

T. C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE OLEUROPEİN KULLANIMININ
PROTEKTİF ETKİNLİĞİ**

Dr. Mustafa ÇELİK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. Selman SARICA

KAHRAMANMARAŞ - 2016

T. C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE OLEUROPEİN KULLANIMININ
PROTEKTİF ETKİNLİĞİ**

Dr. Mustafa ÇELİK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. Selman SARICA

KAHRAMANMARAŞ - 2016

TEŐEKKÜR

İhtisasım süresince engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, anlayışı ve deneyimi ile eğitimimi yönlendiren, iyi bir hekim olarak yetişmem için gayret sarf eden değerli hocam Sayın Doç. Dr. İsrail ORHAN 'a,

Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik anlamda yetişmemde bana her türlü desteği sağlayan, tezimin danışmanlığını yapan Sayın Yard. Doç. Dr. Selman SARICA 'ya,

Asistanlığım süresince her aşamada her türlü destek, ilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. M. Akif KILIÇ, Sayın Yard. Doç. Dr. Nagihan BİLAL ve Sayın Yard. Doç. Dr. Saime SAĞIROĞLU'na,

Tezime katkılarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Abdulkadir Yasir BAHAR'a,

Eğitimim süresince acı tatlı birçok günü beraber paylaştığım asistan arkadaşlarım Dr. Ali Okur ve Dr. Abdullah ARSLAN 'a,

Her zaman desteklerini hissettiğim, hiçbir zaman emeklerini ve fedakarlıklarını ödeyemeyeceğim anneme, babama ve çok değerli kardeşlerime,

En sıkıntılı zamanlarımda bana karşı daima anlayışlı olan, yanımda olmadığı zamanlarda bile varlığını ve desteğini her zaman hissettiğim biricik eşim Dr. Elif ÇELİK'e

En içten teşekkürlerimi sunarım.

K.S.Ü TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Arş. Gör. Dr. Mustafa ÇELİK tarafından hazırlanan "Ratlarda Cisplatin Ototoksitesinde Oleuropein Kullanımının Protektif Etkinliği" adlı bu tezin Tıpta Uzmanlık tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yard. Doç. Dr. Selman SARICA
Danışman

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık tezi olarak/.../2016 tarihinde kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. İsmail ORHAN.....

Üye : Yard. Doç. Dr. Selman SARICA

Üye : Doç. Dr. Elif BAYSAL.....

Üye : Yard. Doç. Dr. Nagihan BİLAL

Üye : Yard. Doç. Dr. Saime SAĞIROĞLU.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Tarih : . . / . . / 2016

DEKAN

Prof. Dr. Tufan MERT

Bu tez, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi tez yazım ve basım yönergesine uygundur.

RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE OLEUROPEİN KULLANIMININ PROTEKTİF ETKİNLİĞİ

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. Mustafa ÇELİK

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
EYLÜL-2016

ÖZET

Çalışmamız, cisplatine bağlı olarak gelişen ototoksiteden korunmada oleuropein kullanımının etkinliğini fizyolojik ve histopatolojik olarak ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamızda ratlar 8'erli 3 gruba ayrıldı ve tüm ratların her iki kulağındaki işitmesinin normal olduğu ilaç uygulama öncesinde tespit edildi. Birinci gruba, sadece intraperitoneal 1 ml/gün salin verildi. İkinci gruba, günde bir defa olmak üzere iki gün intraperitoneal 8 mg/kg cisplatin verildi. Üçüncü gruba, günde bir defa olmak üzere iki gün intraperitoneal 8 mg/kg cisplatin ve gavaj yoluyla 15 gün 50 mg/kg/gün oleuropein verildi. Tüm ratlarda ilaç uygulaması öncesi ve 15. gün DPOAE ölçümleri yapılmıştır. Otoakustik emisyon sonuçları 2221, 4422, 6244, 8844, 12503, 17672, 24990, 35344 Hz frekanslarında kaydedilmiştir. 15. gün sonunda ratların kokleaları diseke edilip ışık mikroskopisi ile değerlendirilmiştir.

Cisplatin ve oleuropein grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 15. gün ölçümlerinde tüm frekanslarda her iki grupta da anlamlı düşme saptanmıştır ($p<0,05$). Ancak oleuropein grubu cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün 6244, 12503, 17672, 24990, 35344 Hz frekanslarında oleuropein grubu sonuçları cisplatin grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Dış tüy hücre, stria vaskularis ve spiral ganglion histopatolojik skorlamasının istatistiksel analizinde cisplatin ve oleuropein skorları kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Cisplatin skoru oleuropein skoruna göre anlamlı yüksek izlenmiştir ($p<0,05$).

Literatür gözden geçirildiğinde, bu çalışmanın, cisplatinin ototoksik etkisinden korunmada oleuropein kullanımını yüksek frekans otoakustik emisyon ve histopatoloji ile değerlendiren ilk çalışma olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, cisplatin kullanımına bağlı gelişen ototoksitenin önlenmesinde oleuropein kullanılmasının fizyolojik ve histopatolojik bulgular doğrultusunda koruyucu etkinliğinin olduğunu ileri sürebiliriz. Ancak ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler : Cisplatin, Oleuropein, Ototoksosite

Sayfa Adedi : 51

Danışman : Yard. Doç. Dr. Selman SARICA

**PROTECTIVE EFFECT OF OLEUROPEIN AGAINST CISPLATIN OTOTOXICITY
IN RATS**

SPECIALIZATION THESIS

MD. Mustafa CELIK

KAHRAMANMARAŞ SUTCU IMAM UNIVERSITY

FACULTY OF MEDICINE

September -2016

ABSTRACT

Our study has been carried out to demonstrate the effectiveness of the use of oleuropein for the prevention of cisplatin ototoxicity both physiologically and histopathologically.

In our study, the rats were divided into 3 groups of 8 rats each. All rats were found to have normal hearing in both ears before administering medication. First group of rats were given only 1ml/day of saline. In the second group, 8 mg/kg of cisplatin was applied once a day for two consecutive days intraperitoneally. In the third group, 50mg/kg oleuropein was administered by gavage once daily for 15 days and 8 mg/kg of cisplatin was applied once a day for two days intraperitoneally. DPOAE was measured in all rats before any drug administration and on day 15 of the study. Outcomes for otoacoustic emission screening were recorded at 2221, 4422, 6244, 8844, 12 503, 17 672, 24 990, 35 344 Hz. Cochleas of the rats were dissected and then evaluated by the light microscopy at the end of the 15.day.

When groups of cisplatin and oleuropein compared to the control group, a significant decrease was observed in both groups at all frequencies in 15th day of measurement($p < 0.05$). However, when the cisplatin group compared with the oleuropein group, results of the oleuropein group were significantly higher than the results of the cisplatin group at 6244, 12 503, 17 672, 24 990, 35 344 Hz in frequency in 15th day ($p < 0.05$). Statistical analysis of

histopathological scores of outer hair cells, stria vascularis and spiral ganglion; cisplatin and oleuropein scores were significantly higher than the control group ($p < 0.05$). The cisplatin scores were observed a significantly higher than the oleuropein scores ($p < 0.05$).

After review of the literature, this study seems to be the first study to evaluate the protection of ototoxic effects of cisplatin by using high frequency otoacoustic emissions and histopathology. As a result, we may suggest that the oleuropein has a protective efficacy for preventing of ototoxicity induced by cisplatin in accordance with physiological and pathological findings. However, further experimental and clinical studies are needed to support these findings.

Key Words : Cisplatin, Oleuropein, Ototoxicity

Page Number : 51

Advisor : Ass. Prof. Dr. Selman SARICA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL ve ONAY	I
ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kulak.....	2
2.1.1. Kulak Anatomisi.....	2
2.1.2. İşitme Fizyolojisi.....	7
2.2. Ototoksisite.....	9
2.2.1. Ototoksisiteye Genel Bakış.....	9
2.2.2. Cisplatin Ototoksisitesi.....	11
2.2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri.....	13
2.3. Otoakustik Emisyonlar.....	15
2.3.1. Spontan Otoakustik Emisyonlar.....	15
2.3.2. Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar.....	16
2.4. Oleuropein.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	19
3.1. DPOAE	19
3.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	20
3.3. İstatiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. DPOAE Sonuçları.....	22
4.1.1. Kontrol Grubu.....	22
4.1.2. Cisplatin Grubu.....	22
4.1.3. Oleuropein Grubu	24
4.2. Histopatolojik Sonuçlar.....	25

5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR.....	41
7. KAYNAKLAR.....	42
8. ÖZGEÇMİŞ.....	51



SİMGELER VE KISALTMALAR

ABR	: İşitsel uyarılmış potansiyeller
Ca ⁺²	: Kalsiyum
CP	: Cis-diaminedichloroplatinium (cisplatin)
dB	: Desibel
DKY	: Dış kulak yolu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPOAE	: Distortion product-evoked otoacoustic emission
DTH	: Dış tüy hücre
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
HO ₂ ⁻	: Hidroperoksil
HFA	: Yüksek frekans odyometri
Hz	: Hertz
İM	: İntramusküler
İP	: İntraperitoneal
İTH	: İç tüy hücre
K ⁺	: Potasyum
MDA	: Malonildialdehit
Ms	: Milisaniye
NAC	: N-asetil sistein
NO	: Nitrikoksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit
OH ⁻	: Hidroksil
OAE	: Otoakustik emisyon

PTO	: Saf ses odyometrisi
SFOAE	: Stimulus frekans otoakustik emisyon
SG	: Spiral ganglion
SNIK	: Sensörinöral işitme kaybı
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPL	: Ses basınç düzeyi
SV	: Stria vaskularis
TEOAE	: Geçici uyarılmış otoakustik emisyon
TM	: Timpanik membran



Şekil 1. Koklea kesiti.....	5
Şekil 2. Korti organı.....	7
Şekil 3. Oleuropein moleküler formülü.....	17
Şekil 4. Cisplatin grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması.....	23
Şekil 5. Oleuropein grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması.....	25
Şekil 6. CP ve Oleuropein grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması.....	26
Şekil 7. Işık mikroskopisinde koklea kesiti.....	26
Şekil 8. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait DTH skor 0.....	26
Şekil 9. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait DTH skor 2.....	27
Şekil 10. Işık mikroskopisinde oleuropein grubuna ait DTH skor 1.....	27
Şekil 11. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 0.....	28
Şekil 12. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 1.....	29
Şekil 13. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SV skor 3.....	29
Şekil 14. Işık mikroskopisinde oleuropein grubuna ait SV skor 2.....	30
Şekil 15. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SG skor 0.....	31
Şekil 16. Işık mikroskopisinde oleuropein grubuna ait SG skor 1.....	31
Şekil 17. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SG skor 2.....	32
Şekil 18. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SG skor 3.....	32

Tablo 1. Ototoksik etki gösteren ajanlar.....	10
Tablo 2. Kontrol grubu DPOAE değerleri.....	22
Tablo 3. Cisplatin grubu DPOAE değerleri.....	23
Tablo 4. Oleuropein grubu DPOAE değerleri.....	24
Tablo 5. Cisplatin ototoksitesisi histopatolojik sonuçları.....	33



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Cisplatin başlıca baş boyun kanserleri, ürogenital sistem kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, osteosarkom, özofagus kanserleri olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde sık kullanılan alkilleyici antineoplastik bir ajandır.

Cisplatinin ototoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite, gastrointestinal toksisite, kemik iliği toksisitesi ve periferik nöropati gibi ciddi yan etkileri mevcuttur. Cisplatinin ototoksik etkisi irreversible, progresif, sıklıkla doz bağımlı, bilateral yüksek frekanslarda sensorinöral işitme kaybı ile karakterizedir. Bu ototoksik etki doz sınırlayıcı major yan etkilerden birisi olarak kabul edilmektedir (1). Nefrotoksisite ve diğer yan etkilerini azaltmak için bazı yöntemler mevcut olup ototoksisite için rutin kullanıma girmiş etkili bir yöntem yoktur (2).

Cisplatin doğrudan DNA hasarı ve reaktif oksijen radikalleri oluşturup tümör hücrelerinde apoptozisi tetiklemektedir. Bunun sonucu olarak histolojik çalışmalarda dış tüylü hücrelerde, stria vaskülariste spiral ligamentte ve spiral ganglionda hücre kayıpları gösterilmiştir (3; 4). Cisplatin maruziyet sonrası antioksidan enzimlerin aktivitesinde değişimler olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, çeşitli radikal temizleyiciler ve antioksidanların işitme kaybına karşı in vivo koruyucu etki gösterdiği deneysel olarak gösterilmiştir (5).

Oleuropein glutatyon sistemini kullanarak antioksidan savunma mekanizmalarına pozitif yönde etki eder. Süperoksit ve hidroksil radikallerine karşı temizleyici olarak rolü vardır. Oral yolla verilen oleuropein mide ve jejunumdan emilir. Verildikten iki saat sonra plazmada maksimum konsantrasyona ulaşır. En önemli metaboliti hidroksitirozoldür ve idrardan glukoronid metaboliti olarak atılır (6).

Bu çalışmamızda ratlarda, cisplatinin ototoksik etkilerine karşı antioksidan ve nöroprotektif bir ajan olan oleuropeinin etkinliğininin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kulak

2.1.1.Kulak anatomisi

İşitme ve dengenin periferik organı olan kulak, fonksiyon ve yapısal özellikleri açısından dış kulak, orta kulak ve iç kulak olarak birbirinden farklı 3 kısımdan oluşur.

2.1.1.1. Dış kulak

Kulak kepçesi ve dış kulak yolu olmak üzere iki kısma ayrılarak incelenir. Kulak kepçesi; deri ve perikondrium ile örtülü ince elastik bir kıkırdaktan oluşur. Kanlanması arteria temporalis superficialis ve arteria occipitalis posterior ile sağlanır. Venöz drenajı ise aynı isim taşıyan venler aracılığıyla olur. Sensorial inervasyonu, V. ve VII. kafa çiftleri ile birlikte C2 ve C3 servikal sinirlerin duysal dalları tarafından sağlanmaktadır.

Dış kulak yolu(DKY) kavum konkadan timpanik membran(TM) dış yüzüne kadar olan bölüm olup hafif "S" şeklinde oblik yerleşimlidir. Dış kulak yolunun arka üst duvarı 25 mm iken ön alt duvarı 35 mm uzunluğundadır (7). Dış kulak yolunun 1/3 dış bölümü kıkırdaktan, 2/3 iç bölümü ise kemik yapıdan meydana gelmiştir. Kıkırdak bölümde cilt altı yağ dokusu kalındır. Bu bölgede ter, yağ ve serümen bezleri ile kıl folikülleri bulunmaktadır. Kemik bölümde ise cilt altı yağ dokusu giderek azalır ve TM yakınlarında cilt periosta yapışıktır (8).

2.1.1.2. Orta kulak

Kulak zarı ile kemik labirent arasında bulunan ve müköz membranla örtülü bir boşluktur. Vertikal ve anteroposterior uzunluğu 15 mm, mediolateral derinliği üstte 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm'dir (9). Orta kulak boşluğunun yaklaşık 2 cc hacmi vardır (10). Orta kulak boşluğu kulak zarına göre mezotimpanum, epitimpanum ve hipotimpanum olarak üç kısma ayrılır. Kulak zarı düzeyine uyan bölge mezotimpanum, kulak zarı superiorundaki bölge epitimpanum ve kulak zarının inferioruna uyan bölge hipotimpanum olarak isimlendirilir. Orta kulak boşluğu önde östaki tüpü yoluyla nazofarenks ile, arkada aditus ad antrum yoluyla mastoid kavite ile ilişkilidir. Orta kulak boşluğunun 6 duvarı vardır.

1. Dış duvar: Dış duvarı kulak zarı ve temporal kemiğin skuamöz parçası oluşturur. Kulak zarının vertikal çapı 9-10 mm, horizontal çapı 8-9 mm ve kalınlığı 0.1 mm'dir (10). Eliptik ve oblik yerleşimli yarı saydam bu zarın dış yüzünü DKY cilt epiteli, orta bölümünü fibröz tabaka, iç yüzünü orta kulak mukozası meydana getirmektedir (8).

2. İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayırır. Kokleanın birinci turuna uyan orta kulak boşluğuna doğru yaptığı kabarıntı promontoryum olarak adlandırılır. Promontoryum arka-alt kısmındaki yuvarlak pencere ve arka üst kısmındaki oval pencere orta kulak ile iç kulak bağlantısını oluşturur. Oval pencere üzerine stapes tabanı oturur ve anuler ligman ile çevrilidir. Oval pencerenin üst kısmında fasiyal sinirin timpanik segmentinin geçtiği fallop kanalı ve bu yapının da üstünde lateral semisirküler kanalın belirginliği göze çarpmaktadır. Promontoryum ön üst tarafında tensör timpani kasının tutunduğu *processus kokleariformis* vardır. *Eminensia pyramidarum* promontoryumun ve oval pencerenin arkasında olup içerisinde m.stapedius yer alır (8; 10).
3. Üst duvar: Epitimpanium bölümünün tavanını oluşturur. İnce kemik yapı olan tegmen timpani ile orta kafa çukurundan ayrılır.
4. Alt duvar: Hipotimpanium bölümünün tabanını oluşturur ve bulbus vena jugulare ile komşudur.
5. Ön duvar: Üst kısımda tensör timpani kasının yarı açık kanalı bulunur. Alt kısımda ise östaki tüpünün timpanik ağzı yer alır. En alt bölümde *Canalis caroticus* vertikal parçası komşudur.
6. Arka duvar: Orta kulak ile antrumu birbirine bağlayan aditus ad antrum arka duvarın üst kısmındadır. Bu duvarda yer alan piramidal çıkıntı (*Eminentia pyramidarum*) stapedius kasının tendonunun tutunduğu çıkıntıdır. Korda timpani bu yapının altında orta kulağa girer. Arka duvarda bulunan fasiyal sinirin timpanik segmentinin üzerindeki girintiye fasiyal reses adı verilir. Sinüs timpani piramidal çıkıntının altında yer alan, oval ve yuvarlak pencerelerin arkasında fasiyal sinir kanalına doğru uzanan bir girintidir (10).

