisplatin+çay üzümü 200	14,67 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L \pm 7,56(8,85-31,41)

Tablo 2. Total oksidatif stres (TOS) istatistiksel değerler

Elde edilen TOS değerlerine göre kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; cisplatin grubunun ($p=0,001$) ve cisplatin+çay üzümü 100 mg grubunun ($p=0,015$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Çözücü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel farklılık yoktur. ($p > 0,05$)

Cisplatin grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grubunun ($p=0,001$) ve çay üzümü kontrol grubunun ($p=0,012$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Çay üzümü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; cisplatin grubunun ($p=0,012$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin+çay üzümü 100mg grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grubunun ($p=0,015$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin+çay üzümü 200 mg grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel farklılık yoktur. ($p > 0,05$)

Oksidatif stres indeksi değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında;

	OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ)
Gruplar	Ortalama \pm standart sapma(min-max)
Kontrol grubu	6,72 \pm 1,84(4,55-9,96)
Çözücü kontrol grubu	11,66 \pm 5,80(5,50-20,96)
Çay üzümü kontrol	7,41 \pm 2,71(3,71-11,93)
Cisplatin grubu	21,54 \pm 9,94(11,54-39,31)
Cisplatin+çay üzümü 100	16,02 \pm 5,42(6,73-23,14)
Cisplatin+çay üzümü 200	11,03 \pm 5,76(6,65-23,62)

Tablo 3. Oksidatif stres indeksleri (OSİ) istatistiksel değerler

Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; cisplatin grubunun ($p < 0,001$) ve cisplatin+çay üzümü 100 mg grubunun ($p=0,031$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek

bulundu ($p < 0,05$) . Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Çözücü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; cisplatin grubunun ($p=0,019$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$) . Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grubunun ($p < 0,001$) , çözücü kontrol grubunun ($p=0,019$) , çay üzümü kontrol grubunun ($p < 0,001$) , cisplatin+çay üzümü 200 mg grubunun ($p= 0,010$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$) . Cisplatin+çay üzümü 100 mg grubu ($p= 0,426$) ile anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

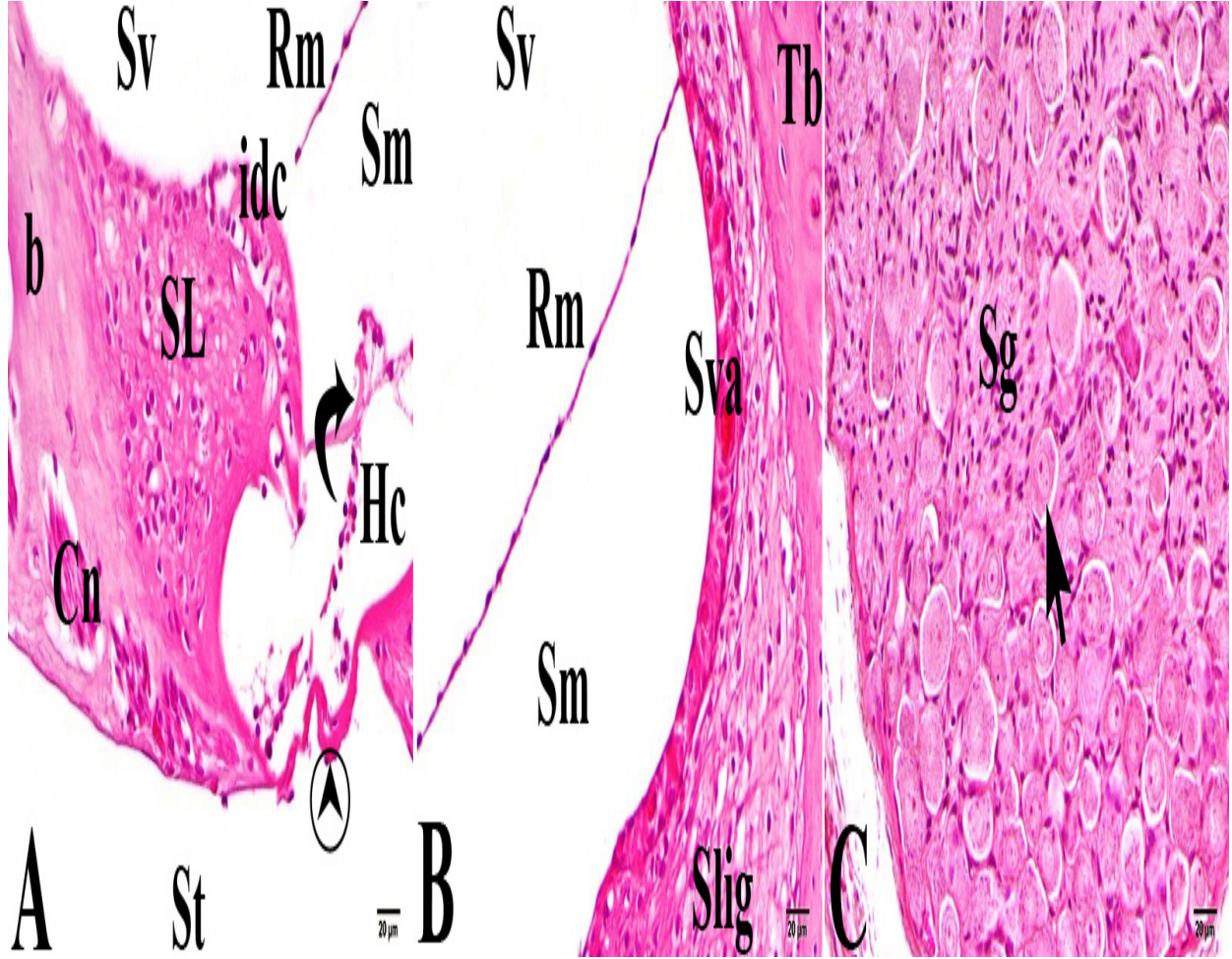
Çay üzümü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; cisplatin grubunun ($p < 0,001$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$) . Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin+çay üzümü 100 mg grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grubunun ($p=0,031$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$) . Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Cisplatin+çay üzümü 200 mg grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında cisplatin ($p=0,010$) olup istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$) . Bu grup ile diğer gruplar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

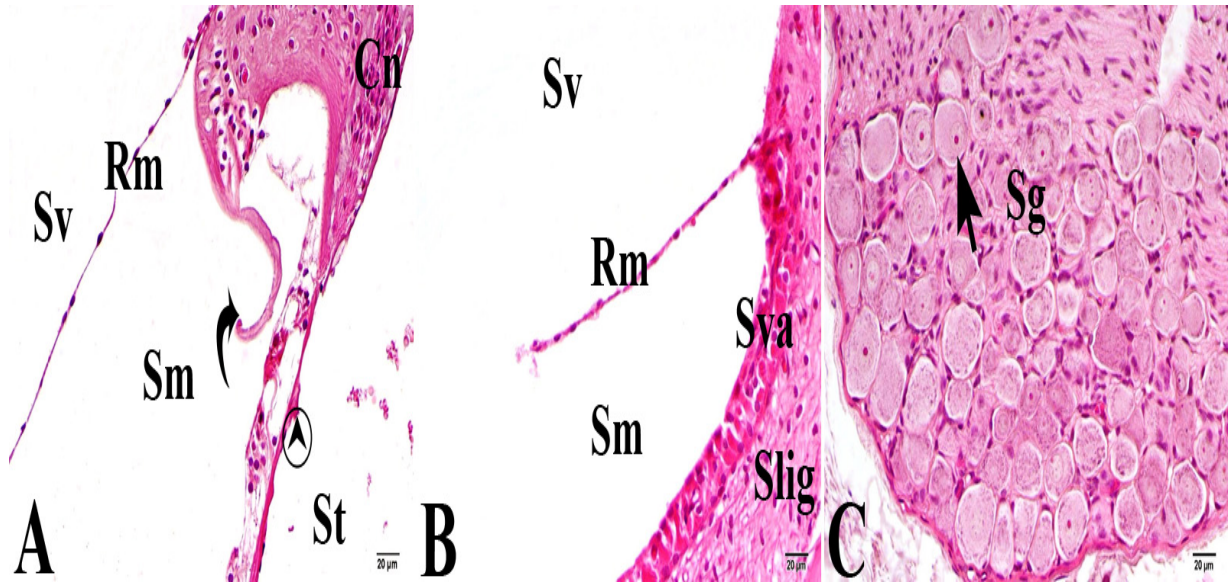
4.3. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Kontrol gruplarının histopatolojik yönden ışık mikroskopik değerlendirmesinde, dokunun genel yapısının normal histolojik görünümde olduğu izlendi. Spiral limbus'un interdental hücreleri tek sıra dizimli ve normal çekirdek yapısına sahip olarak tespit edildi. Corti organı'nın bütünlüğünü koruduğu görüntülerinde dış tüylü hücrelerinin uzantılarının normal yapıda, hücre nükleusları hafif bazofilik olarak görülmesine karşın sitoplazmanın yoğunluğunu normal olduğu gözlemlendi. Hem reissner'in mebranı hem de tektorial membran normal morfolojide bulunurken, destek hücrelerin nükleusları ve sitoplazmik yapıları normal histolojik görünümde izlendi (Şekil 4A). Stria vaskularis ve spiral ligament oluşturan hücrelerin hem dizilimi hem de çekirdek görünümleri normal olduğu tespit edildi (Şekil 4B). Spiral ganglion görüntülerinde bağ doku hücreleri ile pseudounipolar nöronların normal ganglion hücresi yapısı olduğu görüldü (Şekil 4C). Nöronların ve diğer bazı hücrelerin etrafında oluşan açıklıklar vakuolizasyon olmadığı preperasyondan kaynaklandığı tespit edildi.