2.1.1.3. İç kulak

Temporal kemiğin petröz parçasında yer alan iç kulakta, denge ve işitme ile ilgili reseptörler bulunur (8). Yuvarlak ve oval pencereler yolu ile orta kulakla, koklear ve vestibüler aquaduktus yolu ile intrakraniyal yapılarla bağlantı halindedir (8; 10). Morfolojik olarak iç kulak kemik(periotik) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki bölümden meydana gelir (11; 12).

Kemik labirent

Kemik labirenti koklea, kemik semisirküler kanallar ve vestibulum oluşturmaktadır.

Koklea, merkezde eksenini oluşturan modiolus adı verilen kemik yapı etrafında 2.5-2.75 tur yapan kanaldır. Modiolus spiral şekilde bir yapı olduğundan içindeki ince osseöz kanallara spiral kanal adı verilir. Sekizinci kranial sinirin auditor parçasının lifleri ve koklear

damarlar modiolus içinde taşınır ve spiral kanallardan ilerleyerek tüylü hücrelerdeki sonlanma noktalarına ulaşırlar. İşitmenin birinci nöronu olan spiral gangliyon burada yer almaktadır.

Kemik semisirküler kanallar süperior, horizontal ve posterior olmak üzere üçe ayrılırlar. Her biri kendi arasında 90 derecelik açı olacak şekilde üç ayrı uzaysal düzleme yerleşen semisirküler kanallar vestibulumu açılır. Vestibulum yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid bir boşluktur. Dış yan duvarda yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla timpanik kavite ile bağlantılıdır. İç yan duvarda yer alan recessus sphericus içerisinde sacculus, recessus elipticus içerisinde utriculus bulunmaktadır. Vestibulumun ön-alt kısmında kokleaya komşudur (13; 14; 15).

Membranöz labirent

Membranöz labirenti korti organı, membranöz semisirküler kanallar, utrikulus, sakkulus ve endolenfatik kanal oluşturmaktadır.

Korti organı organum spirale olarak da adlandırılır. Bu yapı ductus koklearisin içinde ve lamina bazillarisin üstünde yer alır. Kemik semisirküler kanalların içerisinde bulunan membranöz semisirküler kanalların kalınlığı, kemik semisirküler kanalların yaklaşık 1/5'i kadardır. Kalan 4/5'lik bölüm ise perilenf ile doludur. Membranöz labirent horizontal ve süperior semisirküler kanalların ön deliği ile posterior kanalın alt deliğinin civarında genişleyerek ampullayı oluşturur. Membranöz kanalların ampullalarında yer alan krista ampullariste duyu epiteli bulunur.

Utrikulus vestibulumun medial duvarında bulunan recessus elipticusta yer alır. İç duvarında makula adı verilen özelleşmiş bölümde denge ile ilgili uyarıları alan duyu epiteli yer alır. Semisirküler kanallardaki sıvı akımı için depo görevi görür. Makula utrikulun tabanında yatay düzlemde konumlandığı için yatay hareketleri algılar (16).

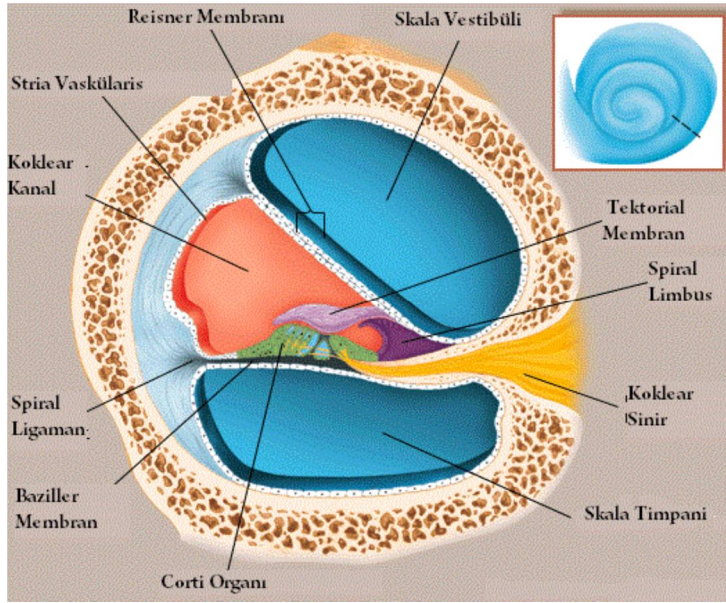
Sakkulus vestibulum medial duvarında bulunan recessus sphericusta yer alır. Tıpkı utriculusta olduğu gibi sacculusun iç yan duvarında da makula adı verilen, dengeyle ilgili uyarıları alan özelleşmiş duyu epiteli yer alır. Ancak sakkulusun makulası utrikulustaki gibi yatay değil, dikey konumda yerleşmiştir. Makulalar yer çekimi ve lineer hareketlere duyarlıdır (16; 17).

Duktus utrikularis ile duktus sakkularis birleşerek duktus endolenfatikus meydana getirir. Duktus endolenfatikus, akuaduktus vestibüli içerisinde ilerleyerek endolenfatik keseye bağlanmaktadır (17).

İşitme organı koklea

Koklea, iç kulağın ön kısmında bulunan, salyangoz biçimindeki kemik bir kanaldır. Ortasında koni şeklinde kemik yapıda modiolus yer alır. Modiolus kokleanın eksenini oluştur

ve etrafında ductus koklearis sarılı şekildedir. Yaklaşık 35 mm uzunluğundaki ductus koklearis, modiulus çevresinde 2,75 tur yapar. Bu şekilde oluşan turlar apikal, medial ve basal tur olarak isimlendirilir. Kokleanın ortasından dikey bir kesit alındığı düşünülürse ise, modiolustan bir kemik lamina kanalın içine doğru uzanır.(lamina spiralis ossea). Kemik lamina kanalın iç yan duvarından yarısına kadar olup serbest kenar olarak sonlanmaktadır. Kemik laminanın bittiği yerden karşı duvara kemiğin periostu fibröz bir tabaka ile devam eder ve kanalı iki parçaya böler. Bu fibröz tabaka baziller membran olarak isimlendirilir (18).



Şekil 1: Koklea kesiti

Baziller membranın üzerinde kalan bölüme scala vestibuli, altta kalan kısma scala timpani denir. Skala vestibuli, oval pencere seviyesinden başlayıp koklea apeksine kadar uzanmaktadır. Skala timpani ise bazaldedir ve ince bir membranla örtülü olan yuvarlak pencere ile sonlanır. Apikal turda scala vestibuli ve scala timpani helikotrema denilen delikle birleşir. Scala vestibuli ve scala timpani perilenf adı verilen bir sıvı içerir. Skala timpani kemiksi bir kanal olan akuaduktus koklea vasıtasıyla subaraknoid boşluk ile ilişkilidir. Perilenf ile beyin omurilik sıvısı arasında madde geçişi bu kanal ile olur (19).

Baziller membran karşı tarafa yapışırken bir kalınlaşma yapar buna *ligamentum spiralis ossea* denir. Bu ligamanın üstünden ince bir zar tabakası ayrılır. Kanalın ortasına doğru inerek kemik lamina ile birleşen bu zara Reissner membranı adı verilir. Reissner membranı koklea kesitlerinde üçgen şeklinde görülen ductus koklearisi meydana getirir (18).

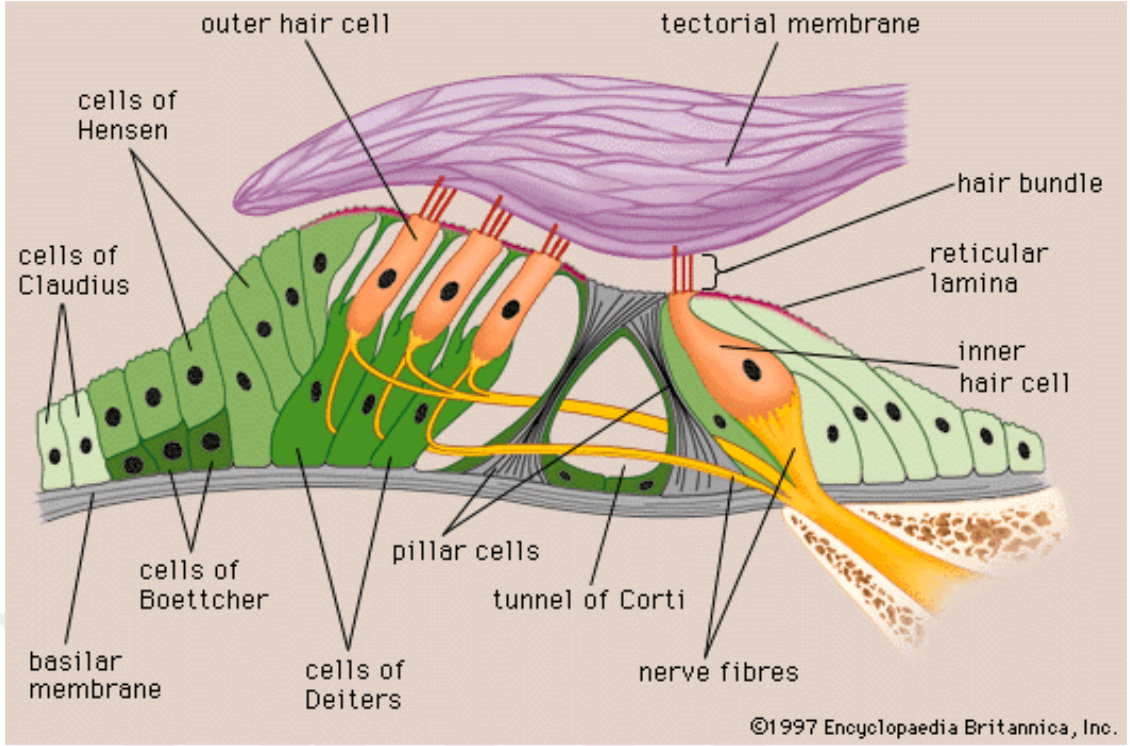
Ductus koklearisin içinde endolenf vardır. Endolenf potasyum iyonundan zengin sodyum iyonundan fakirdir buna karşın perilenf sodyum iyonundan zengin potasyum iyonundan fakirdir. Endolenf ve perilenf arasında, Reissner membranı aracılığıyla iyon ve metabolit alışverişi mevcuttur. Kokleanın metabolizmasında endolenf ve perilenf önemli yer tutar (18).

Kokleada baziller membran üzerinde nörosensöriyel (sensöriyel) hücreler bulunmaktadır. Bu bölüm Korti organı olarak isimlendirilir.. Korti organı mekanik titreşimleri sinir liflerini uyaran elektriksel uyarılara çevirir.

Baziller membran üzerinde iç tüylü hücreler ve dış tüylü hücreler olmak üzere iki farklı duyuşal hücre vardır. İç tüylü hücreler ve dış tüylü hücreler arasında tünel biçiminde bir boşluk (Corti tüneli) vardır. Bu tünelin dış kısmında dış tüylü hücreler ve iç kısmında iç tüylü hücreler bulunur (18). İç kulaktaki tüylü hücre sayısı toplamda 16000 ile 20000 arasındadır . İç tüylü hücreler tek sıralıdır ve sayıları yaklaşık 5000 civarındadır. Dış tüylü hücreler ise 3-4 sıralı olarak yerleşim gösterirler (18). Dış tüylü ve iç tüylü hücrelerin apikal kısmında aktin içeren sterosilyalar bulunmaktadır. Bazalden apikale doğru gidildikçe sterosilyaların uzunlukları artmaktadır (20). Dış tüylü hücrelerin her birisinde altı veya yedi dizi sterosilya bulunur. Bu sterosilyalardan en uzununu tektoriyal membranın alt ucuyla bağlantılıdır. İç tüylü hücreler afferent sistem ile, dış tüylü hücreler ise efferent sistem ile ilişkilidir (16). Duyusal hücrelerin altında dieters, cladius, hensen adı verilen destek hücreleri bulunmaktadır (18).

Sensörinöral hücrelerin her birinin alt yüzünden çıkan sinir fibrilleri kümeler oluşturarak, spiral kanal aracılığıyla modiolusta bulunan işitme ganglionunda sonlanırlar. Bu ganglionu spiral ganglion adı verilir (1. nöron). Spiral gangliondan çıkan sinir lifleri n. koklearisi oluşturmaktadır. N. koklearis içindeki sinir liflerinin büyük bir kısmı afferent fibriller taşır. N. koklearis internal akustik kanalda n. vestibularis ile birlikte 8. kranial sinir olan n.vestibulokoklearisi oluşturmaktadır. N. vestibulokoklearis beyin sapında ponsun alt bölümünden girer. Burada dorsal ve ventral koklear nükleuslar ile sinaps yapar (2.nöron).

Koklear nükleustan çıkan ikinci nöronlar akustik stria ve trapozoid cisimde çapraz yaparak karşı taraf superior olivary komplekse ulaşır. Buradan çıkan lifler lateral lemniskusa gelir. Nöronların bir kısmı çapraz yapmadan aynı taraf superior olivary kompleks ve lemniscus lateralise ulaşmaktadır. Lateral lemniscusa ulaşan lifler colliculus inferior ve medial geniculat cisimde sonlanır.Buradan işitsel kortekse doğru yayılan lifler temporal lobda işitme merkezi olan heschl gyrusunda sonlanır (21; 22).



Şekil 2: Korti organı

İç kulak labirentin arter tarafından kanlanmaktadır. Labirentin arter genellikle *arteria cerebelli antero-inferior*'un dalıdır. Ancak baziler arterden hatta vertebral arterden de direkt olarak kaynaklanabilir (11).

2.1.2. İşitme fizyolojisi

Atmosferde meydana gelen ses dalgaları kulak kepçesinde toplanıp kulağın fonksiyonel kısımlarında değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri olarak beyine gönderilip burada ses halinde algılanması olayına işitme denir (11). İşitme sistemini dış kulak, orta kulak, iç kulak, merkezi işitme yolları ve işitme merkezi oluşturur (8).

İşitme için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden Corti organına aktarılması gerekmektedir (iletim-kondüksiyon). Bu sesin kendi enerjisi ile sağlanan mekanik bir olaydır. İkinci olarak Corti organında, akustik enerjisi biyokimyasal olaylar ile elektrik potansiyellerine dönüştürülür (dönüşüm-transdüksiyon). Üçüncü olarak iç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektrik potansiyelleri kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde oluşan enerji frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanır. Son olarak da işitme merkezine gelen bu sinir iletimleri birleştirilir ve yorumlanır (8).

2.1.2.1. Dış kulak yolu fizyolojisi

Kulak kepçesi, konumu ve şekli ile çevredeki sesleri toplar ve dış kulak yoluna iletimini sağlar. Konka ise bir megafon görevi yaparak ses dalgalarını DKY'de yoğunlaştırmaktadır DKY sesleri sadece yönlendirmez aynı zamanda sesin şiddetini artırır. Bu artış en fazla 3500-4000 Hz frekansta olup 15-20 desibel(dB) civarındadır. Sonuç olarak kulak kepçesi ses dalgalarının şiddetini 6 dB arttırmaktadır (8).

2.1.2.2. Orta kulak fizyolojisi

Orta kulak, DKY'ye iletilen ses dalgalarının kemikçik zincir ve oval pencere aracılığıyla iç kulağa iletilmesinde görev alır (10). Gaz ortamdan (atmosfer), sıvı ortama (perilenf) iletilen ses dalgalarında bir enerji kaybı oluşmaktadır. Ses dalgalarının 1/1000'i perilenfe geçebilmektedir ki kaybolan enerji, logaritmik olarak yaklaşık 30 dB'dir (8; 10). Orta kulak, bu enerji kaybını 3 temel mekanizma ile telafi etmektedir. Bunlar;

- 1)Timpanik membranın yükseltici etkisi
- 2)Kemikçik sisteminin yükseltici etkisi
- 3)Kulak zarı ve stapes tabanı arasındaki yüzey farkı

Kulak zarının pars tensa kısmının orta bölümü ses dalgalarıyla titreşir. Buradaki ses enerjisi manibrium malleide toplanır, bir nevi amplifiye edilir (8). Ayrıca inkusun uzun kolu ile umbo ve processus brevisin birbirine oranı sistemin artırıcı etkisinde rol oynar. Bu şekilde kemikçik sisteminin yükseltici etkisi 1,3/1 olup yaklaşık 2,5 dB'lik artış sağlar (8; 11; 23) Kulak zarında toplanan ses enerjisinin geniş bir alandan kemikçik zincir sayesinde oval pencereye yani daha küçük bir alana aktarılmasında iki yüzey arasındaki oran nisbetinde ses enerjisi şiddet kazanır (10). Kulak zarının titreşen kısmı 55mm², stapes tabanı ise 3.2-3.5 mm² olup oran 17'dir. yani akustik enerji kulak zarından oval pencereye yüzey farkı nedeniyle 17 kat artarak geçer. Bu fark nedeniyle 25dB'lik bir kazanç elde edilir (21; 22). Yuvarlak ve oval pencereler arasındaki faz farkı nedeniyle ise yaklaşık 2.5 dB kazanç sağlanır (10). Orta kulakta bulunan *M. Tensor timpani* ve *M. Stapedius kasları* ses uyarıları ile kasılarak, gürültüye karşı iç kulağı korumaktadır (10).

2.1.2.3. İç kulak fizyolojisi

Orta kulak kendisine gelen ses titreşimlerini iki farklı yolla iç kulağa iletir. Birinci yol; ses dalgaları ya kulak zarı ve kemikçikler sisteminin titreşimi ile oval pencereye aktarılır. İkinci yol; orta kulaktaki havanın titreşimi ile yuvarlak pencere yoluyla perilenfe aktarılır. Bu iki yol arasında kulak zarı ve kemikçikler sistemi 30 dB daha şiddetli iletim sağlamaktadır (8). Oval ve yuvarlak pencerelere aktarılan iki ayrı ses dalgası arasında iletim hızının farklı olması nedeniyle faz farkı oluşur. Bu faz farkı sonucu, ses dalgalarının perilenfe aktarılması ile

perilenf hareketlenir. Böylece baziler membranda titreşimler meydana gelir (8; 11). Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar devam etmektedir. Bekesy, bu harekete gezinen dalga "travelling wave" ismini vermiştir . Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da baziller membran amplitüdlerinin sesin frekansına göre değişiklik göstermesidir. Genellikle bazal membran amplitüdüleri yüksek frekanslı seslerde bazal turda en yüksek, alçak frekanslarda ise apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır (8; 24).

Korti organının iç ve dış tüylü hücreleri, akustik enerjinin nöral enerjiye çevrilmesinde çok önemli role sahiptir (11). Dönüşüm olayında tüylü hücre ve sterosilya işbirliğinin rolü olduğu herkes tarafından kabul edilmektedir. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları olup bu kanallar sterosilyaların hareketleri ile açılır veya kapanırlar. Sterosilyalar ise baziler membran hareketleri ile hareket ederler. Sonuç olarak baziler membran hareketleri elektriksel enerjiye dönüşmüş olur ve kendileri ile ilişkili olan afferent sinir liflerine bu elektriksel potansiyel iletilir (11). Ses uyaranları, taşıdıkları frekanslara göre beyinde farklı yerlerde yorumlanırlar. Yüksek tonlar işitsel merkezin derinliklerinde, düşük tonlar ise yüzeyleerde sonlanmaktadır (10).

2.2.Ototoksisite

2.2.1. Ototoksisiteye genel bakış

Ototoksisite bir ilaç ya da kimyasal ajanla karşılaşma sonucu koklear ve vestibüler organda meydana gelen hasarlanmaya verilen genel bir isimdir (25). Ototoksik maddelerin kullanımıyla sıklıkla işitme kaybı, çınlama, dengesizlik ve baş dönmesi gibi şikayetler karşımıza çıkmaktadır. Bunlar arasında en sık ve çoğu zaman da ilk olarak görülen yakınma tinnitustur. Tinnitus genellikle yüksek frekanslarda, 4000 ile 6000 Hz arasında değişmektedir (25). Olgularda tek taraflı bulgular nadir olmakla birlikte tinnitus ve işitme kaybı genellikle bilateral ve simetriktir. Kullandığımız bir toksik maddenin ototoksik olduğunun söylenebilmesi için bilateral olarak 250 ile 8000 frekansları arasında en az 10 dB kayba neden olması gerekmektedir (26; 27).

Vestibüler semptomlar orta derece dengesizlikten bulantı-kusma ile seyreden ciddi vertigoya kadar giden değişken bir klinik tabloyla karşımıza çıkmaktadır. Tam vestibüler hasar olmadıkça kompensasyon mekanizmaları sayesinde zaman içinde vestibüler semptomlar hafifler (25).

Böbrek yetersizliği, karaciğer yetersizliği, immün yetmezlik durumları, ileri yaş, ototoksikite öyküsü olması, bilinen ototoksik ajanların eş zamanlı kullanılması, gürültüye maruz kalma, önceden sensörinöral işitme kaybının olması ve kollajen vasküler hastalıklarda ototoksik etkinin daha belirgin olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (28).

Ototoksisiteye maruz kalan hastalarda odyolojik incelemelerle toksik etkilerinin başladığının belirlenmesi, ilacın kesilmesi ya da ilacın değiştirilmesi ve ototoksik etkilerin rehabilitasyonu önemle üzerinde durulması gereken konulardır (28). Klinikten sık kullanılan ototoksik ajanlar Tablo 1’ de gösterilmiştir.

Antibiyotikler	Aminoglikozitler (amikasin, gentamisin, streptomisin, neomisin)
	Makrolitler (eritromisin, azitromisin, klaritromisin)
	Vankomisin
Antiinflamatuvarlar	Salisilatlar
	Naproksen
	İndometazin
Antineoplastikler	Sisplatin
	Nitrojen mustard
Kıvrım diüretikleri	Furosemid
	Bumetanid
	Etakrinat
Antimalaryal ilaçlar	Kinin
	Klorakin
	Kinidin
Şelasyon yapıcılar	Desferoksamin
Kimyasal maddeler	Civa
	Kurşun
	Benzen
	Alkol
	Antiseptikler
	Asetik asit
	Toluen

Tablo 1. Ototoksik etki gösteren ajanlar

2.2.2. Cisplatin ototoksitesisi

2.2.2.1. Cisplatin

İlk kez 1845'de M. Peyrone tarafından bulunan cisplatin uzun süre Peyrone tuzu olarak isimlendirilmiştir (29). Rosenberg ve arkadaşları bu maddenin E.Coli üremesine inhibe ettiğini 1965'te yayınlamışlardır (30). Sonraki yıllarda deneysel olarak cisplatinin tümörlerde en aktif platinyum bileşiği olduğu saptanmış ve 1970'lerde klinik kemoterapötik olarak kullanıma girmiştir (30).

2.2.2.2. Cisplatin ototoksitesinin klinik özellikleri

Cisplatin daha çok kokleotoksik olup vestibulotoksitesite nadiren görülmektedir. İşitme kaybı genellikle bilateral, geri dönüşümsüz ve progresif seyirlidir. Nadiren geçici olabilen işitme eşiği değişiklikleri ve tek taraflı işitme kayıpları da görülmektedir (28; 31).

Cisplatin kullanımına bağlı olarak hastaların % 60 - %80'inde işitme eşiklerinde kötüleşme gözlenmektedir (32; 33). Ancak yüksek frekans odyometrisi ile değerlendirildiğinde işitme eşiği değişikliğinin %100'e ulaştığı belirtilmiştir (34). Cisplatin kullanan yetişkinlerin ototoksitesisi nedeniyle % 49 oranında işitme cihazı ihtiyacı olduğu bildirilmektedir (35).

Cisplatin ototoksitesisine bağlı gelişen işitme kaybının odyometrik incelemesinde 8000 Hz'in üzerindeki frekanslarda 75-80 dB HL'de, 8000 Hz'in altındaki frekanslarda ise 45-60 dB HL'de plato yaptığı görülmektedir (36). Cisplatine bağlı işitme kaybı diyebilmek için bir frekansta en az 20 dB, iki frekansta en az 15'er dB, dört frekansta en az 10'ar dB işitme kaybı saptanmalıdır (28). Tinnitus cisplatin tedavisinin bir sekeli olarak hastaların %60'ında görülür fakat işitme kaybının habercisi değildir. Genellikle bilateraldir ve özellikle yüksek frekanslardaki işitme kaybıyla birlikte (30; 37).

Cisplatinin vestibulotoksitesite yaptığına dair bir kanıt bulunamamıştır. Vestibulotoksik etkiler sadece, cisplatin kemoterapisinden bağımsız olarak daha önceden vestibulotoksik bir ajana maruz kalan kanserli hastalarda saptanmıştır (30).

Cisplatin ototoksitesisi doz, zaman, veriliş yolu, yaş, cinsiyet, genetik faktörler, tümörün yeri, renal fonksiyon, radyasyon maruziyeti ve önceki işitme kaybı öyküsüne bağlı olarak değişmektedir.

Cisplatin ototoksitesisi tedavi dozunun veriliş süresine bağlıdır. Antitümör etkileri maksimuma çıkartıp yan etkileri minimize etmek için farklı doz uygulamaları denenmiştir. Tedavinin tek doz olarak verildiği olgularda %30-86 oranında ototoksitesinin olduğu, dozun

günler içinde verildiği olgularda ise ototoksik etkinin daha az olduğu belirtilmektedir (38). Ayrıca hidrasyon ve tuz yükleme ile nefrotoksisiteyi engellemede başarılı olursa da ototoksisitede bu önlemlerin azaltıcı etkisi görülmemiştir (37).

Cisplatinin gastrointestinal sistemden emilimi olmadığı için sadece intravenöz uygulanır. Plazma proteinlerine %90 oranında, kısmen irreversible olarak bağlanır ve böbreklerden atılır. Yarılanma ömrü 60 saat kadardır (3). İntravenöz infüzyon ve yavaş intravenöz enjeksiyon şeklinde tek başına 100 mg/m² dozunda, kombinasyon içinde ise 20 mg/m² dozunda uygulanır.

Fakat tedavinin 5. günü ancak %35-50'si atılır. Kalan kısmı daha uzun sürede yavaşça atılır. Tedavinin ilk 4 ayında böbrek dokusunda platin saptanabilir (30; 37). Cisplatinin pediatrik yaş grubunda osteosarkom, nöroblastom gibi solid tümörlerde kullanımının artmasıyla çocuklarda ototoksisitenin önemi artmıştır. Cisplatinin indüklediği işitme kaybı pediatrik yaş grubunda daha ciddi boyutta olup yapılan çalışmalarda bu oran %50-100 arasında bildirilmiştir. Ancak bu hastalarda ortaya çıkan işitme kaybı cisplatinle birlikte veya önceden uygulanmış olan radyoterapi nedeniyle artmış olabileceği düşünülmektedir (37).

2.2.2.3. Cisplatin ototoksisitesinin koklear morfolojik etkileri

Cisplatin uygulaması sonrası koklear morfolojideki primer değişiklik DTH kaybıdır. Öncelikle bazal kısımda ve üçüncü sıradaki DTH kaybı görülmektedir (39; 40). Koklear tüylü hücre ölümü kokleanın bazal kısmında başlar ve ilaca maruziyetin devamı halinde apikal kısımlara doğru devam eder (41).

Korti organında görülen hasar 3 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada destek hücrelerinde (Hensen ve Deiters hücreleri) ödem oluşur. İkinci aşamada DTH'inde dejenerasyon meydana gelir. Özellikle stereosilya kaybı ve intraselüler vakuolizasyon dikkat çekicidir. Bu aşamada İTH'lerin tabanında vakuolleşmede izlenebilir. Son aşamada ise bütün korti organının dejenerasyonu ve Reissner membranında kollaps izlenir (42). Koklear tüylü hücrelerde gelişen hücre ölümü doz bağımlı olarak gerçekleşir. DTH'ler cisplatine karşı daha duyarlı iken, İTH'ler karboplatine daha duyarlıdır (41).

Cisplatin ototoksisitesinin etkileri, korti organı dışında spiral gangliyon ve stria vasküleriste de izlenmektedir (43; 44). Spiral gangliyonda myelin kılıfta ayrışma meydana gelir ve bu hasarın zamanı DTH hasarıyla paralellik gösterir (45). Stria vasküleriste izlenen yapısal değişiklik DTH hasarında olduğu gibi bazal kısımdan başlar ve stria ödem ve sitoplazmik organların hasarı ön plandadır (46).

2.2.2.4. Cisplatinin ototoksik etki mekanizması

Cisplatinle bağılı gelişen apoptozis oluşumunda birçok mekanizmanın rolü olduğu düşünülmektedir. Casares ve arkadaşlarının 2012 yılında hayvan çalışmasında cisplatin ototoksitesinden sorumlu olduğu düşünülen mekanizmalar gruplara ayrılmıştır (47).

- Geleneksel mekanizma: Cisplatinin sitotoksik etkisi rol oynar. Platinum atomu ile DNA arasındaki bağlara bağımlı olarak oluşan ürünlerin hücre siklusunu bloke edip, p53 aktivasyonu ile apoptozisi indüklemesi ile oluşmaktadır (47).
- Reaktif oksijen ürünlerinin rolü: Cisplatinin kokleada reaktif oksijen ürünlerinin oluşumu için kullandığı temel enzim nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazın isoformu olan nitrik oksidaz 3 (NOX3)'dür. NOX3 transient reseptör potansiyel vanilloid (TRPV1) kanalını indükleyip aktive ederek bu kanaldan Ca⁺⁺ çıkışını sağlar. Böylece kaspaz sistemi devreye girer ve apoptozisi başlatır. Ayrıca NOX3, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve diğer toksik lipid peroksitlerin oluşumunu koklea içerisinde artırır. Bu olaylar da koklear hücrelerde Ca⁺⁺ salınımını artırıp apoptozisi başlatır (47).
- İnflamatuar yol: Cisplatin inflammatuar sitokinlerin oluşumunu indükler. Cisplatinle ilişkili bir inflammatuar mediatör olan nitrik oksid sentaz (iNOS) koklea hasarı ile ilişkili nükleer faktör – kb'yi indükler ve apoptozisi başlatır (47).

Sonuç olarak Casares ve arkadaşları (47) apoptozisi ve hücre hasarını birçok faktöre bağılı olan intrasellüler elektrolit değişikliklerin ve inflammatuar mekanizmaların tetiklediğini belirtmişlerdir.

2.2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller, en dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron içeren, yüksek derecede reaktif, kısa ömürlü ve kararsız moleküllerdir. Moleküler oksijenin indirgenmesi ve uyarılması ile çok farklı serbest oksijen radikalleri üretilebilmektedir (48; 49).

Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu ile negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit radikali (O₂⁻) meydana gelir. Süperoksit radikalinden enzimatik yolla ya da spontan dismutasyonla ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit radikali (H₂O₂) oluşur. Daha sonra özellikle mitokondride diğer bir ürün olan hidroksil radikali (OH⁻) meydana gelir. Organizmada bu serbest radikaller dışında hidrojen peroksit, hipoklorik asit gibi radikal olmayan ancak serbest radikal oluşturma riski olan zararlı oksijen türleri de oluşabilmektedir. Diğer serbest radikallerle karşılaştırılığında O₂ radikali yüksek elektron

aktivitesine sahiptir ve yüksek oranda reaktiftir. Ancak en aktif oksijen radikali OH radikalidir (48; 49).

Reaktif oksijen radikalleri (süperoksit anyon O_2^- , hidroksil radikali OH., H_2O_2) normal hücrel metabolizmada üretilmektedir. Reaktif oksijen radikallerinin üretimi iyonize radyasyon, oksitleyici özellik taşıyan ajanlar (antineoplastikler, bazı antibiyotikler), hücreye yabancı olan maddeler (ksenobiyotikler), hiperoksi, enflamasyon, kanser, diyabet ve yaşlanma gibi durumlarda artabilir ve bu artış hücrel hasara neden olabilir (50).

Bu maddeler, sitoplazmik membran ile hücre-içi organel membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve membranların geçirgenlik artışına neden olur. Ayrıca enzimlerin ve proteinlerin sülfidril gruplarının oksitlenip çapraz bağlanarak, enzimlerin inaktivasyonuna yol açar. İnaktive olan antiproteazlar dirençli proteolitik enzimlerin aktivasyonuna yol açar ve DNA yapısının bozulmasına (mutasyona) neden olur (51).

Serbest radikallerin hücrede başlattığı zararlı reaksiyonların en önemlisi lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ile diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışı sonucunda hücre hasarına ve hücre içeriğinin serbestleşmesine yol açar. Bunun yanında lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malonildialdehid (MDA) membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına neden olur. Bundan dolayı hücre yüzeyinin durumu, enzim aktivitesi ve iyon transportu etkilenebilir (49; 52).

Organizmada sürekli ROR oluşmasına rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dengeden dolayı zararlı etkiler ortaya çıkmaz. Fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu bu dengenin oksidasyon lehine kayması sonucunda oksidatif hasar görülebilmektedir. Antioksidan savunma sisteminde görev yapan moleküller; yapı ve fonksiyonlarına göre “enzimatik” veya “enzimatik olmayan” antioksidanlar olarak gruplandırılabilir. Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca antioksidan enzimler aracılığıyla korunurlar. Bunla antioksidan enzimler; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz, katalaz ve süperoksit dismutazdır (SOD). Enzimatik olmayan antioksidanların grunuda ise α -lipoik asit, bakır, çinko, selenyum gibi elementler ile folik asit, ürik asit, albumin gibi kofaktörler ve E, A, C, B1, B2, B6, B12 gibi vitaminler vardır. Bunların yanında melatonin, albümin, sistein, bilirubin, seruloplazmin, ferritin, transferrin, laktoferrin, haptoglobülin, hemopeksin, mannitol, oksipurinol, probukol, deferoksamin, flavonoidler, fitoaleksiner ve henüz araştırma aşamasında birçok madde vardır (49; 52; 53; 54).