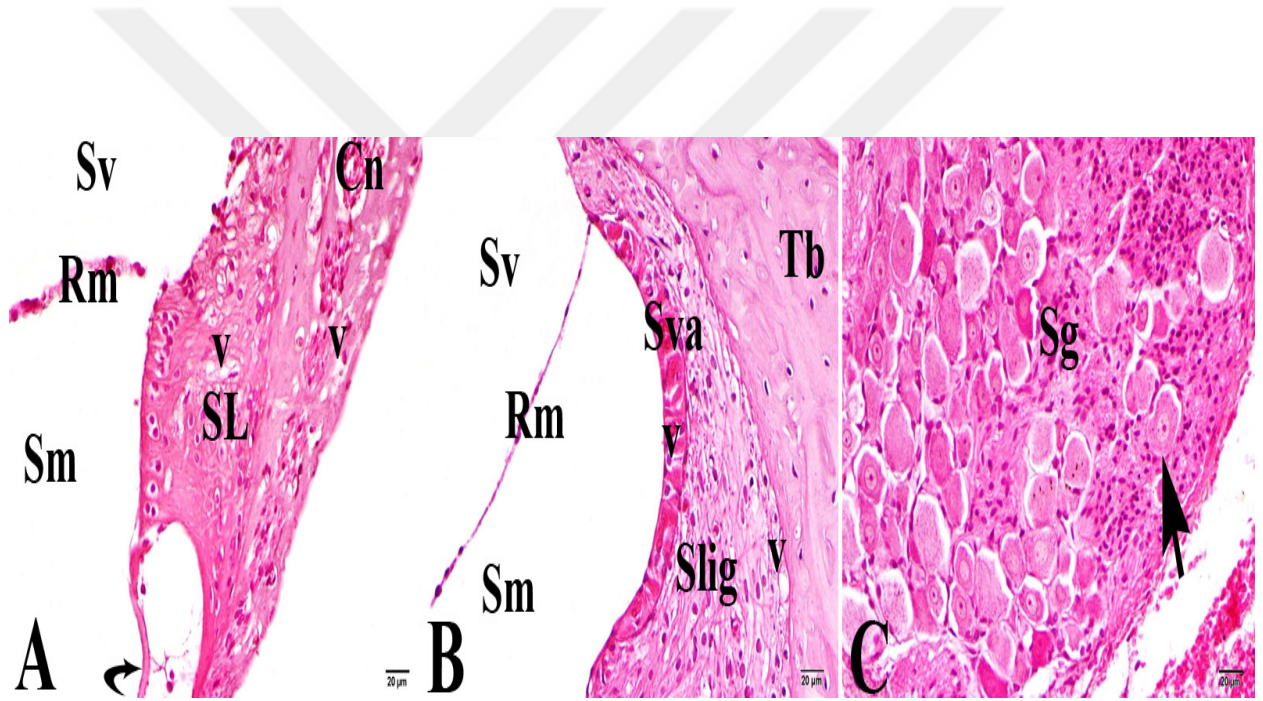
Şekil 4. Kontrol Grubu; SL: Spiral Limbus, b:Kemik, Rm: Reissner Membrane, Sv: Scala Vestibuli, Sm: Scala media, St: scala tympani, Yuvarlak ok başı; Basilar membrane, Eğri ok; tectorial membrane, idc: inter dental cell, Hc: iç tüy hücreleri, Cn: Cochlear nerve, Sva: stria vascularis, Slig: Spiral Ligament, Sg: Spiral ganglion, siyah ok: Spiral Gangliyon hücreleri (Hematoxilen Eosin stain, x40).

Çözücü kontrol grubunun histopatolojik yönden ışık mikroskopik incelenmesinde, dokunun normal histolojik yapıda olduğu ve çözücü maddenin dokunun hem morfolojisi üzerine hem de hücresel yapıları üzerinde olumlu yada olumsuz etkilerinin olmadığı, kontrol gruplarında gözlenen normal histolojik yapılar şeklinde tespit edildi (Şekil 5A, 5B ve 5C).



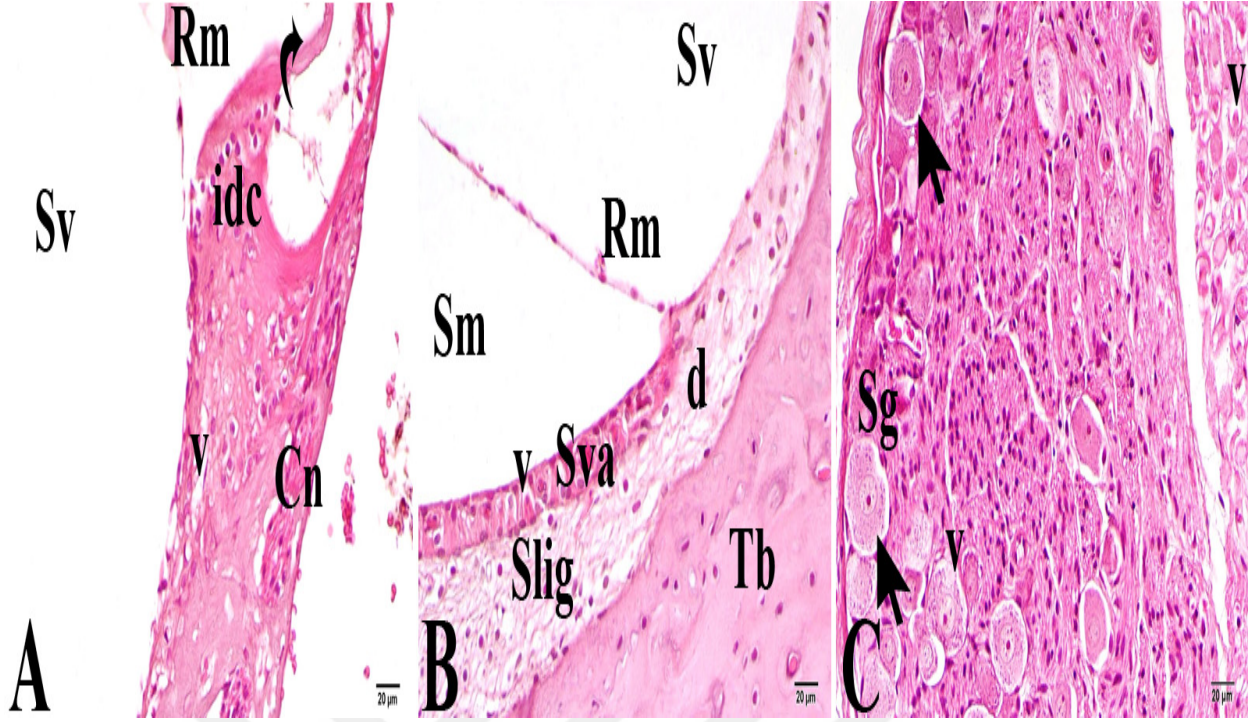
Şekil 5. Çözücü Kontrol Grubu; Rm: Reissner Membrane, Sv: Scala Vestibuli, Sm: Scala media, St: scala tympani, Yuvarlak ok başı; Basilar membrane, Eğri ok; tectorial membrane, Cn: Cochlear nerve, Sva: stria vascularis, Slig: Spiral Ligament, Sg: Spiral ganglion, siyah ok: Spiral Gangliyon hücreleri, (Hematoxilen Eosin stain, x40).

Çay üzümü kontrol grubunun histopatolojik yönden ışık mikroskopik incelenmesinde, dokunun histolojik yapısının normal görünümde olduğu ve uygulanan likapa dozunun dokunun morfolojisi ve hücre yapılarının kontrol grubu ile kıyaslandığında patolojik değişiklikler yapmadığı hem morfolojik hemde morfometrik yapıların dozdan olumlu yada olumsuz etkilenmedikleri tespit edildi. Spiral limbus ve stria vaskularis bölgelerinde hafif vakuolizasyonların görüldüğü fakat bunların istatistiksel anlamlılık ifade edecek kadar yoğun olmadığı görüldü (Şekil 6A, 6B ve 6C).