2.3.Otoakustik Emisyonlar

Gold tarafından 1948 yılında ilk kez kokleada bazal membran hareketlerinden dolayı aktif bir enerjinin varlığı öne sürülmüştür. David Kemp 1974 yılında otoakustik emisyonları kaydederek bu hipotezi kanıtlamıştır. Esas olarak DTH'lerin titreşimi otoakustik emisyonları oluşturmaktadır ve emisyonlar kokleaya geliş yönünün tersi yönünde kaydedilmektedir (55). Dış tüylü hücre hareketi koklea içerisinde mekanik bir enerji oluşturmaktadır. Bu enerji, oval pencere ile orta kulağa ve timpanik membrana doğru iletilir.

Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) meydana gelir ve bu sinyali hassas bir mikrofonla ölçmek mümkündür (56; 57). Otoakustik emisyonlar periferik işitsel fonksiyonun hassas bir göstergesidir. Hem işitme kaybının koklear komponentini belirlemeye hem de diğer odyolojik metodlarla belirlenemeyen, kokleadaki küçük değişiklikleri objektif olarak değerlendirmeye olanak sağlar (58). OAE, dış tüylü hücreleri hedef alan ototoksistide işitme kaybı oluşmadan erken koklear hasarı tespit etmede çok önemli bir yere sahiptir. Bu sayede standart odyometriye göre ototoksik zararı daha önceden belirlemek mümkündür (59).

Otoakustik emisyonlar kolay uygulanabilir, hızlı ve girişimsel olmayan bir test olduğu için hasta tarafından daha iyi tolere edilirler. Çocuklar, yaşlılar, ototoksik ilaç kullanan ağır durumdaki hastalar gibi subjektif testler için yeterli uyum gösteremeyen hastaların işitme fonksiyonunun değerlendirilmesinde OAE'lar özel bir yere sahiptir (56; 60; 61). DTH yapısal olarak tahrip olduğunda veya fonksiyonu bozulduğunda emisyonlar üretilmez (62). Ayrıca orta kulağın iletim fonksiyonu da OAE saptanmasında önemlidir. Çünkü akustik uyarı ve kokleanın ürettiği sesler hem orta kulağı hem dış kulak yolunu geçtiği için bu yapıların normal fonksiyon göstermesi gerekir (60; 63).

Emisyonların sınıflandırması ortaya çıkarılmaları için stimulus kullanıp kullanılmamasına göre yapılmıştır. Buna göre emisyonlar, spontan ve uyarılmış (evoked) emisyonlar adı altında iki gruba ayrılabilir (56; 57).

2.3.1. Spontan otoakustik emisyonlar

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE) dışarıdan herhangi bir uyarı olmadan meydana gelir ve insan kulağında %40-60 oranında elde edilebilirler (55; 57). Klinik kullanımda koklear fonksiyonun değerlendirmesinde pratik değildir (63).

2.3.2. Uyarılmış otoakustik emisyonlar

Dışarıdan gelen akustik uyarın varlığında kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli akustik sinyallerdir (60). Kullanılan uyarının tipine göre üç gruba ayrılır:

- Stimulus frekans otoakustik emisyon (SFOAE)
- Geçici uyarılmış otoakustik emisyon (TEOAE)
- Distorsiyon ürünleri otoakustik emisyon (DPOAE)

2.3.2.1. Stimulus frekans otoakustik emisyonlar

Kokleanın frekansa özel tonal stimulusa karşı oluşan yanıtlarıdır. Akustik uyarıyı cevaplardan ayırmak güçtür ve klinik olarak kullanımı sınırlıdır (64).

2.3.2.2. Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar

Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar, 5000-6000 Hz frekans aralığında orta yoğunlukta geniş band klik veya tone bip ses verilerek oluşturulur. Duyarlı bir mikrofon ile 80 dB şiddetinde bir ses kaynağı bir kulak probu içinde dış kulak yoluna yerleştirilir. Uyarın verildikten belirli bir latans süresi sonrasında cevap alındığı için, 20 milisaniyelik (ms) kayıt aralığının ilk iki milisaniyesi sıfırlanarak çizdirilir (64).

TEOAE yapılırken nonlineer uyarı yöntemi kullanılır. DKY'ye verilen kliklerden sonra elde edilen yanıtlar averajlanır ve toplam 260 averajlamadan sonra test sona erer. Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar 25-30 dB üzerindeki işitme kayıplarında tespit edilememekle birlikte normal işiten vakaların %98'inde vardır. Bununla birlikte işitmesi normal olan bazı kulaklarda dış kulak kanalı ve orta kulağın anatomik özellikleri, gürültü ve cihaz ile ilgili sorunlar nedeni ile TEOAE'lerin bir kısmında anlamlı sonuç alınamayabilir (59).

2.3.2.3. Distorsiyon ürünleri otoakustik emisyonlar

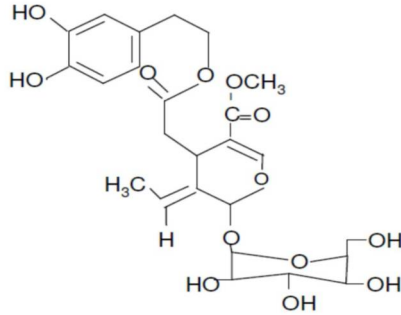
Eş zamanlı olarak uyarın iki pür tonun, koklea içerisinde non-lineer etkileşimiyle oluşan ve DKY'den ölçülen akustik enerji olarak tanımlanırlar (57). En kuvvetli DPOAE cevapları insanlarda 2f1-f2 frekanslarında elde edilmiştir.

DPOAE'lerin klinikte iki farklı ölçüm yöntemi vardır; birincisinde uyarın şiddeti sabit olup farklı f1 ve f2 frekanslarında uyarınların verilir. Bu frekansların 2f1-f2 formülüne göre ortalamalarının farklı frekanslarda yerleşimleri ile 0.5-8 kHz gibi geniş aralıkta tipik DPOAE'ler ölçülmektedir. Diğer yöntemde ise uyarın şiddeti frekans sabit tutularak arttırılır (57; 59).

Ölçüm için kullanılan cihazlar TEOAE'ye göre daha basittir. DKY'ye iki ayrı frekansta uyaran vermek için iki tane mini hoparlör ve bir tane mini mikrofon konulmalıdır. DPOAE'de stimulusun frekans ve şiddet oranları ölçüm sonuçlarını etkilemektedir (31). Ölçümlerin zorluklarına rağmen DPOAE'ler koklear işitme fonksiyonu ile ilgili değerli bilgiler verir. İşitme eşliğinin 15 dB SPL'den daha düşük olduğu durumlarda DPOAE'ler ölçülür fakat işitme eşliğinin 50 dB SPL'nin üstünde olduğu durumda kaydedilemez (57).

2.4.Oleuropein

Zeytin ağacı önemli biyolojik özelliklere sahip fenolik maddelerce zengindir. Bu fenolik bileşenlerin en önemlisi oleuropeindir (65). İlk kez 1908 yılında Bourquelot ve Vintilesco tarafından keşfedilmiştir ancak bu bileşiğin yapısı ancak 1960 yılında tanımlanmıştır (66). Buna göre oleuropeinin yapısını, elenolik asit ve hidrokstriosolün heterozidik esteri oluşturmaktadır (Şekil 2).



Şekil 3: Oleuropeinin Kimyasal Yapı Formülü (67)

Oleuropein, zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde daha çok bulunan ve meyvenin olgunlaşmasıyla metabolize olarak miktarı azalan, meyveye acı tat veren bir maddedir (68). Olgunlaşmamış zeytinlerde oleuropein, meyve ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturur ancak meyve olgunluğa eriştiği zaman bu oran azalır.

Oral alımdan iki saat sonra oleuropeinin plazmada maksimum konsantrasyona ulaştığı görülmüştür. Mide ve jejunumdan emilir. En önemli metaboliti hidrokstirozoldür ve idrar ile glukronid metaboliti olarak atılmaktadır (6).

Yüzyıllarca yaşayabilme özelliğine sahip olan zeytin ağacının ürünleri insan sağlığına yararlı etkileri ile uzun zamandır bilinen gıda maddeleri arasında yer almaktadır (69). Oleuropeinin antioksidan, antimikrobiyel, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antikarsinojenik,

antiviral aktiviteler sergilediği ve daha çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (70; 71).

Avustralyalı araştırmacılar 2007 yılında antioksidan etkiye sahip 55 tıbbi bitkiyle yaptıkları çalışmalarında, zeytin yaprağı ekstresinin çalışılan tüm bitkilerden daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu belirtmektedir (72). Zeytin yaprağı özünün trombosit agregasyonu ve tromboksan A₂ üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar etkiye sahiptir (73; 74). OLE glutasyon sistemini kullanarak antioksidan savunma sistemlerine pozitif yönde etki eder. Süperoksit ve hidroksil radikallerine karşı temizleyici rolü vardır (6). Tutour ve Guedon tarafından yapılan bir çalışmada da oleuropein ve onun metaboliti olan hidroksitirozolün güçlü bir antioksidan olan vitamin E ile etkileri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak oleuropein ve hidroksitirozolün antioksidan etkilerinin daha yüksek olduğu izlenmiştir (75).



3. GEREÇ YÖNTEM

Çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Deneysel Hayvan Etik Kurulu'nun "29.04.2016" tarihli ve "11" numaralı onayını aldıktan sonra KSÜ deney hayvanları laboratuvarından temin edilen 200-250 gram ağırlığındaki sağlıklı erişkin 24 dişi rat üzerinde KSÜ deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi. Ratlar tüm çalışma boyunca 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodunda, 20 ± 2 °C sıcaklık ve 50 ± 10 nisbi nem sağlanmış, çelik kafesler içinde barındırılarak, herhangi bir besin kısıtlaması içermeyen taze sebze ve yemle beslendi. Çalışmamızda uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyuldu.

24 rat randomize olarak, her bir grupta 8 rat olacak şekilde 3 gruba ayrıldı

Grup 1 (Kontrol): Bu gruba dahil edilen 8 rata intraperitoneal 1 ml/gün salin verildi. 1. ve 15. gün DPOAE testi yapıldı.

Grup 2 (Cisplatin): Bu gruptaki 8 hayvana günde bir defa olmak üzere iki gün intraperitoneal 8 mg/kg cisplatin (Platosin-s, Med İlaç, İstanbul) verildi. 1. ve 15. gün DPOAE testi yapıldı.

Grup 3 (Oleuropein): Bu gruptaki 8 hayvana günde bir defa olmak üzere iki gün intraperitoneal 8 mg/kg cisplatin ve 50 mg/kg/gün gavaj yoluyla 15 gün oleuropein verildi. 1. ve 15. gün DPOAE testi yapıldı.

3.1. DPOAE

Akustik ölçümler, KSÜ hayvan laboratuvarında KBB anabilim dalı ekipmanları kullanılarak yapıldı. Akustik ölçümler genel anestezi altında yapılırken, intraperitoneal (i.p) enjeksiyonlar sırasında herhangi bir anestezi uygulanmadı. Genel anestezi, ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg + xylazine hidroklorür (Rhompun flakon, Bayer, İstanbul) 5 mg/kg intramusküler (i.m) ile yapıldı. Genel anestezi altında toplam 24 ratın 48 kulağı otomikroskopik olarak değerlendirildi ve dış kulak yolundaki debris veya buşonlar temizlendi. Bütün kobaylarda normal timpanik membran görüntüsü saptandı. İntraperitoneal ilaç uygulaması öncesinde, tüm rat kulaklarında Intelligent Hearing Systems, IHS, Miami, FL model otoakustik emisyon cihazı kullanılarak DPOAE testi yapıldı ve normal işitimin varlığı tespit edildi. Tüm gruplarda ilk enjeksiyonlara başlamadan 30 dk. önce DPOAE ölçümü yapıldı. İlk cisplatin uygulamasının yapıldığı gün, gün 1 olarak alındı. Tüm

gruplara 1. ve 15. günde toplam 2 defa DPOAE ölçümü yapıldı. Primer tonlar dış kulak yoluna yerleştirilen uygun prob yardımıyla verildi. Akustik uyarın 2 pür ton(f_1 ve f_2 ; f_1/f_2 oranı = 1.22) 70 dB ses basınç düzeyi(SPL) olarak belirlendi. DPOAE'lar $2f_1-f_2$ frekansında ölçüldü. Probuın yerleşiminin kontrolü ve kalibrasyonu test öncesinde otomatik olarak ölçüm sistemi tarafından yapıldı. DPOAE, f_1 ve f_2 'nin geometrik ortalamalarında 2221, 4422, 6244, 8844, 12503, 17672, 24990, 35344 Hz'deki sinyal-gürültü oranları (SNR) kaydedildi.

3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmanın 15. günü hayvanlara DPOAE yapıldıktan sonra intraperitoneal olarak tiyopental sodyum verilerek giyotin cihazıyla ötenazi uygulandı. Otomikroskop altında ratların temporal kemikleri çıkarılarak %10'luk formaldehit solüsyonuna bırakıldı. Cerrahi mikroskop kullanılarak timpanik membran ve kemikçik zincir (malleus, incus, stapes) çıkarıldı. Koklea apeksinde pik yardımıyla pencere açıldı. İnsülin enjektörü kullanılarak oval ve yuvarlak pencere yoluyla %10 formaldehit ile fiksasyon sağlandı. Diseke koklea oda sıcaklığında %10 formaldehitte 24 saat bekletildi. Fiksasyon sonrasında oda sıcaklığında günlük değişimli %10 luk EDTA ile 7 gün muamele edilerek dekalsifiye edilmiştir. Sonrasında 24 saat suda bekletilmiş ve artan alkol konsantrasyonunda (70, 80 90 ve 100) kurutulmuştur. Spesmen xylene solüsyonunda 1 saat, paraffinde ise 3 saat bekletilerek bloklara gömüldü. Mikrotom kullanarak modiolusa paralel geçen longitudinal 5 µm incelikte seri kesitler alınmıştır. Hemotoksilen ve eosin ile muamele edilmiştir. Kesitler 400x ışık mikroskobu ile incelenerek dijital görüntüler alındı.

Cisplatin ototoksitesi histopatolojik değerlendirme kriteri olarak stria vaskülaris, korti organı ve spiral ganglion belirlendi. Stria vaskülaris için intermediat hücre büzülmesi, stoplazmik vokualizasyon ve marjinal hücre kaybı derecesi kriter olarak alındı. Korti organı için çekirdeği intak dış tüy hücre sayısı baz alındı. Spiral ganglion için sitoplazmik vokualizasyon ve nükleer dejenerasyon derecesi dikkate alındı. Freitas ve ark. (76) tarafından tanımlanan cisplatin kaynaklı ototoksite 4 puan skorlama sistemi kullanıldı.

Korti organı histopatolojisi skorlama sistemi;

Skor 0	3 adet intak DTH
Skor 1	2 adet intak DTH
Skor 2	1 adet intak DTH
Skor 3	DTH yokluğu

Stria vaskularis histopatolojisi skarlama sistemi;

Skor 0	Büzölme yok
Skor 1	Hafif derece büzölme
Skor 2	Orta derece büzölme
Skor 3	Ciddi derece büzölme

Spiral ganglion histopatolojisi skarlama sistemi;

Skor 0	Değişim yok
Skor 1	Hafif derecede değişim
Skor 2	Orta derecede değişim
Skor 3	İleri derecede değişim

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS for Windows Version 16.0 programı kullanılmıştır. Ölçülebilir değişkenler Ortalama (\bar{X}) \pm Standart hata (SE) olarak verildi. Her grubun ilk ve ikinci ölçümleri arasındaki değişim farkları ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Grupların ikili olarak karşılaştırılması için Mann Whitney U testi uygulanmıştır. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. DPOAE Sonuçları

4.1.1. Grup 1 (Kontrol)

Bu gruptaki 8 rata intraperitoneal 1 ml/gün salin verildi. Bu grup sadece DPOAE yanıtları açısından diğer gruplar ile karşılaştırılmak üzere kullanılmıştır. Ölçümler 1. ve 15. gün 2221, 4422, 6244, 8844, 12503, 17672, 24990, 35344 Hz frekanslarında yapılmıştır. Bu gruptaki tüm ratlar çalışmayı tamamlamışlardır. Kontrol grubu 1. ve 15. gün DPOAE sonuçları Tablo 2’te gösterilmiştir.

Tablo 2. Kontrol grubu ortalama ve ortalama standart hata değerleri

Frekanslar	İşlem Öncesi (ortalama±Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası 15.gün (ortalama±Std. Hata ort.)	P
2221 Hz	6±0,63	5,3±0,47	>0,05
4422 Hz	14,3±0,53	13,7±0,60	>0,05
6244 Hz	16,7±0,9	17,6±0,99	>0,05
8844 Hz	28±1,22	26,3±1,02	>0,05
12503 Hz	25±0,85	24,5±0,68	>0,05
17672 Hz	28,5±0,86	29±1,22	>0,05
24990 Hz	25,8±1,23	27,1±1,51	>0,05
35344 Hz	34,2±1,34	33,3±2,02	>0,05

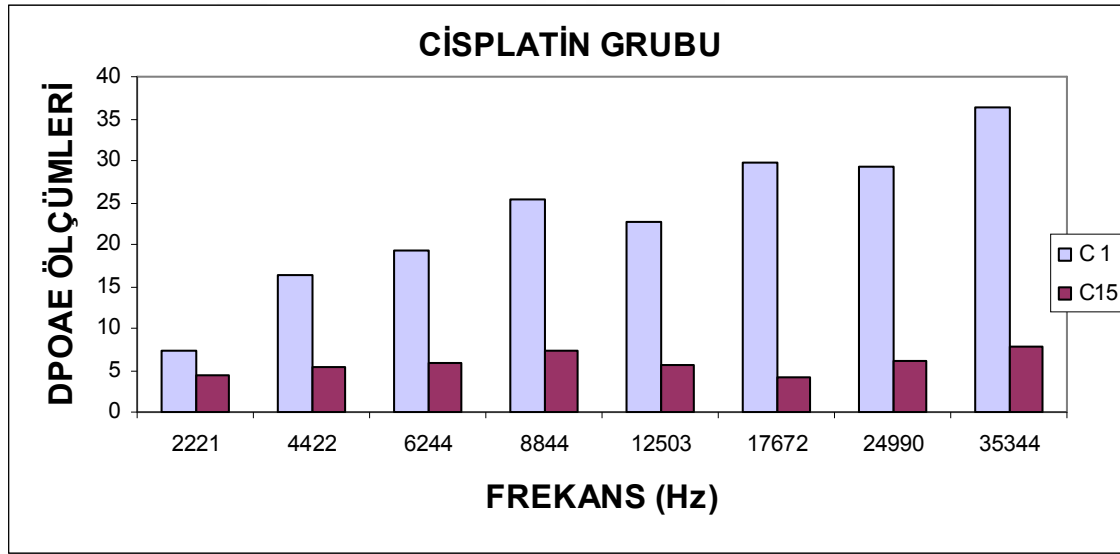
Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde 1. ve 15.günlerde tekrarlanan tüm frekans ölçümleri arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.1.2. Grup 2 (Cisplatin)

Bu gruba dahil olan 8 hayvana tek doz intraperitoneal 12mg/kg cisplatin uygulanmıştır. Ratların bir tanesi çalışmanın çeşitli aşamaları sırasında toksik etkiye bağlı olarak kaybedilmiştir. Tüm ratlarda gastrointestinal yan etkiler, alopesi ve kilo kaybı gözlenmiştir.Çalışmayı tamamlayan 7 rat değerlendirilmeye alınmıştır. Cisplatin grubu 1. ve 15. gün DPOAE sonuçları Tablo 3’te gösterilmiştir.

Tablo 3. Cisplatin grubu ortalama ve ortalama standart hata değerleri

Frekanslar	İşlem Öncesi (ortalama±Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası 15.gün (ortalama±Std. Hata ort.)	P
2221 Hz	7,4±0,57	3,7±0,86	<0,05
4422 Hz	16,2±0,76	5,2±1,17	<0,05
6244 Hz	19,3±1,43	5,8±0,99	<0,05
8844 Hz	25,2±0,65	7,4±0,82	<0,05
12503 Hz	22,6±0,52	5,5±2,71	<0,05
17672 Hz	29,7±1,49	4,1±1,04	<0,05
24990 Hz	29,2±1,25	6,2±0,94	<0,05
35344 Hz	36,2±2,21	7,8±1,42	<0,05



Şekil 4. Cisplatin grubu 1. Gün ve 15. Gün DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması
CP1: Cisplatin grubu 1. Gün CP15: Cisplatin grubu 15. gün

Bu grubun istatistiksel analizinde 15. gün DPOAE ölçümlerinde 1. güne göre tüm frekanslarda anlamlı düşme saptanmıştır ($p<0,05$). Cisplatin grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün ölçümlerinde tüm frekanslarda cisplatin grubunda anlamlı düşme saptanmıştır ($p<0,05$).

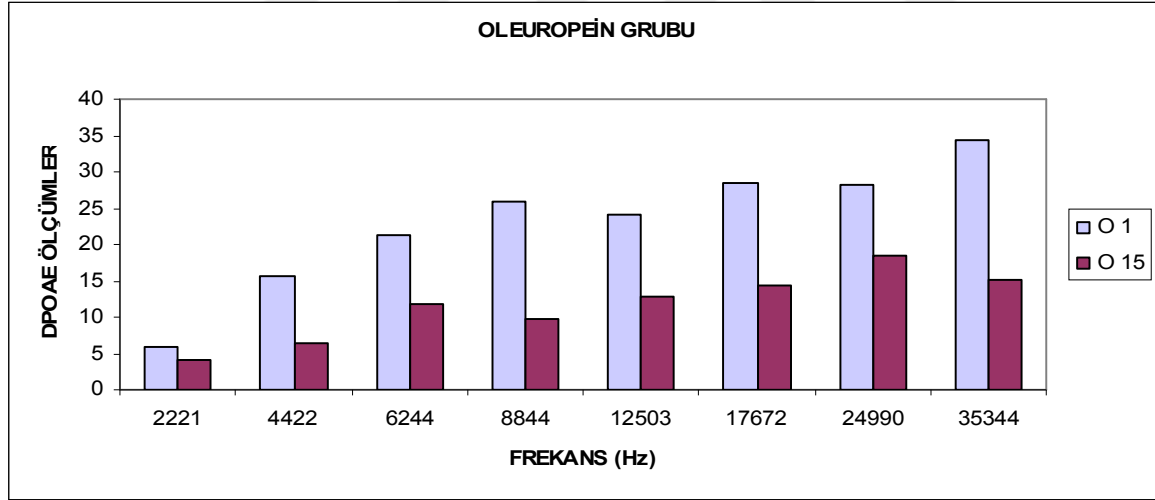
4.1.3. Grup 3 (Oleuropein)

Bu gruptaki 8 hayvana günde bir defa olmak üzere iki gün intraperitoneal 8 mg/kg cisplatin ve 50 mg/kg/gün gavaj yoluyla 15 gün oleuropein verildi. Bir rat toksik etki sonrası

kaybedilmiştir. Tüm ratlarda gastrointestinal yan etkiler, alopesi ve kilo kaybı gözlenmiştir. Çalışmayı tamamlayabilen 7 rat değerlendirilmeye alınmıştır. Oleuropein grubu 1. ve 15. gün DPOAE sonuçları Tablo 4’te gösterilmiştir.

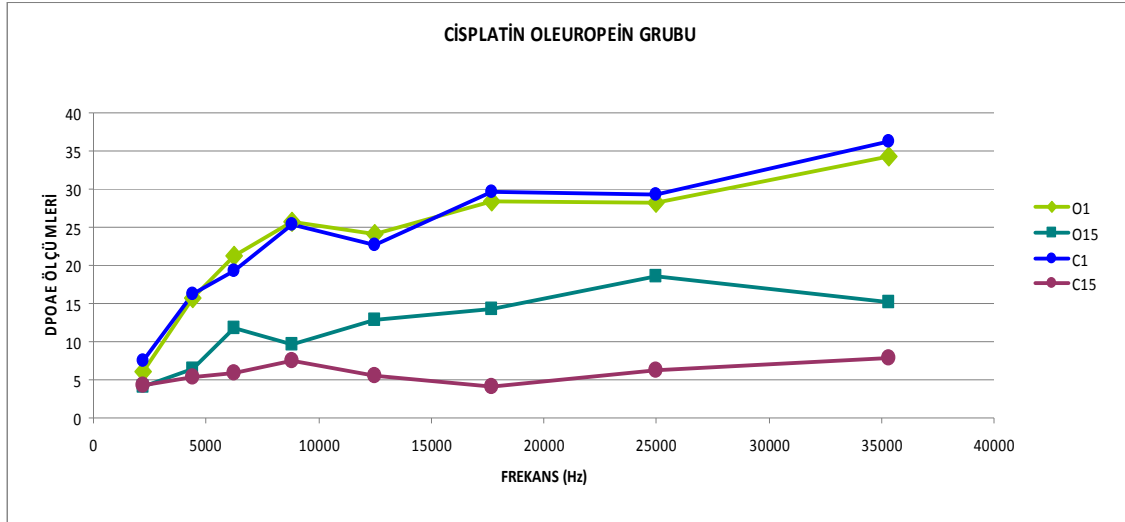
Tablo 4. Oleuropein grubu ortalama ve ortalama standart hata değerleri

Frekanslar	İşlem Öncesi (ortalama±Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası 15.gün (ortalama±Std. Hata ort.)	P
2221 Hz	6±0,31	4±0,65	<0,05
4422 Hz	15,6±0,95	6,4±1	<0,05
6244 Hz	21,2±1,14	11,7±1,06	<0,05
8844 Hz	25,7±1,21	12,7±0,98	<0,05
12503 Hz	24±1,04	12,7±0,98	<0,05
17672 Hz	28,3±0,86	14,3±0,98	<0,05
24990 Hz	28,1±1,04	18,5±1,57	<0,05
35344 Hz	34,3±1,38	15,2±1,71	<0,05



Şekil 5. Oleuropein grubu 1. Gün ve 15. Gün DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması
O1: Oleuropein grubu 1. Gün O15: Oleuropein grubu 15. gün

Bu grubun istatistiksel olarak analizinde 15. gün DPOAE sonuçlarında 1. güne göre tüm frekanslarda anlamlı düşme saptanmıştır. Oleuropein grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün tüm frekans sonuçlarında oleuropein grubunda anlamlı düşme saptanmıştır.



Şekil 6. Cisplatin ve Oleuropein grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması

CP1: Cisplatin grubu 1. Gün CP15: Cisplatin grubu 15. Gün O1: Oleuropein grubu 1. Gün O15: Oleuropein grubu 15. gün

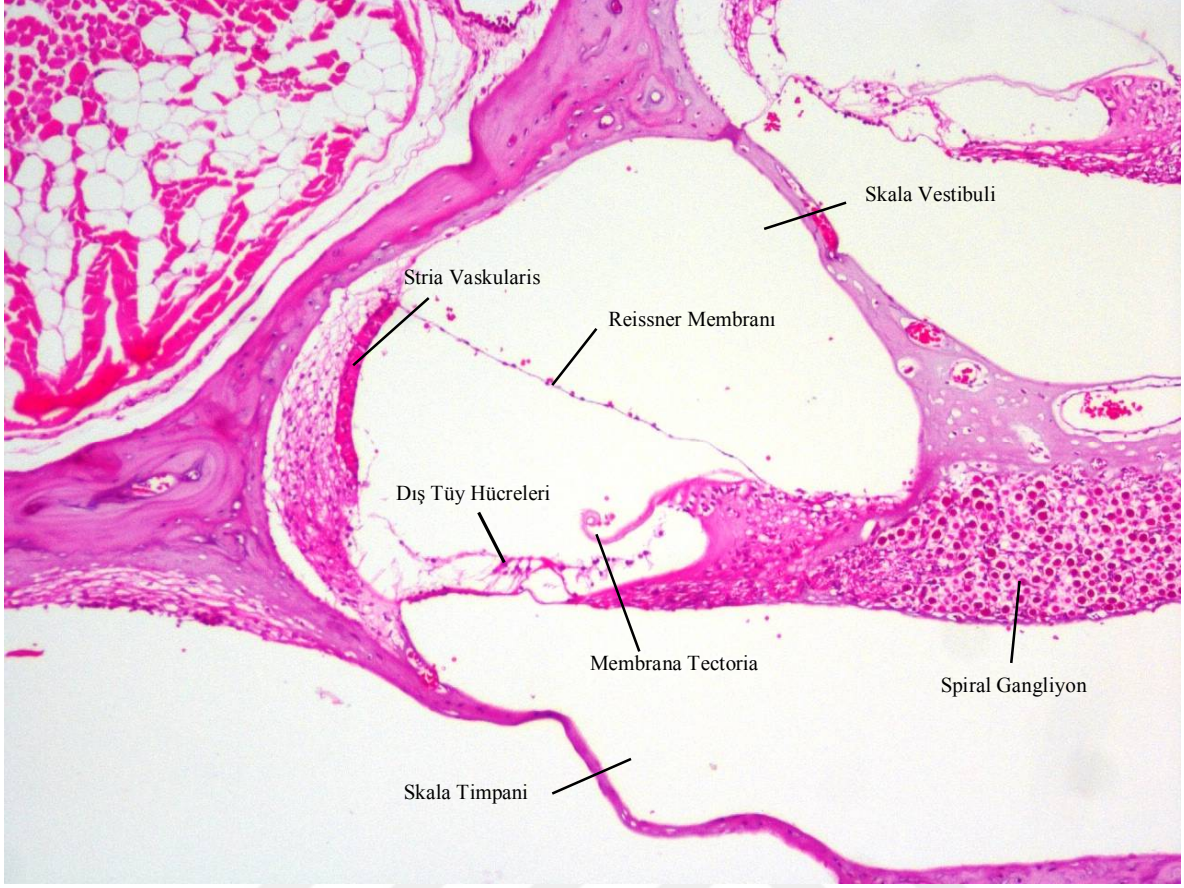
Oleuropein grubu cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün 6244, 12503, 17672, 24990, 35344 Hz frekanslarında oleuropein grubu sonuçları cisplatin grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p < 0,05$).

4.2. Histopatolojik Sonuçlar

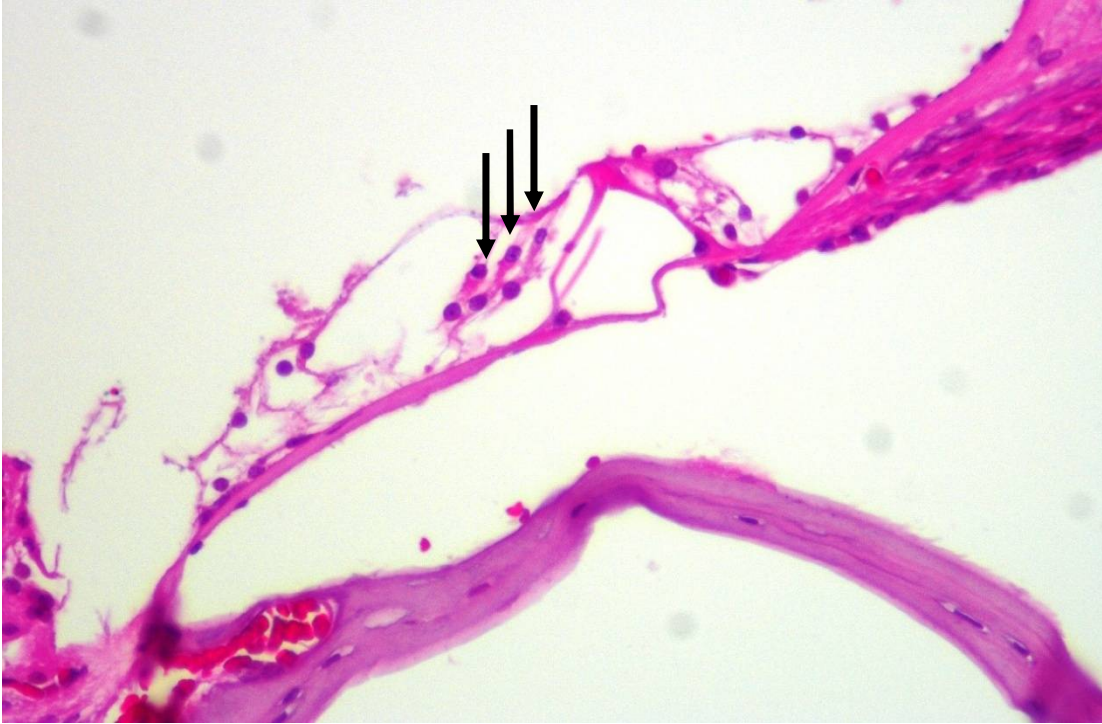
Kontrol grubundan 8, cisplatin ve oleuropein grubundan 7'şer adet olmak üzere toplam 22 hayvanın 44 temporal kemiği çalışmaya dahil edildi. Temporal kemiklerin her birinden koklea diseke edilerek ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Değerlendirme stria vaskülaris, dış tüy hücre ve spiral ganglion üzerinden yapılmış olup Freitas ve ark.(44m) 4 puan skora sistemi kullanılmıştır.