Şekil 6. Çay üzümü +çözücü grubu; SL: Spiral Limbus, Rm: Reissner Membrane, Sv: Scala Vestibuli, Sm: Scala media, St: scala tympani, Yuvarlak ok başı; Basilar membrane, v: vakuolizasyon, Eğri ok; tectorial membrane, Cn: Cochlear nerve, Sva: stria vascularis, Slig: Spiral Ligament, Sg: Spiral ganglion, siyah ok: Spiral Gangliyon hücreleri, (Hematoxilen Eosin stain, x40).

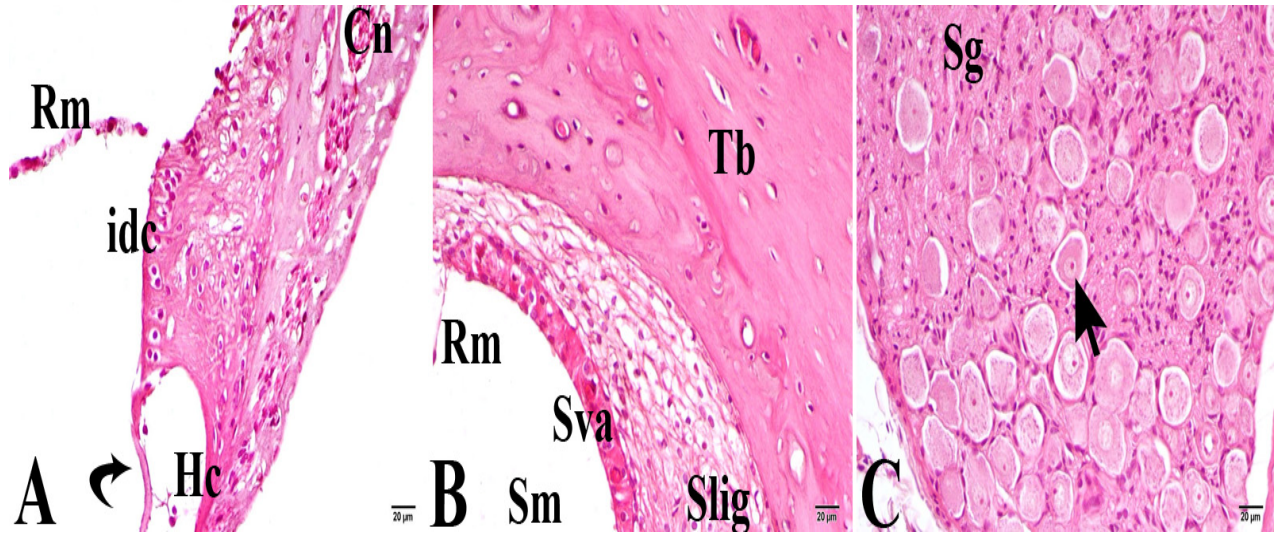
Cisplatin grubunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde, dokunun genel yapısının bozulduğu, hücrelerde sitoplazmik vakuolizasyonun arttığı ve dejenerasyona bağlı hücre dökülmelerinin görüldüğü tespit edildi. Corti organı'nın bütünlüğünü koruduğu fakat iç ve dış tüy hücrelerinin uzantılarında ve hücre gövdelerinde yer yer şişmeler ve dejenerasyonlara bağlı dökülmeler olduğu görüldü. İç ve dış hücre nukleuslarının hafif asidofilik olarak görülmesi ile sitoplazmalarında da vakuolizasyonların olduğu gözlemlendi. Tektorial membran normal morfolojide bulunmasına karşın kalınlaştığı, reissner'in membranının hücrelerinin şiştiği ve yer yer dökülmelerin olduğu belirlendi. Destek hücrelerin nukleusları hafif bazofilik olmasına karşın sitoplazmalarında az miktarda vakuolizasyonlar gözlemlendi. Spiral limbus bölgesinde vakuolizasyonların dilatasyon şeklinde ayrışmalar oluşturduğu görüldü (Şekil 7A). Stria vaskularis ve spiral ligamenti oluşturan hücrelerin hem dizilimi hem de çekirdek görünüşleri kontrol grubuna nazaran yoğun patolojik olduğu ve hücre dejenerasyonlarına bağlı çekirdek kayıpları ve dilatasyonlar tespit edildi. Burada vakuolizasyonların arttığı ve yer yer dejenerasyonlu hücrelerin olduğu görüldü. Spiral limbusun içinde dilatasyonların arttığı hücrelerin ise yoğun asidofilik boyandığı tespit edildi (Şekil 7B). Spiral ganglion ve Salyangoz sinirinin liflerinin yer dejenerasyona uğradığı ve aksonal dejenerasyonların ile vakuolizasyonların arttığı gözlemlendi. Pseudounipolar nöronların normal ganglion hücresi gövdelerinin deforme olduğu ve vakuolizasyonların ise az miktarda olduğu görüldü (Şekil 7C).



Şekil 7. Cisplatin Grubu; Rm: Reissner Membrane, Sv: Scala Vestibuli, Sm: Scala media, St: scala tympani, Yuvarlak ok başı; Basilar membrane, d: degenerasyon ve dilatasyon, v: vakuolizasyon, Eğri ok; tectorial membrane, Cn: Cochlear nerve, Sva: stria vascularis, Slig: Spiral Ligament, Sg: Spiral ganglion, siyah ok: Spiral Gangliyon hücreleri, (Hematoxilen Eosin stain, x40).

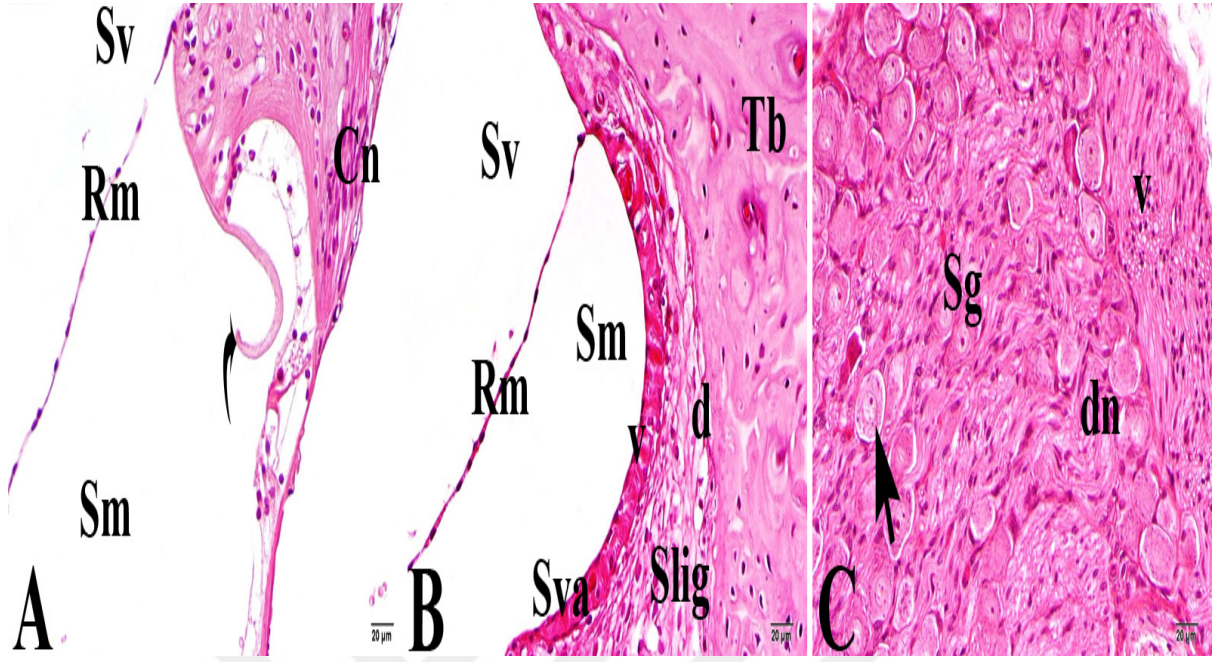
Cisplatin + çay üzümü 100mg/kg grubunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde, dokunun genel yapısının cisplatinden etkilendiği ve morfolojik olarak bozulduğu, hücrelerde sitoplazmik vakuolizasyonların ve degenerasyonların kontrol grubuyla kıyaslandığında orta