DTH skorlamasında, bütünlüğü korunmuş DTH sayısı kriter olarak alınmıştır. Bütünlüğü korunmuş üç adet DTH varlığında skor 0 olarak belirlenmiştir. Bütünlüğü korunmuş DTH sayısı iki olduğunda skor 1, bir hücre varlığında skor 2 ve hücre yokluğunda skor 3 olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol grubuna dahil toplam 16 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelenmesinde, 2 rat kokleası skor 1 olarak değerlendirilmiştir. 14 rat kokleasında ise skor 0 olarak raporlanmıştır (Tablo 5, Şekil 7)



Şekil 7. Işık mikroskopisinde koklea kesiti (hemotoksilen-eozin x400)

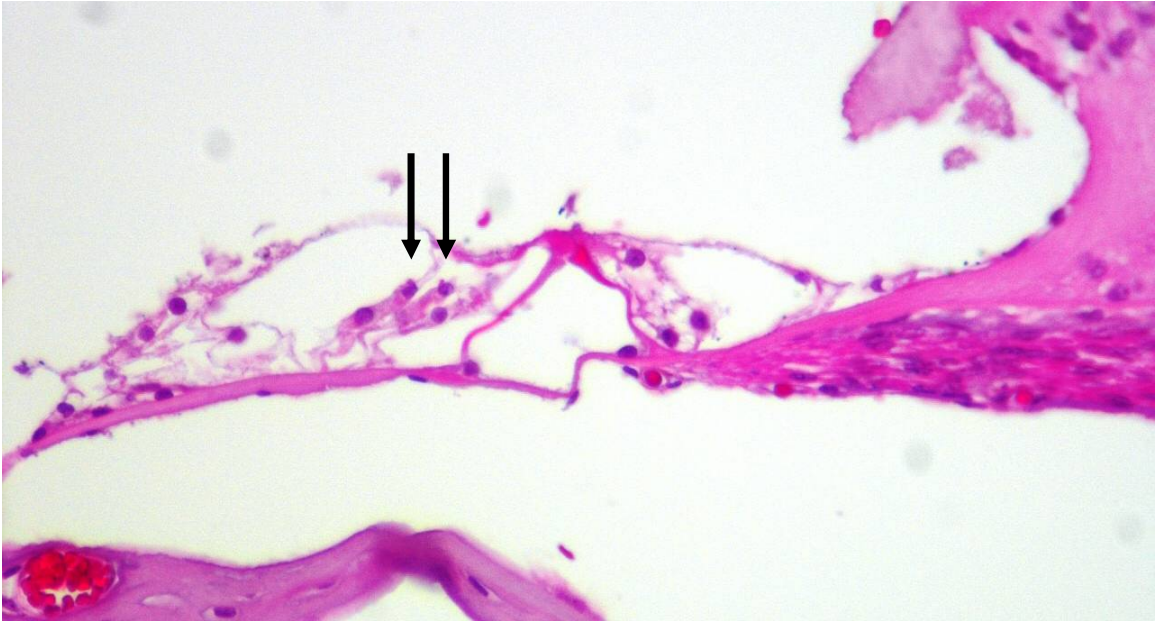


Şekil 8. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait DTH skor 0 (hemotoksilen-eozin x400)

Cisplatin grubunda incelenen toplam 14 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelemesinde, dört koklea skor 1, on koklea ise skor 2 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 5, Şekil 8). Oleuropein grubu olarak belirlenen toplam 14 kokleanın incelemesinde, iki spesmen skor 0, on spesmen skor 1 ve iki spesmen skor 2 olarak belirlenmiştir (Tablo 5, Şekil 9).



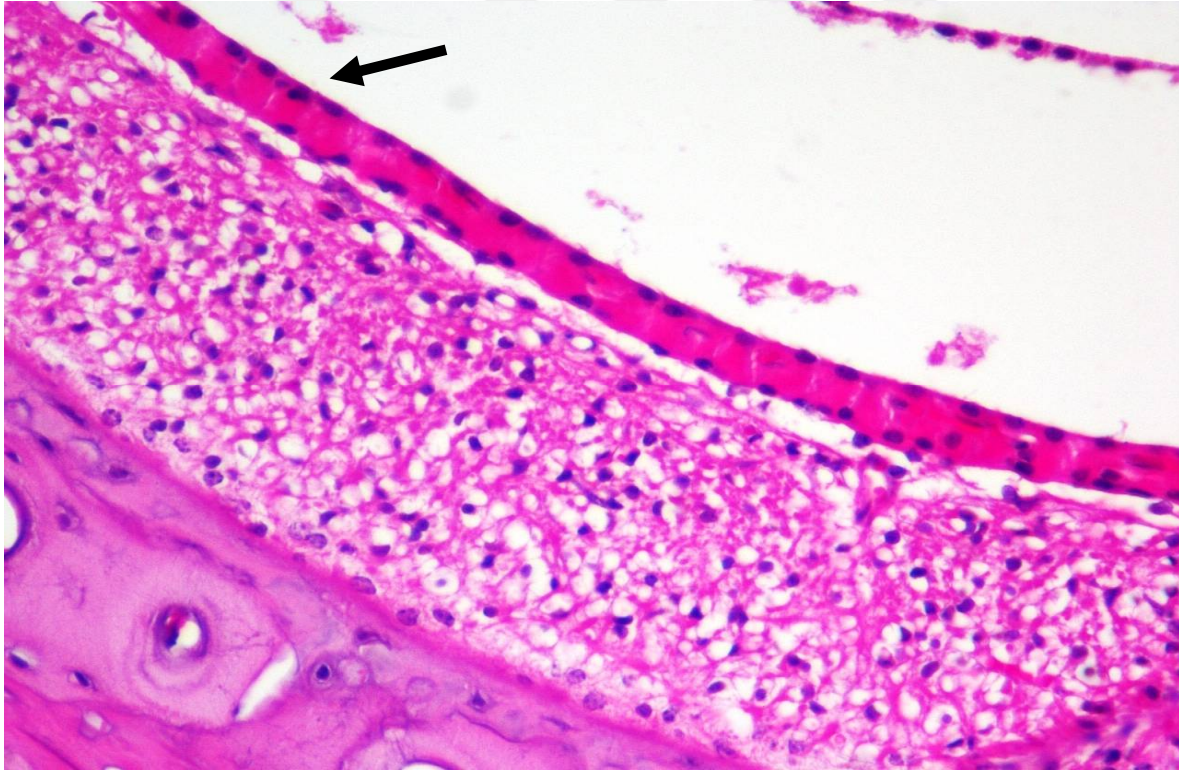
Şekil 9. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait DTH skor 2 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 10. Işık mikroskopisinde oleuropein grubuna ait DTH skor 1 (hemotoksilen-eozin x400)

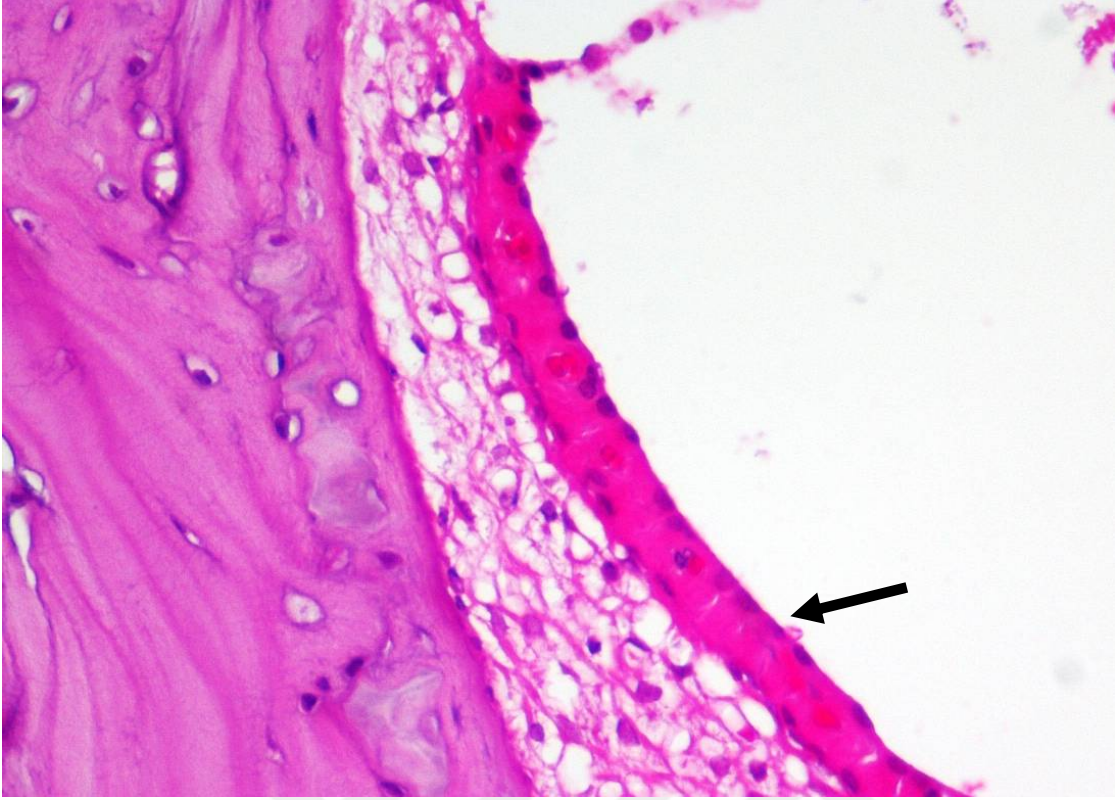
Stria vaskularis skorlamasında stoplazmik vokualizasyon, marjinal hücre kaybı ve intermediat hücre büzulmesine göre derecelendirme yapılmıştır. Büzulme ve sitoplazmik vokualizasyonun olmadığı histolojik görüntüler skor 0 olarak değerlendirilmiştir. Büzulme ve stoplazmik vokualizasyonun hafif derece olması skor 1, orta derece skor 2 ve ciddi derece ise skor 3 olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol grubundaki toplam 16 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelemesinde, 3 rat stria vaskularisinde hafif derecede intermediat hücre büzulmesinin olduğu, sitoplazmik vokualizasyonun olmadığı ve marjinal hücre bütünlüğünün bozulmadığı görülmüştür. (Şekil 11). On üç rat stria vaskularisinde ise intermediat hücrelerde büzulmenin, sitoplazmik vokualizasyonun olmadığı ve marjinal hücre dizisinin korunduğu izlenmiştir (Tablo 5, Şekil 10).

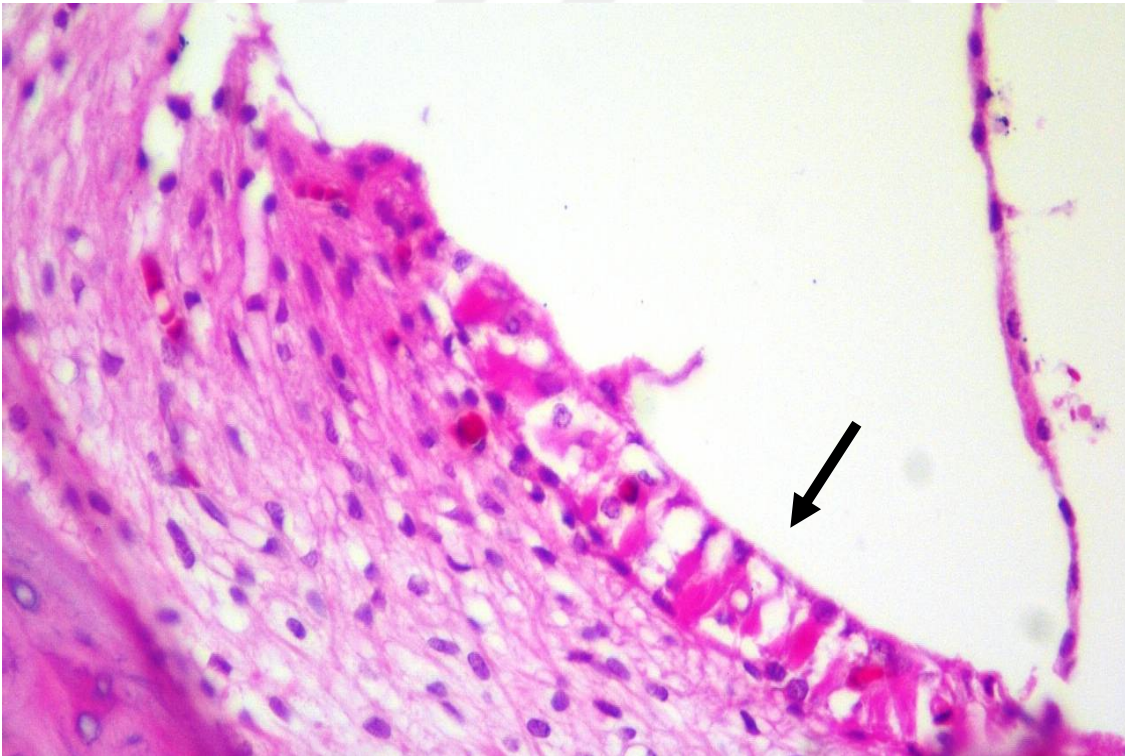


Şekil 11. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 0 (hemotoksilen-eozin x400)

Cisplatin grubuna dahil toplam 14 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelemesinde, 2 rat stria vaskularisi skor 1, 9 rat stria vaskularisi skor 2 ve 3 rat stria vaskularisi skor 3 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 5, Şekil 12).

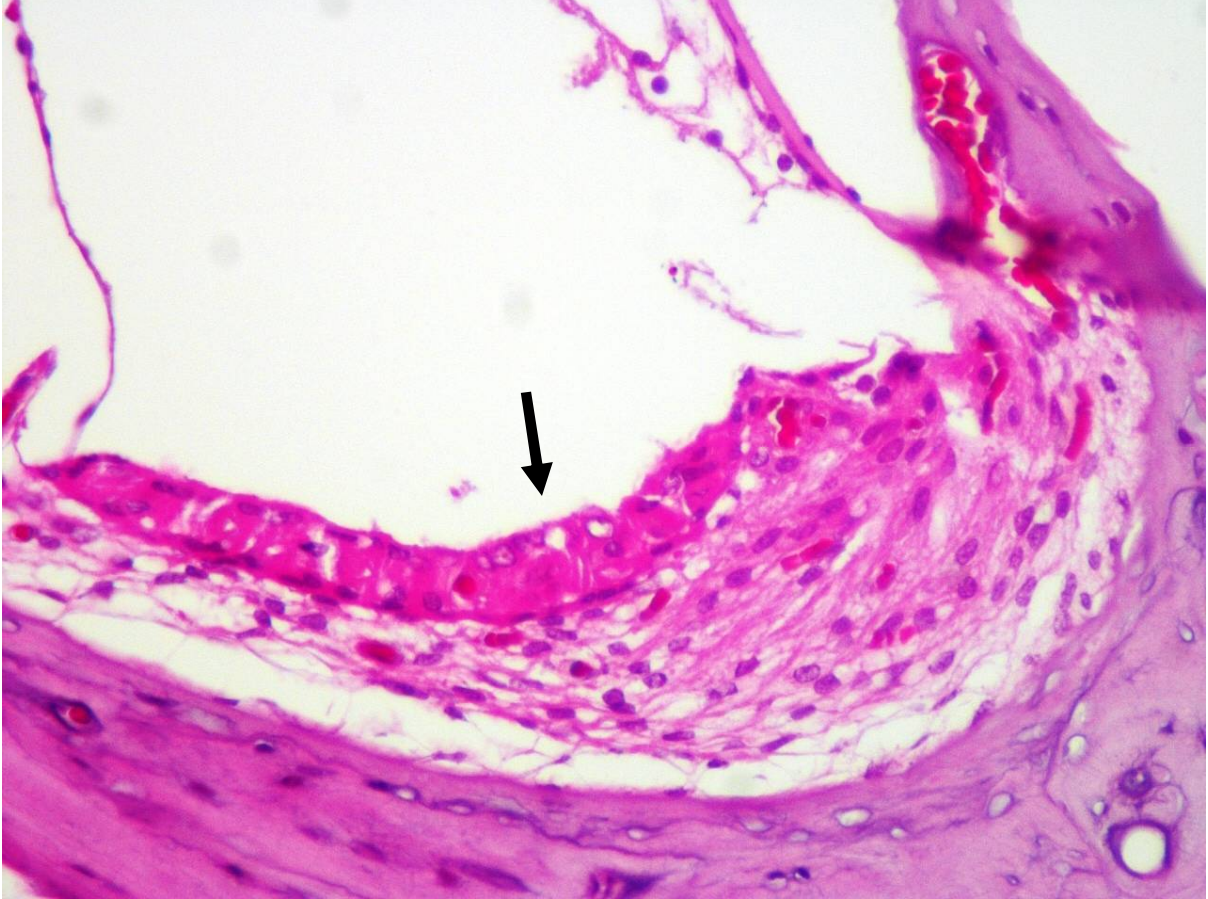


Şekil 12. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 1 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 13. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SV skor 3 (hemotoksilen-eozin x400)

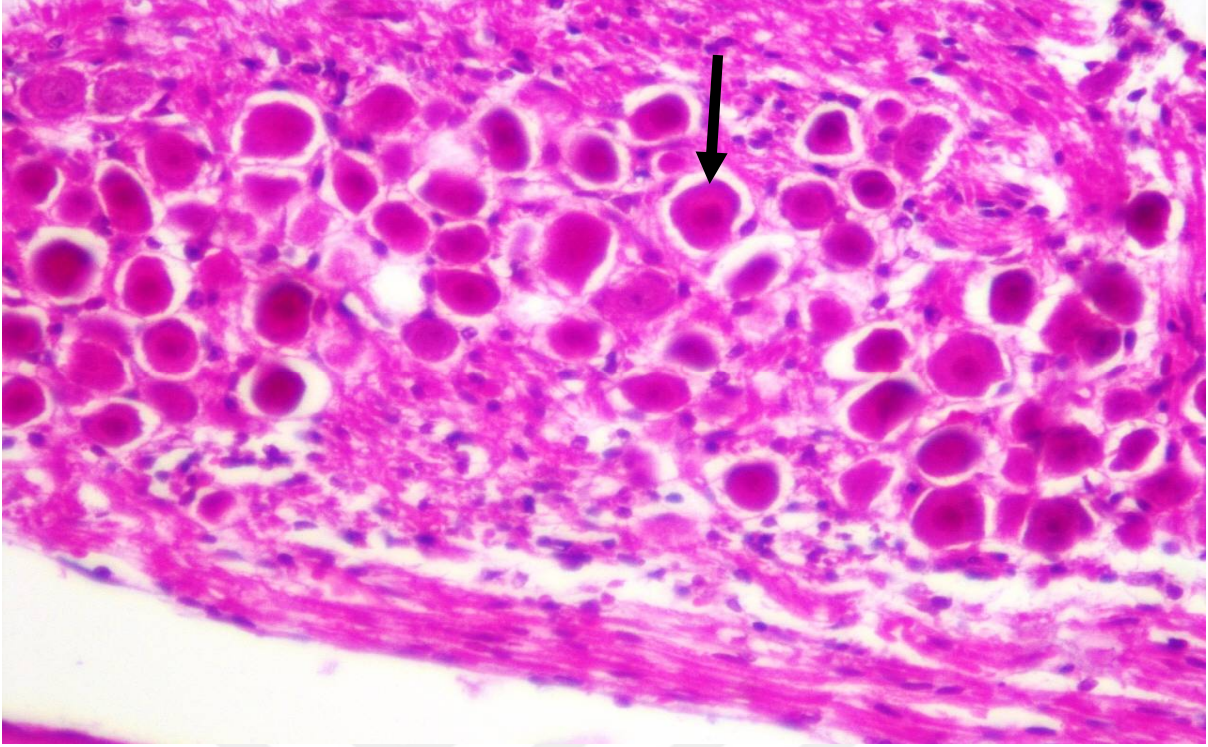
Oleuropein grubu olarak belirlenen 7 rata ait toplam 14 stria vaskularisin incelemesinde, 1 spesmen skor 0, 9 spesmen skor 1 ve 5 spesmen skor 2 olarak raporlanmıştır (Tablo 5, Şekil 13).



Şekil 14. Işık mikroskopisinde oleuropein grubuna ait SV skor 2 (hemotoksilen-eozin x400)

Spiral ganglion skorlamasında nöron dejenerasyonu ve sitoplazmik vokualizasyon değerlendirme kriteri olarak belirlenmiştir. Dejenerasyonun olmadığı durumda skor 0, hafif dejenerasyon varlığında skor 1, orta dejenerasyon varlığında skor 2 ve ciddi dejenerasyon varlığında skor 3 olarak değerlendirilmiştir.

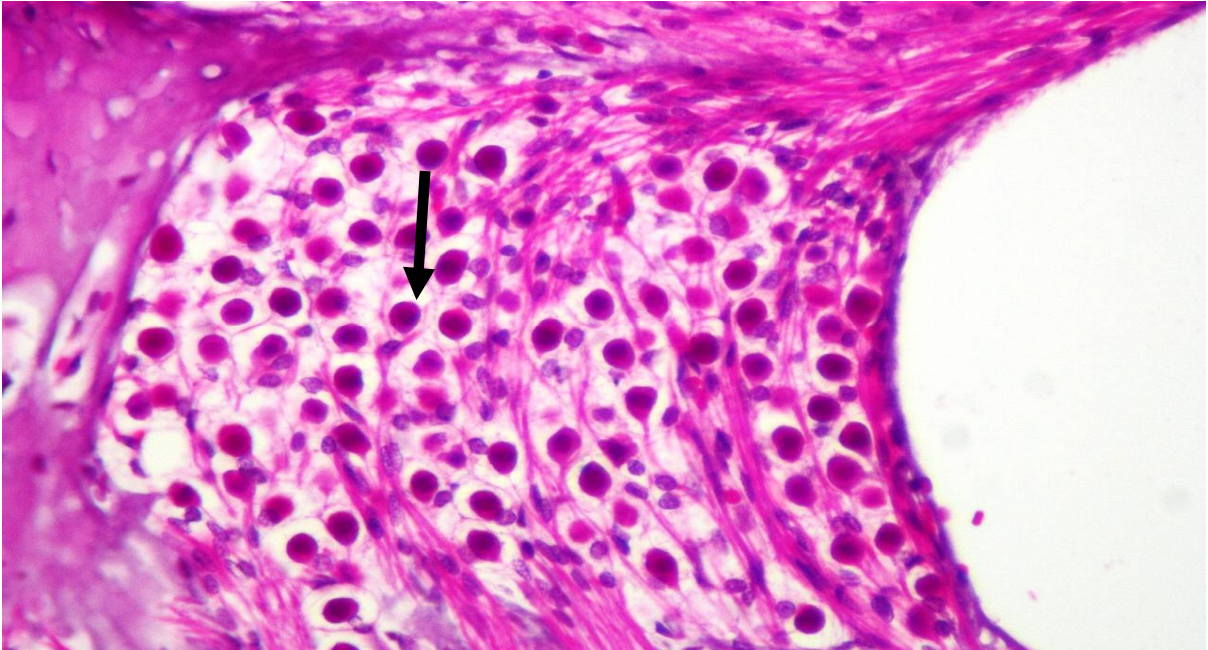
Kontrol grubu olarak belirlenen 16 kokleanın incelemesinde, 4 spesmende hafif derecede nükleer dejenerasyon ve sitoplazmik vokualizasyon izlenmiş olup skor 1 olarak değerlendirilmiştir. 12 rat kokleasında ise sitoplazmik vokualizasyon ve nükleer dejenerasyon saptanmamıştır ve skor 0 olarak raporlanmıştır (Tablo 5).



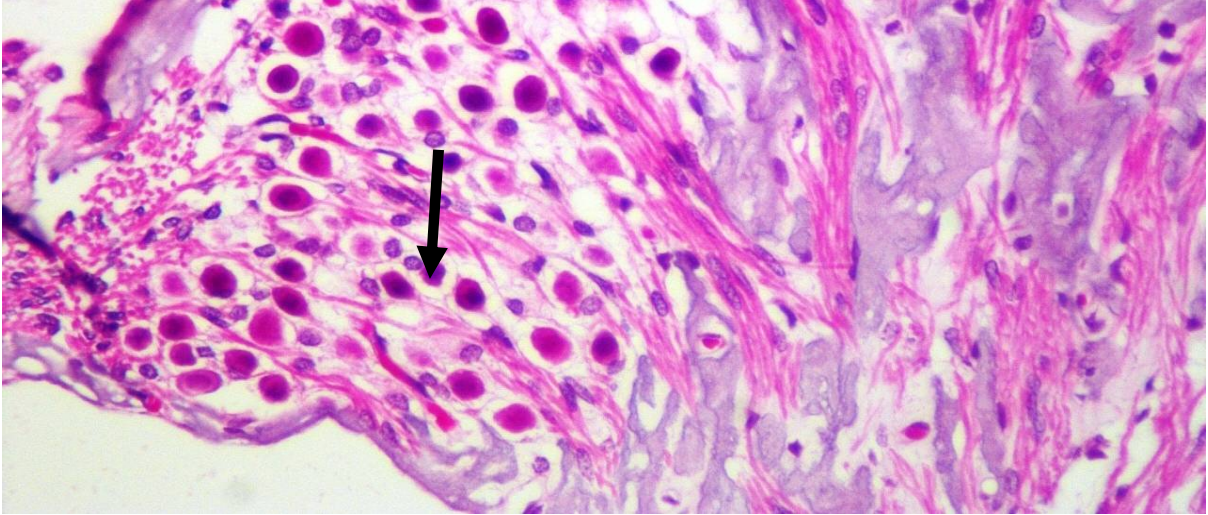
Şekil 15. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SG skor 0 (hemotoksilen-eozin x400)

Cisplatin grubunda incelenen 14 rat kokleasının ışık mikroskobu bakısında iki koklea skor 3, on koklea skor 2 ve iki koklea skor 1 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 5, Şekil 16-17).

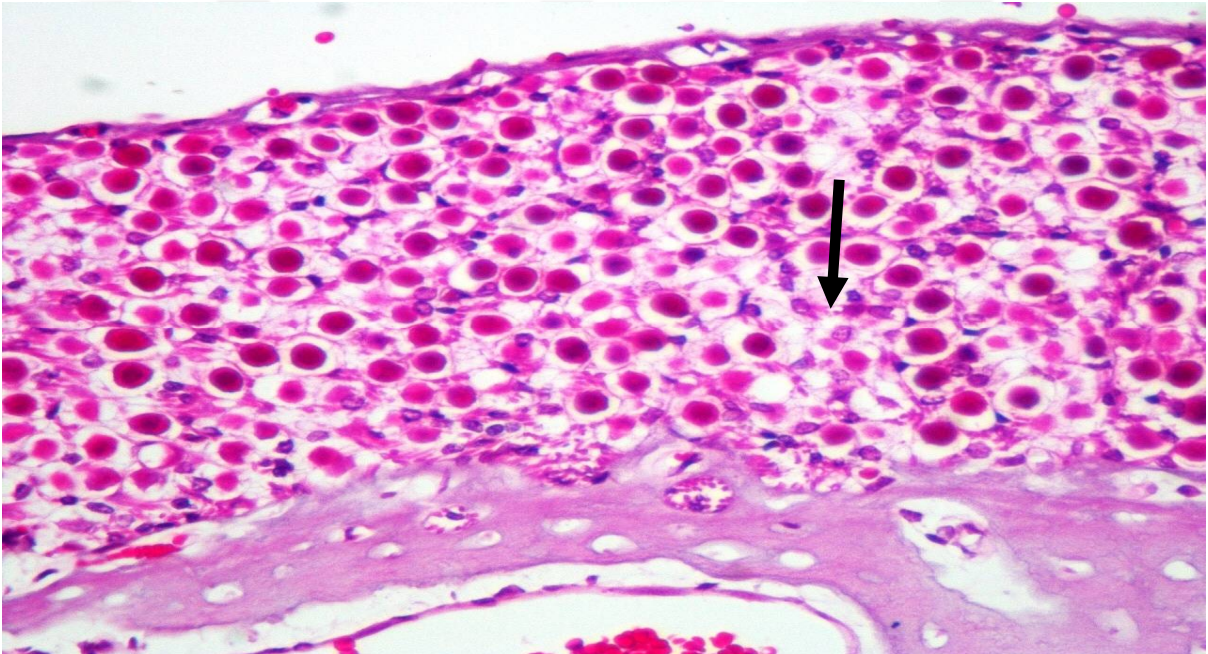
Oleuropein grubuna dahil olan 14 rat kokleasının incelemesinde 3 spesmen skor 2 ve 11 spesmen skor 1 olarak raporlanmıştır (Tablo 5, Şekil 15).



Şekil 16. Işık mikroskopisinde oleuropein grubuna ait SG skor 1 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 17. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SG skor 2 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 18. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SG skor 3 (hemotoksilen-eozin x400)

Cisplatin ototoksitesinde DTH, SV ve SG bölgelerine ait histopatolojik skorlama tablo 5’da gösterilmiştir.

Stria vaskularis histopatolojik skorlamasının istatistiksel analizinde oleuropein ve cisplatin gruplarındaki değişim kontrol grubuna göre anlamlı yüksek izlenmiştir ($p<0,05$). Cisplatin grubundaki değişim oleuropein grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p<0,05$).

DTH istatistiksel analizinde cisplatin ve oleuropein skorları kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Cisplatin grubu skoru oleuropein grubuna göre anlamlı yüksek izlenmiştir ($p<0,05$).

Spiral ganglion skorlamasının istatistiksel analizinde oleuropein ve cisplatin skorları kontrol grubuna göre anlamlı yüksek izlenmiştir ($p<0,05$). Cisplatin grubu skoru oleuropein grubu skoruna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p<0,05$).

Tablo 5.Cisplatin ototoksitesisi histopatolojik sonuçları

GRUP	DTH	SV	SG
KONTROL 1	0	0	1
KONTROL 2	0	0	0
KONTROL 3	0	1	0
KONTROL 4	0	0	0
KONTROL 5	1	0	1
KONTROL 6	0	0	0
KONTROL 7	0	0	0
KONTROL 8	0	0	0
KONTROL 9	1	1	0
KONTROL 10	0	0	0
KONTROL 11	0	0	1
KONTROL 12	0	0	0
KONTROL 13	0	0	0
KONTROL 14	0	1	1
KONTROL 15	0	0	0
KONTROL 16	0	0	0
CİSPLATİN 1	2	2	2
CİSPLATİN 2	1	2	3
CİSPLATİN 3	2	3	2
CİSPLATİN 4	2	1	2
CİSPLATİN 5	2	1	2
CİSPLATİN 6	2	2	2
CİSPLATİN 7	2	3	3
CİSPLATİN 8	2	2	2
CİSPLATİN 9	1	2	1
CİSPLATİN 10	2	3	2
CİSPLATİN 11	1	2	2
CİSPLATİN 12	2	2	1
CİSPLATİN 13	2	2	2
CİSPLATİN 14	1	2	2
OLEUROPEİN 1	1	1	1
OLEUROPEİN 2	2	2	1
OLEUROPEİN 3	1	2	1
OLEUROPEİN 4	1	1	2
OLEUROPEİN 5	1	1	2
OLEUROPEİN 6	1	1	1
OLEUROPEİN 7	1	1	1
OLEUROPEİN 8	0	1	1
OLEUROPEİN 9	1	0	1
OLEUROPEİN 10	1	2	1
OLEUROPEİN 11	1	1	1
OLEUROPEİN 12	2	1	2
OLEUROPEİN 13	1	1	1
OLEUROPEİN 14	1	2	1

DTH: Dış tüy hücresi, SV:Stria vaskülaris, SG: Stria vaskülaris

5. TARTIŞMA

Ototoksisite bir ilaç ya da kimyasal ajanla karşılaşma sonucu koklear ve vestibüler organda meydana gelen hasarlanmaya verilen genel bir isimdir (25). Ototoksik maddelere kullanımıyla sıklıkla işitme kaybı, çınlama, dengesizlik ve baş dönmesi gibi şikayetlerle karşımıza çıkmaktadır. Bunlar arasında en sık ve çoğu zaman da ilk olarak görülen yakınma tinnitustur (25). Olgularda tek taraflı bulgular nadir olmakla birlikte tinnitus ve işitme kaybı genellikle bilateral ve simetriktr.

Kullandığımız bir toksik maddenin ototoksik olduğunun söylenebilmesi için bilateral olarak 250 ile 8000 frekansları arasında en az 10 dB kayba neden olması gerekmektedir (26; 27). Ototoksisiteye maruz kalan hastalarda odyolojik incelemelerle toksik etkilerinin başladığının belirlenmesi, ilacın kesilmesi ya da ilacın değiştirilmesi ve ototoksik etkilerin rehabilitasyonu önemle üzerinde durulması gereken konulardır (28).

Ototoksisite monitorizasyonunda kullanılan yöntemler arasında konvansiyonel saf ses odyometrisi (PTO), yüksek frekans odyometri (HFA), uyarılmış otoakustik emisyonlar ve işitsel uyarılmış potansiyeller (ABR) vardır (76). Bu yöntemlerin birbirlerine karşı üstünlükleri ve dezavantajları bulunmaktadır. HFA ve OAE'nın ototoksisiteyi saptamada PTO'ya göre duyarlılığı ve özgüllüğü daha yüksektir. Knight ve ark. (77) yaptıkları çalışma sonrasında kemoterapotik kullanılan hastalarda HFA ve DPOAE ölçümlerinin işitme fonksiyonlarındaki değişikliği PTO ölçümlerinden daha erken saptadığını bildirmişlerdir.

PTO'nun yüksek frekans sınırının HFA ve OAE'ya göre daha düşük olması kullanımını kısıtlamaktadır (76). Bununla birlikte HFA'nın OAE testine göre ototoksisiteyi daha erken saptadığına dair yayınlar olsa da HFA'nın hasta kooperasyonu gerektirmesi, yüksek frekans ölçümlerinde hasta yakınmalarının olması kullanımında kısıtlamaya neden olmaktadır (76). ABR ve OAE testleri ototoksisite monitorizasyonunda etkin şekilde kullanılmaktadır. Sockalingam ve ark. (78) cisplatin ototoksisitesinin değerlendirilmesinde OAE ve ABR'nin duyarlı bir tanı yöntemi olduğunu belirtmişlerdir. Hatzoupolos ve ark. (79) ototoksisite çalışmalarında genellikle ABR testi kullanılmasına rağmen, ABR yanıtlarının tüm sinir liflerinin integrasyonu sonucu oluştuğunu bundan dolayı ototoksisitede koklear mikromekaniği değerlendirmede OAE'nin daha efektif olacağını savunmuşlardır.

Otoakustik emisyonlar kolay uygulanabilir, hızlı ve girişimsel olmayan bir test olduğu için hasta tarafından daha iyi tolere edilirler. Çocuklar, yaşlılar, ototoksik ilaç kullanan ağır durumdaki hastalar gibi subjektif testler için yeterli uyum gösteremeyen hastaların işitme

fonksiyonunun değerlendirilmesinde OAE'lar özel bir yere sahiptir (56; 60; 61). OAE, dış tüylü hücreleri hedef alan ototoksistide işitme kaybı oluşmadan erken koklear hasarın belirlenmesine olanak sağlar. Bu sayede standart odyometriye göre ototoksik zararı daha önceden belirlemek mümkündür (59).