derecede gözlenmesine karşın cisplatin grubundan ise daha az olduğu belirlendi. Corti organı'nın bütünlüğünü korumasına karşın iç ve dış tüy hücrelerinin uzantılarında ve hücre gövdelerinde yer yer şişmelerin, dejenerasyonların ve hücre dökülmelerinin devam ettiği görüldü. İç dental hücrelerin etrafındaki vakuolizasyonların azaldığı Spiral limbus alanındaki vakolizasyonların orta kısımda gözlenmesine karşın yoğunluğunun ise azaldığı görüldü. İç ve dış hücre nükleuslarının asidofilik olarak görülmesi ile sitoplazmalarında da vakuolizasyonların ise devam ettiği gözlemlendi. Tektorial membran(eğri ok) normal morfolojide bulunmasına karşın kalınlığını kaybettiği, reissner'in mebranınının bazı yerlerinde hücrelerinin şiştiğinin devam etmesine karşı bazı yerlerde ise normal görünümde olduğu ve yer yer dökülmelerinin bu alanlarda azaldığı belirlendi (Şekil 8A). Stria vaskularis ve spiral limbusu oluşturan hücrelerin cisplatin grubu ile kıyaslandığında fazla bir değişiklik olmadığı tespit edildi (Şekil 8B). Spiral ganglion ve Salyangoz sinirinin liflerinin yer dejenerasyonların devam ettiği ve aksonal dejenerasyonların azalmasına karşın vakuolizasyonların ise çok az miktarda myelin dejenerasyonu şeklinde olduğu görüldü. Pseudounipolar nöronların normal ganglion hücresi görünümünde olmalarına karşın gövdelerinin deforme olduğu ve periferik vakuolizasyonların da az miktarda olduğu gözlemlendi (Şekil 8C).



Şekil 8 . Cisplatin +çay üzümü 100mg/kg Grubu; Rm: Reissner Membrane, Sv: Scala Vestibuli, Sm: Scala media, St: scala tympani, Yuvarlak ok başı; Basilar membrane, idc:inter dental cell, Hc: iç tüy hücreleri, d: dejenerasyon ve dilatasyon, v: vakuolizasyon, Eğri ok; tectorial membrane, Cn: Cochlear nerve, Sva: stria vascularis, Slig: Spiral Ligament, Sg: Spiral ganglion, siyah ok: Spiral Gangliyon hücreleri, (Hematoxilen Eosin stain, x40).

Cisplatin+ çay üzümü 200mg/kg grubunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde, dokunun genel yapısının cisplatinden yoğun etkilendiği ve corti organi başta olmak üzere morfolojik olarak bozulduğu, hücrelerde sitoplazmik vakuolizasyonların ve dejenerasyonların kontrol grubuyla kıyaslandığında dejenerasyonları ve hücre kayıpları gözlenmesine karşın cisplatin grubundan ise çok az olduğu belirlendi. Corti organi'nın basilar membran bölgesinde bütünlüğünün korumasına karşın iç ve dış tüy hücrelerinin uzantılarında ve hücre gövdelerinde yer yer şişmelerin ve sitoplazmik kayıplardan kaynaklanan dejenerasyonların devam ettiği görüldü. İç dental hücrelerin etrafındaki sitoplazmik vakuolizasyonların azaldığı tesbit edildi. İç ve dış hücre nükleuslarının asidofilik olarak görülmesi ile sitoplazmalarında da vakuolizasyonların ise devam ettiği gözlemlendi. Tektorial membran (eğri ok) normal morfolojide bulunmasına karşın kalınlığını kaybettiği, spiral limbuse cisplatin kaynaklı vakuolizasyon ve dilatasyonların ise önemli miktarda azaldığı ve dokunun sıkı bir görünümün sergilediği görüldü. Reissner'in membranının bazı yerlerinde hücrelerinin şiştiği ve dökülmelerinin olmasına karşın bazı yerlerde ise normal görünümde yassı hücrelerin sayısının arttığı belirlendi (Şekil 9A). İner tünel normal yapı da görünmesine karşın Stria vaskülaris ve spiral ligamenti oluşturan hücrelerin cisplatin grubu ile kıyaslandığında fazla bir değişiklik olmadığı tespit edildi (Şekil 9B). Spiral ganglion ve Salyangoz sinirinin liflerinin yer yer dejenerasyonların devam ettiği ve aksonal dejenerasyonların azalmasına karşın vakuolizasyonların ise çok az miktarda myelin dejenerasyonu şeklinde olduğu görüldü. Nöronların normal ganglion hücresi görünümünde olmalarına karşın gövdelerinin büzüştüğü, deforme olduğu ve periferik vakuolizasyonların da az miktarda olduğu gözlemlendi (Şekil 9C).



Şekil 9. Cisplatin+ çay üzümü200mg/kg Grubu; Rm: Reissner Membrane, Sv: Scala Vestibuli, Sm: Scala media, St: scala tympani, Yuvarlak ok başı; Basilar membrane, idc:inter dental cell, Hc: iç tüy hücreleri, d: dejenerasyon ve dilatasyon, v: vakuolizasyon, Eğri ok; tectorial membrane, Cn: Cochlear nerve, Sva: stria vascularis, Slig: Spiral Ligament, Sg: Spiral ganglion, siyah ok: Spiral Gangliyon hücreleri, (Hematoxilen Eosin stain, x40).

Çalışmamızda altı grupta toplam 48 rat kulağının ışık mikroskopisi sonuçları değerlendirildi. Değerlendirme bulguları Tablo 9'da özetlenmiştir.

Grup	Sitoplazmik Vakuolizasyon	Hücre Dejenerasyonu	Dilatasyon	Apoptotik Hücreler	Sinir Dejenerasyonları
Kontrol Grubu	0,0,0,0,1,0,0,1	0,0,0,0,0,0,1,0	0,0,0,0,0,1,0,0	0,0,0,1,1,1,1,1	0,0,0,0,0,0,1,1
Çözücü Kontrol Grubu	0,0,0,0,0,1,1,1	0,0,0,0,0,0,0,0	0,0,0,0,0,1,0,1	0,0,0,0,1,1,1,1	0,0,0,0,0,0,1,1
Çay Üzümlü Kontrol Grubu	0,0,0,1,1,1,1,1	0,0,0,0,2,2,1,1	0,0,0,0,1,1,2,2	0,0,0,0,1,1,1,1	0,0,0,0,0,1,1,1
Cisplatin Grubu	4,3,3,3,4,4,4,4	3,3,3,3,3,3,3,3	2,2,2,2,3,4,3,3	3,3,3,3,3,3,3,3	2,2,2,2,3,3,3,3
Cisplatin+ Çay üzümü 100mg/kg Grubu	1,1,2,2,2,2,2,2	2,2,2,2,2,1,1,1	2,2,2,2,2,2,1,1	2,2,3,3,3,3,3,3	1,2,2,2,3,1,3,3
Cisplatin+ Çay üzümü 200mg/kg Grubu	0,0,1,1,1,1,1,1	0,0,0,1,1,1,1,2	0,0,0,0,1,1,1,1	0,1,1,2,1,1,0,0	1,1,2,2,2,2,2,0

Tablo 9. Grupların histolojik parametrelerinin derecelendirilmesi.

Kontrol ile çözücü kontrol grubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi. (sitoplazmik vakuol için $p=0,721$, hücre dejenerasyonu için $p=0,721$, dilatasyon için $p=0,721$, apoptotik hücreler için $p=0,721$ ve sinir dejenerasyonları için $p=1,000$).

Kontrol grubu ile çay üzümü kontrol grubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık izlenmedi (sitoplazmik vakuol için $p=0,195$, hücre dejenerasyonu için $p=0,161$, dilatasyon için $p=0,195$ apoptotik hücreler için $p=0,721$ ve sinir dejenerasyonları için $p=0,721$) .

Kontrol grubu ile cisplatin grubu arasında bütün değerlendirme kriterleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$).

Kontrol grubu ile cisplatin+çay üzümü 100mg grubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık izlendi. (sitoplazmik vakuol için $p=0,001$, hücre dejenerasyonu için $p<0,001$, dilatasyon için $p<0,001$, apoptotik hücreler için $p<0,001$ ve sinir dejenerasyonları için $p=0,001$)

Kontrol grubu ile cisplatin+çay üzümü 200mg grupları arasında anlamlı istatistiksel farklılık izlendi. (sitoplazmik vakuol için $p=0,083$, hücre dejenerasyonu için $p=0,083$, dilatasyon için $p=0,234$, apoptotik hücreler için $p=0,382$ olup anlamlı farklılık izlenemedi. Sinir dejenerasyonları için $p=0,007$)

Cisplatin grubu ile cisplatin+çay üzümü 100mg grupları karşılaştırıldığında ; sitoplazmik vakuol ($p<0,001$) , hücre dejenerasyonu ($p<0,001$) ve dilatasyon ($p=0,038$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p>0,05$).

Cisplatin grubu ile cisplatin+çay üzümü 200mg grupları karşılaştırıldığında ; sitoplazmik vakuol ($p<0,001$) , hücre dejenerasyonu ($p<0,001$) , dilatasyon ($p<0,001$) , apoptotik hücreler ($p<0,001$) , sinir dejenerasyonları ($p=0,021$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p>0,05$).

Çözücü kontrol grubu ile çay üzümü kontrol grupları karşılaştırıldığında; sitoplazmik vakuol ($p=0,328$) , hücre dejenerasyonu ($p=0,105$) , dilatasyon ($p=0,328$), apoptotik hücreler ($p=1,000$) , sinir dejenerasyonları ($p=0,721$) değerleri istatistiksel yönden anlamlı izlenmedi($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Ototoksisite işitme ve dengeyi bozan önemli nedenlerden biri olmaya devam etmektedir. Ototoksik maddelere bağlı olarak meydana gelen bazı başlıca yakımlar; işitme kaybı, tinnitus, dengesizlik ve vertigodur. Bu yakınmalar arasında en sık ve çoğu zaman da ilk olarak karşılaşılan yakınma tinnitustur (4).

Cisplatin baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu, solid testis, over, mesane, prostat, serviks tümörleri ve küçük hücreli olmayan akciğer karsinomları gibi pek çok malign hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili bir antineoplastik ajandır. Bununla birlikte nefrotoksisite, myelotoksisite, gastrointestinal toksisite, ototoksisite ve periferel nöropati gibi ciddi yan etkileri cisplatinin klinik kullanımını kısıtlamaktadır. Özellikle nefrotoksisite ve ototoksisite doz sınırlayıcı major yan etkilerdir. Kemoterapide tek başına veya diğer ilaçlarla kombine edilerek güvenle kullanımını sağlamak amacıyla yan etkileri konusunda pek çok çalışma yapılmıştır. Nefrotoksik etkilerinden hidrasyon ile başa çıkılabilirken, ototoksik etkilerinden korunmak amacıyla yapılan bir tedavi henüz bulunmamaktadır (10,78,80,81).

Çalışmamızda cisplatin ototoksisitesinden korunmak için; güçlü bir antioksidan olduğu bilinen çay üzümü ekstresinin ratlarda cisplatin ototoksisitesi üzerine koruyucu etkisinin odyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Bu çalışmada ayrıca çay üzümü ekstresinin ratlarda cisplatin ototoksisitesinin oluşum mekanizmalarından biri olduğu kabul edilen oksidatif strese karşı koruyucu olarak oluşturduğu antioksidan cevabın biyokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler düşük doz ve yüksek doz çay üzümü ekstresinin 2000 Hz ve üzerindeki frekanslarda cisplatin ototoksisitesine bağlı gelişen işitme kaybına karşı koruyucu etkisi olduğu DPOAE ile gösterilmiştir. Histopatolojik değerlendirmede ise cisplatin ototoksik etkileri hücresel boyutta izlenmiş ve çay üzümünün hücresel boyutta dozdan bağımsız koruyucu etkileri tespit edilmiştir. Ancak sinir dejenerasyonu üzerine olan koruyucu etkisinin yüksek dozlarda olduğu tespit edildi. Ayrıca yapılan biyokimyasal değerlendirmede cisplatinin ototoksisite oluşturma mekanizmalarından

biri olan oksidatif strese karşı çay üzümünün oluşturduğu antioksidan etki ile koruyucu bir etki oluşturduğu izlenmiştir.

Cisplatinin antineoplastik bir ilaç olarak kullanım yaygınlaşması ile bu ilacın kullanım ile ortaya çıkan ototoksisitenin engellenmesi için birçok antioksidan ilaç ile deneysel çalışmalar yapılmıştır. Huang ve ark.'larının deneysel çalışmasında bir antosiyanin olan ginko biloba (gb) ekstresi maddesinin cisplatin ototoksisitesi üzerine olan etkileri işitme ve histopatolojik inceleme yoluyla değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada gb + cisplatin kullanılan grupta sadece cisplatin kullanılan gruba kıyasla hem işitme eşiklerinde daha az düşüş, hem de daha düşük oranda dış tüylü hücre harabiyeti saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (87).

Wang ve arkadaşları ratlarda cisplatin uygulaması esnasında otoprotektif etkisi uzun zamandır bilinmekte olan sodyum thiosülfatı klinik olarak yüksek terapötik dozda intrakoklear perfüzyon şeklinde uygulamışlar. Bu strateji oldukça başarılı olmuş ve işitme kaybına dair herhangi bir belirti izlenmemiş. Histolojik analizlerde Corti organındaki dış tüylü hücrelerde neredeyse tam bir korunma izlenirken yalnızca cisplatinle tedavi edilen grupta işitmede ve dış tüylü hücrelerde belirgin kayıp izlenmiştir (88).

Çalışmamızda işitmenin değerlendirilmesi için otoakustik emsiyon cevapları değerlendirildi. Ototosiste açısından cisplatin grubunun 8. gün emisyon cevaplarında anlamlı düşüş izlendi. Bu bulgu kullandığımız cisplatin dozunun ototoksite oluşturduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda antioksidan olarak çay üzümü ekstresi kullanılmıştır. Çay üzümü umut vadeci potansiyel bir ilaç grubudur. Yaban mersini, frenk üzümü gibi meyve içeriklerinde yüksek oranda bulunan antokaninler taze olarak veya kurutulmuş meyve olarak diyetle alınabilirler. Yaban mersini ekstrelerinin ratlarda görmeyi geliştirme, antikanser, antiinflamatuvar ve nöroprotektif etki gibi geniş bir spektrumda fizyolojik etkisinin olduğu gösterilmiş olmasına rağmen ototoksisitedeki etkisi fazla bilinmemektedir (18,82). Yaban mersini 200'ün üzerinde tür barındıran Vaccinium cinsine bağlıdır. Önde gelen türlerden Vaccinium corybosum ve Vaccinium onguifolium türleri Vaccinium myrtillus diyede adlandırılan Avrupa yaban mersinidir. Kuzey Avrupada yaban mersini en önemli yabani ailelerden biridir. Yaban mersini yüksek antosiyanin, flavanoidler ve fenolik asit içeriğine sahip olduğu bilinmektedir. Antosiyaninler flavonoidler ve diğer fenolik asit bileşiklerinin antioksidan, antimutajenik, antikarsinojenik, antiinflamatuvar, antihipertansif,

antihiperlipidemik, antiproliferatif ve antimikrobiyal olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (48).

Çalışmamızda otoakustik emisyon cevabı verileri incelendiğinde cisplatin+çay üzümü 100 mg grubu ve cisplatin+çay üzümü 200 mg gruplarının her ikisinde de işitme değerlerinin kontrol gruplarına benzer olduğu görülmüştür. Bu bulgular çay üzümünün cisplatin ototoksitesine karşı korucu etkisi olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz diğer bir veri ise uygulanan düşük doz (100 mg) ve yüksek doz (200 mg) çay üzümünün işitmenin korunması açısından anlamlı bir fark oluşturmadığıdır. Çözücü olarak kullanılan distile su ve etanolün de işitme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı izlendi.

Li Bao ve ark. yaptığı çalışmada yaban mersininden elde edilmiş antosiyanin ekstrelerinin ratlardaki antioksidatif parametreler ve antosiyaninlerin ALT seviyeleri üzerine etkisi incelenmiştir. Kısıtlayıcı strese maruz kalan farelerde oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC), glutatyon(GSH) ve C vitamini seviyelerini inceleyerek yaban mersininin ekstresinin antistres etkileri değerlendirilmiştir (89).

Ryback 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 cisplatinin ototoksik etkisine karşı protektif ajanlar olarak tek başlarına ve kombine olarak uygulamışlar. 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 .Cisplatin öncesi ebselen ve bir metal şeatörü olan 4-metiltiobenzoik asit (MTBA) uygulanımı Glutatyon seviyelerindeki, antioksidan enzim aktivitesindeki düşüşü engellemek ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmek suretiyle otoprotektif etki sağlamakta ve ABR eşik değişikliklerindeki engellemektedir (90).

Çalışmamızda elde edilen verilere göre total antioksidan kapasitenin , çay üzümü kontrol grubu, çay üzümü 100mg ve 200 mg gruplarında anlamlı olarak yüksek bulundu. Çözücü kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; yine çay üzümü kontrol grubunun ve çay üzümü 200 mg grubunun tas değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Yani çay üzümü gruplarında antioksidan kapasitenin arttığı görülmüştür . Cisplatin grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında diğer grupların tamamına göre anlamlı oranda oksidatif stresi artırdığını gösterdik.Cisplatin gruplarına 100 mg veya 200 mg çay üzümü verildiğinde oksidatif stresi anlamlı oranda düşürdüğü izlendi.Bu sonuçlar cisplatin ototoksitesini

nedenlerinden biri olan oksidatif strese karşı çay üzümünün koruyucu etkisinin olduğu düşüncesini desteklemektedir.

Rat koklea sıçanlarda cisplatin kaynaklı ototoksisite üzerinde az sayıda ışık mikroskobu çalışması mevcuttur. Cisplatin ototoksisitesinin histopatolojisi iyi tanımlanmış olmasına karşın işitme kaybının altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle uzun yıllardır birçok araştırmalar yapılarak tanımlanmaya çalışılan bir konudur. Cisplatin cochleanın bazal kıvrımındaki ilk sıra hücrelerde başlayıp daha yukarıdaki dış tüylü hücrelere doğru progrese olan ve iç tüylü hücreleri de etkileyen Corti organ hasarına neden olmaktadır. Cisplatin, Corti organı dışında spiral ganglion ve stria vaskülarisi de etkilemektedir (84).

Öztürk ve arkadaşlarının ratlarda cisplatin ve cisplatin-gentamisin kombinasyonunun ototoksik etkilerinin histolojik etkilerini araştırdıkları çalışmada ototoksisite şiddetinin derecesi ne olursa olsun gruplar arasında tüylü hücrelerde, spiral ganglion ve sinir liflerinde hidropik dejenerasyon ve nükleer kayıp gibi değişiklikler göz önüne alınarak yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Bulgular incelendiği zaman tek başına cisplatin verilen gruptaki dejeneratif değişiklikler ve nükleer kaybın cisplatin-gentamisin kombinasyonundaki gruptakinden daha az olduğu görülmektedir (91).

Kapusuz ve ark.yaptığı çalışmada yaban mersininin cisplatin ototoksisitesinde koruyucu etkisi araştırılmış, çalışmamızla örtüşen sonuçlar bulunmuştur. Cisplatin ototoksisitesindeki işitme kaybı tüm frekansları tutmasına rağmen özellikle yüksek frekanslarda daha fazla işitme kaybı yaptığı gözlenmiştir. Tüm frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yaban mersininin ototoksisiteden koruduğu gözlenmiştir.(92)

Çalışmamızın histolojik sonuçlarına göre; cisplatin grubu ile cisplatin+çay üzümü 100mg grupları karşılaştırıldığında ; sitoplazmik vakuol , hücre dejenerasyonu ve dilatasyon istatistiksel yönden anlamlı olup sadece sinir dejenerasyonu ve apoptotik yönden anlamlılık izlenemedi. Cisplatin grubu ile cisplatin+çay üzümü 200mg grupları karşılaştırıldığında ; sitoplazmik vakuol, hücre dejenerasyonu, dilatasyon, apoptotik hücreler, sinir dejenerasyonları açısından istatistiksel yönden anlamlı farklılık izlendi. Elde ettiğimiz bu veriler çay üzümü ekstresi sitoplazmik vakuolizasyon, hücre dejenerasyonu üzerine koruyucu etkisinin olduğunu desteklemektedir. Ayrıca çay üzümünün apoptozis ve sinir dejenerasyonu üzerine olan koruyucu etkisinin oluşması için yüksek doz uygulanması gerektiği görülmüştür.

Kontrol grubu ile cisplatin+ çay üzümü 200 mg grupları arasında sinir dejenerasyonları açısından anlamlı farklılık izlendi. Kontrol grubu ile cisplatin+ çay üzümü 200 mg grupları arasındaki sinir dejenerasyonu açısından anlamlı bulunmasına rağmen otoakustik emisyon ile bu iki grup arasında anlamlı fark bulunmaması , cisplatin ototoksitesine bağlı hasarın hücresel boyutta erken dönemde başlamasına rağmen işitmeyi erken dönemde etkilememesi ile açıklanabilir.

Çay üzümü yüksek antosiyanin, flavanoidler ve fenolik asit içeriğine sahip olduğu bilinmektedir. Antosiyaninler flavonoidler ve diğer fenolik asit bileşiklerinin antioksidan, antimutajenik, antikarsinojenik, antiinflamatuar, antihipertansif, antilipidemik, antiproliferatif ve antimikrobiyal olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip oldukları bildirilmektedir. Ancak ototoksite üzerine olan etkisine yönelik literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda işitmenin korunması üzerine belirgin etkileri izlenmiştir. Ancak uygun doz aralıklarının belirlenebilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. ÖZET

Giriş/amaç: Cisplatin, baş boyun kanserlerinde sıklıkla kullanılan bir kemoteropötik olmasına rağmen gelişebilen ototoksik etkisi halen ciddi bir sorundur. Bu ototoksisiteden korunmak ve/veya önlemek amacıyla literatürde çeşitli antioksidan maddeler kullanılmıştır. Çalışmamızda güçlü bir antioksidan olan çay üzümü ekstresinin cisplatin ototoksisitesi üzerine olan koruyucu etkisi araştırıldı. **Materyal/metod:** Toplam 48 adet, erkek, erişkin (3-5 aylık), ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen Spraque Dawley albino cinsi rat rastgele 6 gruba bölünerek; hiç enjeksiyon yapılmayan kontrol grubu, sadece çözücü madde 8 doz enjekte edilen grup, sadece çay üzümü 100 mg/kg 8 doz yapılan grup, cisplatin 16 mg/kg tek doz yapılan grup , cisplatin 16 mg/kg tek doz ve çay üzümü 100 mg/kg 8 doz yapılan grup, cisplatin 16 mg/kg tek doz ve çay üzümü 200 mg/kg 8 doz yapılan grup olarak belirlendi.Çalışma başlangıcında ve 8.gün DPOAE testi uygulandı. Sekizinci gün ratlar sakrifiye edilirken biyokimyasal analiz için kan numuneleri alındı. Alınan kan numunelerinden total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres parametreleri ölçüldü ve bu veriler kullanılarak oksidatif stres indeksi hesaplandı. Histolojik incelemeler için temporal kemik diseke edilerek %2,5 luk gluteraldehit ile fikse edilerek saklandı. Hemotoksilen-eozin boyama sonrası sonuçlar ışık mikroskopisinde değerlendirildi. **Sonuç:** Yapılan çalışma sonunda özellikle cisplatinin hem hücresel boyutta hem işitme fonksiyonları üzerine hem de kandaki oksidatif stres üzerine olumsuz etkileri izlendi. Çay üzümünün cisplatin ototoksisitesi üzerine koruyucu etkisinin her iki grupta olduğu gözlemlendi. Yüksek doz çay üzümü grubunda düşük doza göre belirgin farklılık izlenmedi. **Tartışma:** Çay üzümü yüksek antosiyanin, flavanoidler ve fenolik asit içeriğine sahip olduğu antioksidan,antiinflamatuvar, antiproliferatif etkiye sahip oldukları bildirilmektedir.Ancak ototoksisite üzerine olan etkisine yönelik literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda işitmenin korunması üzerine belirgin etkileri izlenmiştir. Ancak uygun doz aralıklarının belirlenebilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: ototoksisite,cisplatin,çay üzümü

7. ABSTRACT

Introduction/objective: Although cisplatin is a frequently used chemotherapeutic agent in head and neck cancer, the ototoxic effect of it is still a serious problem. Various antioxidant materials have been used to avoid and/or prevent this ototoxicity in literature. The protective effect of whortleberry on cisplatin ototoxicity was investigated in the current study.

Materials/methods: Forty-eight male, adult (3-5 months of age) Spraque Dawley albino rats ranging in weight from 250 g to 350 g were included in the study. The rats were divided into six groups. The control group was not exposed to any injection. The other groups were consisted of rats which received only 8 doses of solvent, only 8 doses of whortleberry at 100 mg/kg dose, only a single dose of 16 mg / kg cisplatin, a single dose of 16 mg / kg cisplatin with 8 doses of whortleberry at 100 mg/kg dose and a single dose of 16 mg / kg cisplatin with 8 doses of whortleberry at 200 mg/kg dose respectively. DPOAE test was performed at the beginning and the eighth day of the study. The rats were sacrificed on the eighth day and blood samples were collected for the biochemical analysis. Total antioxidant capacity and total oxidative stress parameters were measured from these blood samples and oxidative stress index was calculated by using these data. For histological investigations, temporal bone was dissected and fixed in 2.5% glutaraldehyde solution. Following the hematoxylin-eosine staining, the findings were evaluated under light microscopy.

Results: Negative effects of cisplatin were observed on both at the cellular level and on hearing functions in addition to increased oxidative stress in blood. The protective effect of whortleberry on cisplatin ototoxicity was observed in both groups. No significant difference was observed between the groups which received high dose whortleberry and low dose.

Discussion: The antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative effects of whortleberry have been already reported with its high anthocyanin, flavonoid and phenolic acid content. However, there are no adequate studies in the literature about the effects of it on ototoxicity. Significant effects were observed on the protection of the hearing in the current study. Nevertheless, there is still need for further studies to determine the appropriate dosage range.

Key words: ototoxicity, cisplatin, whortleberry

8. KAYNAKLAR

- 1) Li Y, Womer RB, Silber JH. Predicting cisplatin ototoxicity in children: the influence of age and the cumulative dose. *Eur J Cancer*. 2004;40:2445–2451.
- 2) Sluyter S, Klis SF, de Groot JC, Smoorenburg GF. Alterations in the stria vascularis in relation to cisplatin ototoxicity and recovery. *Hear Res*. 2003;185:49–56.
- 3) Erdem T, Bayindir T, Filiz A, Iraz M, Selimoglu E (2012) The effect of resveratrol on the prevention of cisplatin ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 269(10):2185–2188
- 4) Yumusakhuylyu AC, Yazici M, Sari M, Binnetoglu A, Kosemihal E, Akdas F, Sirvanci S, Yuksel M, Uneri C, Tutkun A. Protective role of resveratrol against cisplatin induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012;76:404–408.
- 5) Laurell G, Bagger-Sjoberg D. Dose-dependent inner ear changes after i.v administration of cisplatin. *J Otolaryngol*. 1991;20:158–167.
- 6) Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003;22:7265–7279.
- 7) Kim HJ, Lee JH, Kim SJ, Oh GS, Moon HD, Kwon KB, Park C, Park BH, Lee HK, Chung SY, Park R, So HS. Roles of NADPH oxidases in cisplatin-induced reactive oxygen species generation and ototoxicity. *J Neurosci*. 2010;30:3933–3946.
- 8) Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Reduction of acute cisplatin ototoxicity and nephrotoxicity in rats by oral administration of allopurinol and ebselen. *Hear Res*. 2005;201:81–89
- 9) Kerr AG, Booth JB. *Scott-Brown's Otolaryngology*. London: Butterworth International Editions. 1987. part 3 (otology). p.465.
- 10) Sakamoto M, Kaga K, Kamio T. Extended high-frequency ototoxicity induced by the first administration of cisplatin. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:828 –33.
- 11) Cooley ME, Davis L, Abrahm J. Cisplatin: a clinical review. Part II–Nursing assessment and management of side effects of cisplatin. *Cancer Nurs* 1994; 17: 283–93.
- 12) Laurell G, Bagger-Sjoberg D. Dose-dependent inner ear changes after i.v. administration of cisplatin. *J Otolaryngol* 1991;20: 158–67.
- 13) Fechter LD, Pouyatos B. *Environ Health Perspect*. 2005 Jul;113(7):A443-4.

- 14) Teranishi MA, Nakashima T. Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2003 Feb;67(2):133-9.
- 15) Fetoni AR, Sergi B, Ferraresi A, Paludetti G, Troiani D. Protective effects of alpha-tocopherol and tiopronin against cisplatin-induced ototoxicity. *Acta Otolaryngol.* 2004 May;124(4):421-6.
- 16) Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *J Agric Food Chem.* 2006;54:4069–4075.
- 17) Ogawa K, Sakakibara H, Iwata R, Ishii T, Sato T, Goda T, Shimo K, Kumazawa S. Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. *J Agric Food Chem.* 2008;56:4457–4462.
- 18) Seeram NP. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem.* 2008;56:627–629.
- 19) Akyıldız N. Kulak Embriyolojisi. *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi.* Cilt 1. Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998, s 3-21
- 20) Akyıldız N. Orta kulak anatomisi. *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi.* Cilt 1. Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998, s 35-49
- 21) Aslan A, Belgin E. Kulak anatomisi ve isitme fizyolojisi. Koç C, editör. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisinde.* Ankara: Güneş Tıp Kitapevi; 2004. p. 45–71
- 22) Austin DF. Kulak anatomisi. In Ballenger JJ, Snow JB, editors. Hafız G. çev. ed. *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi.* stanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. p. 838–57.
- 23) Karasalihoglu AR. *Kulak Burun Bogaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi.* 3. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2003.
- 24) Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. *Otolaryngology Head & Neck Surgery.* 3rd ed. St Louis: Mosby-year Book; 1998. p. 2533–46.
- 25) Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduced cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 2004; 114(3):538-542

- 26)** Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ears. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (Eds). Otolaryngology Head and Neck Vol.1, 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1991. p.23-58.
- 27)** Wright A. Anatomy and ultrastructure of the human ear. In: Keer AG, Gleeson M (Eds). Scott-Brown's Otolaryngology Vol.1, 16th ed. London: Butterworth-Heinemann Publish; 1997; ch 1,1-50.
- 28)** Ömür M, Dadaş B. Klinik baş ve boyun anatomisi. Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996:181-213.
- 29)** Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. Otolaryngology Head & Neck Surgery. 3rd ed. St Louis: Mosby-year Book; 1998. p. 2533–46.
- 30)** Lafreniere D, Smurzynski J, Jung MS, Leonard G, Kim DO. Otoacoustic emissions in full-term newborns at risk for hearing loss. Laryngoscope 1993; 103: 1334-/41.
- 31)** Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi; 1997:466-90.
- 32)** Santi PA, Mancini P. Cochlear anatomy and central auditory pathways. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. Otolaryngology Head & Neck Surgery. 3 rd ed. St. Louis: Mosby-Year Book;1998.p.2803-26.
- 33)** Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. Brain Res Bull 2003;60(5-6):397-422.
- 34)** Donaldson JA. The ear: adult anatomy. In: Surgical Anatomy of the Temporal Bone. Donaldson JA, Duckert LG, Lambert PM, Rubel EW, editors. New York: Raven Pres;1992. p. 143–75.
- 35)** Ickleys OJ. Physiology of the ear. In Wright D, editor. Scott-Brown's Otolaryngology. 5th edition London: Butterworths – Heinemann; 1998. p. 47–80.
- 36)** Donaldson JA, Duckert L. Anatomy of the Ear. In Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL, editors. Otolaryngology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1991. p. 23–58.

- 37)** Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schüller DE. 3th ed. Mosby Year Book, St. Louise, 1998. Vol 4. Anatomy of the Skull Base, Temporal Bone, External Ear and Middle Ear. 2533-2546
- 38)** Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schüller DE. 3th ed. Mosby Year Book, St. Louise, 1998. Vol 4. Physiology of the Auditory System. 2831-2875
- 39)** De Graaf TW, De Jong S, De Vries EGE, et al. Expression of proteins correlated with the unique cisplatin-sensitivity of testicular cancer. *Anticancer Res* 1997;17: 369–76.
- 40)** Koç C: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi.İkinci baskı, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2013, s.193-201.
- 41)** Kathleen C. M., Odyoloji..Lee K.J. editor. Önerji M., Korkmaz H. Çev. Editörü.Essential Otolaryngology Baş ve Boyun Cerrahisi, 9. baskı. Güneş Tıp Kitabevi 2012. s 24 - 69.
- 42)** Bluestone CD. Physiology of the Middle Ear and Eustachian Tube. n Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhpff WL, editors. *Otolaryngology*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1991. p. 163–97.
- 43)** Brenda L, Lonsbury-Martin, Martin GK, Luebke AE. sitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. In Ballenger JJ, Snow JB, editors. Senocak D, çev. ed. *Otolaringoloji Baş Boyun cerrahisi*. 15. baskı. stanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996. p. 879–929
- 44)** Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1986
- 45)** Abbas PJ, Miller CA, Physiology of the auditory system. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. *Otolaryngology Head & Neck Surgery*. 3 rd ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1998.p. 2831–74.
- 46)** Sluyter S, Klis SF, de Groot JC, Smoorenburg GF (2003) Alterations in the stria ascularisin relation to cisplatin ototoxicity and recovery. *Hear Res* 185:49–56
- 47)**Erdem T, Bayindir T, Filiz A, Iraz M, Selimoglu E (2012) The effect of resveratrol on the prevention of cisplatin ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 269(10):2185–2188

- 48)** Burdulis D, Sarkinas A, Jasutienė I et al: Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Acta Pol Pharm*, 2009; 66(4): 399–408
- 49)** Watanabe, S.; Tajima, Y.; Yamaguchi, T.; Fukui, T. Potassium Bromate-Induced Hyperuricemia Stimulates Acute Kidney Damage and Oxidative Stress. *J. Health Sci.* 2004, 50, 647–653.
- 50)** Latti AK, Riihinen KR, Kainulainen PS (2008) Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland. *J Agric Food Chem* 56:190–196
- 51)** Riggs LC, Matz GJ, rybak RP. Ototoxicity. In: Bailey BJ, Calhoun KH, eds. *Head and Neck Surgery- Otolaryngology* 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 2165-70.
- 52)** Scott PMJ, Griffiths MV. A clinical review of ototoxicity. *Clin Otolaryngol* 1994; 19:38.
- 53)** Ömür M, Dadaş B. *Klinik baş ve Boyun Anatomisi Cilt 1*, İstanbul: Ulusal tıp Kitabevi. 1996; 181-213
- 54)** Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. *Otolaryngology Clin N Am* 1993; 26(5):857-71
- 55)** Wackym PA, Storper IS, Newman AN. Cochlear and vestibular ototoxicity. In: Canalis RP, Lampert PR, eds. *The Ear Comprehensive otology*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000; 571-85.
- 56)** Horner KC, Lenoir M, Bock GR. Distortion Product Otoacoustic Emissions in Hearing-Impaired Mutant Mice. *Journal of Acoustic Society of America*. 1985; 78: 1603-1611
- 57)** Lonsbury-Martin BL. Introduction to Otoacoustic Emissions. *American Journal of Otology*. 1994; 15: Suppl 1:1-3
- 58)** Nakamura M., Yamasoba T., Kaga K. Changes in Otoacoustic Emissions in Patient with Idiopathic Sudden Deafness. *Audiology* 1997; 36:121-135
- 59)** Özturan O, Lew H, Jerger J. Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. *KBB ihtisas Dergisi* 1994; 2: 194–205.

- 60)** Martin GK, Probst R, Lonsbury-Martin BL. Otoacoustic emissions in human ears: Normative findings. *Ear Hear* 1990;11: 106–20.
- 61)** Kemp DT. Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms. *Hear Res* 1986; 22: 95–104.
- 62)** Stenklev NC, Laukli E: Transient evoked otoacoustic emissions in the elderly. *Int. J. Audiology* 2003; 4: 87-94.
- 63)** Mazelova J, Popelar J, Syka J: Auditory function in presbycusis: peripheral vs central changes. *Exp Gerontol* 2003; 38: 87-94.
- 64)** Lonsbury-Martin BL, Whitehead ML, Henley CM. Differential Effects of Sodium Salicylate on the Distinct Classes of otoacoustic Emissions in Rabbit and in Monkey. *Ass. Res. Otolaryngol. Abst.* 1991; 14: 67
- 65)** Martin GK, Lonsbury-Martin BL, Probst R. Spontaneous Otoacoustic Emissions in a Non-Human Primate. I. Basic Features and Relations to other Emissions. *Hear. Res.* 1988; 33: 49-68
- 66)** Lonsbury-Martin BL, Harris FP, Stagner BB, Hawkins MD, Martin GK. Distortion Product Otoacoustic Emissions in Humans. I. Basis Properties in Normally Hearing subjects. *Ann Otol. Rhinol. Laryngol.* 1990; Suppl 147: 3-13
- 67)** Harris FP, Lonsbury-Martin BL, Stegner BB, Coats AC, Martin GK. Acoustic Distortion Products in Humans: Systemic Changes in Amplitudes as a Function of f₂/f₁ Ratio. *Journal of Acoustic Society of America.* 1989; 85: 22
- 68)** Brown AM, McDowell B, Forge A. Acoustic Distortion Products can be Used to Monitor the Effects of Chronic Gentamycin Treatment. *Hear. Res.* 1989; 42:143-156
- 69)** Mazelova J, Popelar J, Syka J: Auditory Function in Presbycusis: Peripheral vs Central Changes. *Exp Gerontol* 2003, 38:87-94
- 70)** Schloth E, Zwicker E. Mechanical and Acoustical Influences on Spontaneous Otoacoustic Emissions. *Hear Res.* 1983; 11: 285-295
- 71)** Henley CM, Owings MH, Stagner BB, Martin GK. Postnatal Development of the Ear. *Hear Res.* 1989; 43:141-148

- 72)** Carolyn J. Brown: İşitmenin Elektrofizyolojik Olarak Belirlenmesi, In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. Koç C, Çev. Editörü. Cummings Otolaringoloji Bas ve Boyun Cerrahisi, 4. baskı. Günes Tıp Kitapevi, 2007. s 3466-151.
- 73)** Fabiani M. Evoked Otoacoustic Emissions in the study of adult sensorineural hearing loss. Br J Audiol 1993; 27: 131–37.
- 74)** Lonsbory-Martin BL, Martin G. A review of otoacoustic emissions. J Acoust Soc Am 1991; 89: 2027–67.
- 75)** Chang KW, Vohr BR, Norton SJ, Lekas MD. External and middle ear status related to evoked otoacoustic emission in neonates. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1993;119: 276–283
- 76)** Doyle KJ, Rodgers P, Fujikawa S, Newman E. External and middle ear effects on infant hearing screening test results. Otolaryngol Head and Neck Surg 2000; 122: 477–81.
- 77)** Teranishi MA, Nakashima T. Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2003 Feb;67(2):133-9.
- 78)** Daldal A, Odabasi O, Serbetcioglu B. The protective effect of intratympanic dexamethasone on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. Otolaryngol Head Neck Surg. 2007 Nov;137(5):747-52.
- 79)** Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin induced ototoxicity and prevention. Hear Res. 2007 Apr;226(1-2):157-67.
- 80)** Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. Int J Audiol. 2004 Sep;43(8):465-70.
- 81)** van den Berg JH, Beijnen JH, Balm AJ, Schellens JH. Future opportunities in preventing cisplatin induced ototoxicity. Cancer Treat Rev. 2006 Aug;32(5):390-7.
- 82)** Rahman MM, Ichiyanagi T, Komiyama T, Sato S, Konishi T. Effects of anthocyanins on psychological stress-induced oxidative stress and neurotransmitter status. J Agric Food Chem. 2008;56:7545–7550.

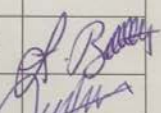
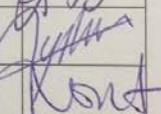
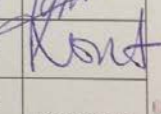
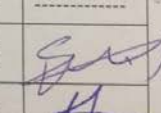
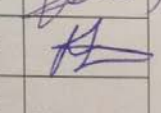
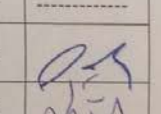
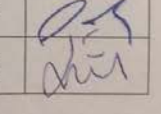
- 83)** Sparrow, J. R.; Vollmer-Snarr, H. R.; Zhou, J. L.; Jang, Y. P.; Jockusch, S.; Itagaki, Y.; Nakanishi, K. A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. *Biol. Chem.* 2003, 20, 18207–18213.
- 84)** Hinojosa R, Riggs LC, Strauss M, Matz GJ. Temporal bone histopathology of cisplatin ototoxicity. *Am J Otol* 1995;16: 731–40.
- 85)** Erel, O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37:112-119.
- 86)** Erel, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-1111.
- 87)** Huang X, Whitworth C, Rybak LP. Ginkgo Biloba Extract (Egb 761) Protects Against Cisplatin-Induced Ototoxicity in Rats. *Otology Nuerotology* 2007; 28(6): 828–833.
- 88)** Wang J, Lloyd Faulconbridge RV, Fetoni A, et al. Local application of sodium thiosulfate prevents cisplatin-induced hearing loss in the guinea pig. *Neuropharmacology.* 2003;45: 380–93.
- 89)** Li W, Xu B, Xu J, Wu XL: Procyanidins produce significant attenuation of doxorubicin-induced cardiotoxicity via suppression of oxidative stress. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2009; 104: 192–97
- 90)** Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Am J Otol* 2000;21: 513–20.
- 91)** Öztürk, Aziz, et al. "Guinea piglerde cisplatin ve cisplatin- gentamisin kombinasyonunun ototoksik etkilerinin histopatolojik olarak araştırılması." *Journal of Turgut Ozal Medical Center* 5.3 (1998): 110-113.
- 92)** Kapusuz, Zeliha, et al. "Protective role of bilberry extract against Cisplatin induced ototoxicity in rats." *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery* 65.4 (2013): 339-344.

9. ETİK KURUL (EK -1)

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):		
	ÇALIŞMANIN ADI	Çay özümü ekstresinin ratlarda cisplatin ototoksitesisi üzerine koruyucu etkisi	
	Title	Protective Role of Whortleberry Extract Against Cisplatin Induced Ototoxicity in Rats	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Yrd.Doç. Dr. Abdulkadir ÖZGÜR	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Levent TÜMKAYA, Doğan ÖZDEMİR	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Ulusal

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2015/ 13	Tarih (Date): 25.03.2015
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Yrd.Doç. Dr. Abdulkadir ÖZGÜR 'ün sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.	
	<input checked="" type="checkbox"/> Accepted	<input type="checkbox"/> Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Fikri BALTA (BAŞKAN)	Su Ürünleri	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Adnan YILMAZ (Başkan Vekili)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Levent TÜMKAYA (Üye)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H
Yrd. Doç. Dr. Saliha EKŞİ (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hatice SEVİM(Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Nihal ÇETİN (Üye)	Tıbbi Farmakoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H
Barış KARA (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sağlık Sen	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Eylem RAKICI EKŞİOĞLU (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

*Araştırma ile ilişki(Relation to the project, E: Yes, H: No)
**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)