Otoakustik emisyonlar frekans spesifik olup, kokleada hasar oluştuğunda etkilenen frekans bandına spesifik OAE'lerdeki bozulma hemen kaydedilebilir (80). Brown ve arkadaşları (81), yaptıkları bir hayvan çalışmasında, uzun süreli gentamisin uygulaması sonrası dış kulak kanalından akustik distorsiyonları ölçmüşlerdir. Histopatolojik incelemede ilaç uygulanan ve fonksiyonel değişiklikler gösteren tüm hayvanlarda kokleada dış tüy hücre yapısındaki değişiklikleri saptanmışlardır. Daha da önemlisi distorsiyon değişikliklerini yüzey tüy hücrelerinin yapısındaki değişiklikler görülmeden önce belirlemişlerdir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, ototoksistenin erken aşamalarında Korti organının hassas kısımlarındaki fonksiyonel bozulmaya eşlik eden yapısal değişiklikleri ortaya çıkarmak için OAE ölçümünün gerekli bir yöntem olduğunu ileri sürmüşlerdir (81).

Kim ve arkadaşları (82), bir kulağın test frekansındaki DPOAE seviyesini saf ses duyma eşiğiyle karşılaştırmışlardır. Testin özgünlüğünü 6000 ve 4000 Hz'de %85–89, 2000 Hz'de %82–83 ve 1000 Hz'de %78–79 olarak bulmuşlardır. Koklear fonksiyonların değerlendirmesinde, DPOAE'nin frekansa spesifik özelliği ile yararlı bir objektif test olabileceğini bildirmişlerdir (83). Otoakustik emisyonların bu üstünlükleri göz önünde bulundurularak, çalışmamızda cisplatinin işitme üzerine olan etkilerini değerlendirmede DPOAE ölçümlerinden yararlanılmıştır.

Cisplatinin özellikle yüksek frekanslarda işitme kaybı yaptığı bir çok çalışmada bildirilmiştir. Freitas ve ark. (83) yaptığı çalışmada DPOAE ölçümlerinde 3, 4, 6, 8 kHz frekanslarını değerlendirmişler ve 8 kHz frekansında anlamlı düşmeler gözlenmiştir. Litaretürdeki diğer çalışmalarda değerlendirilen frekanslar 0,5-12 kHz aralığında değişmektedir (59; 83; 84).

Çalışmamızda 2221 Hz ile 35344 Hz frekans aralığında ölçümler yapılmıştır; cisplatin ve oleuropein grubu DPOAE 15. gün ölçümlerinde 1. güne göre özellikle yüksek frekanslarda anlamlı düşüşler saptanmıştır.

Cisplatin daha çok kohleotoksik olup vestibulotoksiste nadiren görülmektedir. İşitme kaybı genellikle bilateral, geri dönüşümsüz ve progresif seyirlidir. Nadiren geçici olabilen işitme eşiği değişiklikleri ve tek taraflı işitme kayıpları da görülmektedir (28; 31). Cisplatin kullanımına bağlı olarak hastaların % 60 - %80'inde işitme eşiklerinde kötüleşme gözlenmektedir (32; 33). Cisplatin kullanan yetişkinlerin ototoksiste nedeniyle % 49 oranında işitme cihazına ihtiyacı olduğu bildirilmektedir (35). Cisplatin ototoksitesi doz, zaman,

veriliş yolu, yaş, cinsiyet, genetik faktörler, tümörün yeri, renal fonksiyon, radyasyon maruziyeti ve önceki işitme kaybı öyküsüne bağlı olarak değişmektedir.

Cisplatin uygulaması sonrası koklear morfolojideki primer değişiklik DTH kaybıdır. Öncelikle bazal kısımda ve üçüncü sıradaki DTH kaybı görülmektedir (39; 40). Koklear tüylü hücre ölümü kokleanın bazal kısmında başlar ve ilaca maruziyetin devamı halinde apikal kısımlara doğru devam eder (41). Cisplatin ototoksisitesinin etkileri, korti organı dışında spiral gangliyon ve stria vaskülariste de izlenmektedir. Spiral gangliyonda myelin kılıfta ayrışma meydana gelir ve bu hasarın zamanı DTH hasarıyla paralellik gösterir (45). Stria vaskülariste izlenen yapısal değişiklik DTH hasarında olduğu gibi bazal kısımdan başlar ve strial ödem ve sitoplazmik organların hasarı ön plandadır (46).

Yapılan çalışmalar öncelikle dış tüylü hücrelerinin ve bunu takip eden yakın zaman aralıklarında spiral ganglion hücrelerinin hasarlandıklarını ortaya koymaktadır (85). Rybak ve arkadaşları cisplatin ototoksisitesinden en çok etkilenen bölgenin dış tüylü hücreleri ve stria vaskülaris olduğunu belirtmektedir (86). Özkırış ve ark.'ın (87) ototoksisite üzerine ratlarda yaptığı çalışmada DTH kaybı, stria vaskülaris ve spiral gangliyon hücrelerinde nükleer dejenerasyon ve sitoplazmik vokualizasyon gözlenmiştir. Freitas ve ark. (83) ratlarda yaptığı çalışmada ışık mikroskopu ile cisplatin ototoksisitesini değerlendirmişler ve kokleada DTH kaybı ve stria vaskülariste intermediat hücrelerde büzülme, marjinal hücrelerde sitoplazmik vokualizasyon, ödem ve atrofi saptamışlardır ancak spiral gangliyon hasarına rastlanmamıştır. Thomas ve arkadaşları platinyum - DNA kompleks birikimlerinin stria vaskülarisin marginal hücrelerinde DTH'ye göre daha fazla birikim yaptığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte cisplatine bağlı hücre hasarında esas hedef hücrenin hangisi olduğu konusunun tartışılması gereken bir konu olduğunu belirtmişlerdir (88).

Histopatolojik değerlendirme amacıyla çalışmamızda maliyet, zaman ve kullanılabilirlik açısından uygun olan ışık mikroskopisi tercih edilmiştir. Değerlendirme parametreleri ise DTH, SV ve SG olarak belirlenmiştir. Cisplatin grubunda yapılan ışık mikroskopisinde DTH sayısının anlamlı derecede düştüğü, SV alanında marginal hücre kaybının ve nükleer dejenerasyonun ciddi olduğu ve SG bölgesinde nöron dejenerasyonu ve sitoplazmik vokualizasyon saptanmıştır. Oleuropein grubundaki histopatolojik hasarlanma cisplatin grubuna göre daha az olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda da cisplatin kullanımı sonrası ışık mikroskopisiyle yapılan değerlendirmede dış tüylü hücrelerde, stria vaskülariste ve spiral gangliyonda hasar olduğu gözlenmiştir.

Cisplatinin neden olduğu sitotoksisitenin ve indüklenen apoptozisin birçok mekanizmanın aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Klasik olarak bilinen mekanizma, platinyum atomları

ile DNA arasında oluşan bağ nedeniyle ortaya çıkan ürünlerin p53 aktivasyonu yaparak apoptozisi aktive etmesidir. Platinyum - DNA ürünlerinin birikimi ilk olarak stria vaskularisin marginal hücrelerinde olmakta, bunun sonucunda K⁺ döngüsünde bozulma ile apoptotik süreç başlamaktadır (47). Ayrıca cisplatin koklea lateral duvarındaki spiral ligamentte bulunan fibrositlerde de K⁺ kanal aktivasyonu yaparak apoptozisi indükler. Böylece K⁺ hücre dışına çıkar, hücre içi K⁺ düzeyleri düşer, bunu kaspaz ve pro-apoptotik nükleazların aktivasyonu izler. Liang ve arkadaşları da zar K⁺ geçirgenliğinin cisplatin etkisiyle iç kulak hücrelerinde görülen apoptozisle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte K⁺ kanal blokerlerinin apoptotik hücre büzülmesini, kaspaz 3 aktivasyonunu, sitokrom c salınımını, DNA'daki ve birçok hücredeki apoptotik morfolojik değişiklikleri önlediğini in vitro olarak saptamışlardır (88).

Cisplatin bir NADPH oksidaz izoformu olan NOX-3 sentezini arttırmaktadır. Bu enzimin kokleada reaktif oksijen ürünleri oluşumunda esas rolü olduğu düşünülmektedir (40). Cisplatin kokleada süperoksid anyonların ve hidrojen peroksidin oluşumuna yol açar. Hidrojen peroksidler de Fe⁺⁺ kullanarak membran poliunsature yağ asitleri ile reaksiyona girecek olan hidroksil radikallerini oluşturmaktadır. Bunun sonucunda koklear dokularda anti-oksidan koruyucu moleküller olan süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz gibi enzim miktarları azalır. Bununla birlikte lipid peroksidasyon indükatörü olan malonildialdehid (MDA), toksik lipid peroksidler ve 4 - hidroksinonenal ve peroksinitrit gibi aldehidler yükselir ve böylece nitrik asid sentaz (iNOS) indüklenir. Bu durum koklear hücrelere Ca⁺⁺ girişine ve apoptozise yol açar (86). Hidroksil radikalleri cisplatin bağımlı DTH dejenerasyonunda ve işitme kaybında kritik rol oynamaktadır (89).

Kelly ve arkadaşları cisplatin sonrası rat koklealarında NO seviyelerinin arttığını saptamışlardır (90). Cisplatin kullanımı sonrası nitrik oksit sentezinin artması da ototoksisitede önemli role sahiptir. Özellikle süperoksit ve nitrik oksit kombinasyonundan oluşan peroksinitrik süper radikali lipid peroksidasyonunu şiddetli bir şekilde uyararak tüylü hücre membran hasarına neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu koklear hücrelere kalsiyum girişini artırarak apoptoza yol açmaktadır (91; 92; 93; 94).

Litaratürde yapılmış çalışmalarda cisplatin dozu ve uygulama sayısının çok değişken olduğu görülmektedir. Cisplatin dozunu Kalcioğlu ve ark. (95) 16 mg/kg, Kuduban ve ark. (96) 5mg/kg, Roldan ve ark. (97) 10mg/kg tek doz olarak uygularken Hughes ve ark. (98) 2-3 mg/kg/gün 5-10 gün süreyle multidoz olarak uygulamışlardır (98). Bizim çalışmamızda, mortaliteye en az yol açacak ve ototoksik etkiyi oluşturacak uygunlukta bir dozu 8 mg/kg/gün şeklinde cisplatin iki gün uygulanmıştır.

Ototoksisitenin ilk bulguları genellikle cisplatin kullanımından 3-4 gün sonra ortaya çıkmaktadır. cisplatin ototoksisitesinin hücresel düzeyde 3. gün başladığı ve 7-10 gün içinde en yüksek düzeye ulaştığı gösterilmiştir (37). Hayvan çalışmalarında ise ototoksik etkinin farklı olarak 5. gün en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. Deney hayvanlarında ise cisplatin ototoksisitesinin OAE ve beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller (BİUP) ile değerlendirilmesi sonucunda; ototoksik etkinin 2. günden sonra ortaya çıktığı, 5. günde maksimuma ulaştığı, 5. gün ile 14. günde elde edilen OAE ve BİUP kayıtları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ve 14. günden sonra ototoksik etkinin değişmediği gösterilmiştir (99). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak deney süresi 15 gün olarak belirlenmiştir.

Cisplatin ototoksisitesindeki patolojiyi belirleyip bu hedefe yönelik tedavi planı oluşturmak için birçok hayvan deneyi çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalarda birçok antioksidan ve sitoprotektif ajan kullanılmıştır. Bu ajanlar arasında N-Asetil Sistein (NAC), sodyum tiosülfat, glutatyon, D ve L-metionin, dietilditiokarbamat, metiltiobenzoik asit, ALA, amifostine, fosfomisin, ebselen, deferoxamine, salisilat, caspase inhibitörleri, bazı nörotropinler, E vitamini, süperoksit dismutaz, alfa melanosit stimulan hormon, adenosin reseptör agonistleri, pantotenik asit, pifithrin, lipoik asit ve melatonin bulunmaktadır (5; 37; 100; 101; 102; 30)

Yapılan çalışmalarda cisplatin ototoksisitesinde sitoprotektif veya antioksidan maddeler sistemik ya da intratimpanik yolla kullanılmıştır. Transtimpanik uygulamada, sitoprotektif ajan diğer organları etkilemeden direk olarak yüksek konsantrasyonda iç kulağa geçer ve sistemik yan etkileri azdır (103). Sistemik kullanımda ise kullanılan maddenin cisplatin ile etkileşime girerek antitümör etkinliğini etkilememesine dikkat edilmelidir.

Campbell ve ark.'nın (104) cisplatin ototoksisitesinde D-metiyonin etkisi araştırdığı çalışmada, ilgili ajanın DTH hasarına, antioksidan enzim azalmasına ve işitme eşik artışlarına karşı anlamlı bir şekilde koruma sağladığı görülmüştür. Yine Campbell ve ark.'nın (105) yaptığı çalışmada düşük doz glutatyon esterinin cisplatin ototoksisitesi üzerinde koruyucu etkisinin görüldüğü ve yüksek dozlarda bu koruyucu etkinin azaldığı belirtilmiştir.

Churc ve ark. (106) kobaylar üzerinde yaptığı çalışmada yüksek doz aminofostinin otoprotektif etkilerini göstermiş, yan etki olarak nörotoksisite geliştiğini bildirmişlerdir.

So ve ark. (107) T- tipi spesifik kalsiyum kanal blokörü olan flurazinin cisplatin toksisitesinde etkinliğini araştırmışlardır. Cisplatinin lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal geçirgenlik artışı gibi toksik etkilerini inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca flurazinin oksidatif strese karşı endojen koruyucu moleküllerin salınımını artırdığı belirtilmiştir.

Rybak ve arkadaşları ratlarda yaptıkları bir çalışmada glutasyon peroksidaz benzeri aktivite gösteren, antioksidan etkisi olan ayrıca lipid peroksidasyonunu da inhibe eden Ebselen ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azaltan bir xanthine oksidaz inhibitörü olan Allopurinol'u cisplatinin ototoksik etkisine karşı protektif ajanlar olarak tek başlarına ve kombine olarak vermişlerdir. Bu ajanların kombine olarak kullanımının tek başlarına kullanımlarına göre daha düşük dozlarda otoprotektif oldukları görülmüş, ABR eşik değerlerinde ve dış tüylü hücrelerde korunma ile doğrulanmıştır (91).

Oleuropeinin antioksidan, antimikrobiyel, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral aktiviteler sergilediği ve daha çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (69; 71).

Mohagheghi ve arkadaşları oleuropein ve zeytin içeriğindeki diğer bileşenlerin nörodejeneratif hastalıklarda da etkili olabileceğini düşünmüş ve yapılan çeşitli çalışmalarda da oleuropeinin beyin ve merkezi sinir sistemi ile ilişkili Alzheimer, Parkinson veya inmede nöronlardaki oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir. Beyin dokusunun mikroskopik incelemelerinde hasarlı beyin dokusunda ve ölen beyin hücreleri oranında oleuropeinin %55'lere varan azalmalara sebep olduğu belirtilmiştir (108).

Oleuropeinin süpeoksit ve hidroksil radikallerine karşı temizleyici rolündedir. Glutasyon sistemini kullanarak antioksidan savunma mekanizmalarını pozitif olarak etkiler. Yapılan çalışmalarda oleuropeinin ve zeytin yaprağı ekstratı içerisinde bulunan polifenollerin hücrelerin oksidasyonuna direnç gösterdiği ve yaşlanmayı geciktirdiği gösterilmiştir (109).

Tutour ve Guedon (75) tarafından yapılan bir çalışmada da oleuropein ve onun metaboliti olan hidroksitirozolün güçlü bir antioksidan olan vitamin E ile etkileri karşılaştırılmış ve antioksidan etkilerinin vitamin E'den daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Ioanna ve arkadaşlarının tavşanlar ile iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine yaptığı çalışmada oleuropein verilen grupta kontrol grubuna göre plazma lipid peroksidasyonunun ve infarkt alanının daha az görüldüğü görülmüştür . Yine yapılan bir çalışmada doksorubisin verilen ratlarda oluşan hepatotoksik etkinin oleuropein verilen grupta AST ve ALT miktarını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (110).

Bizim çalışmamızda literatürde ilk olarak cisplatin ototoksitesinde oleuropein etkisi hem fonksiyonel hem de histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonucu göstermiştir ki; cisplatin kokleada DTH, stria vaskularis ve spiral gangliyon nöronlarında yaygın ototoksik hasar oluşturmaktadır. Meydana gelen bu hasar, elektrofizyolojik olarak DPOAE ölçümlerinde ve histopatolojik olarak ışık mikroskopisinde gösterilmiştir. Cisplatine karşı sitoprotektif ajan olarak oleuropein kullanıldığında, DTH, stria vaskularis ve spiral

gangliyon bölümlerindeki hasar, elektrofizyolojik ve histopatolojik değerlendirmede daha az olduğu istatistiksel olarak ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, çalışmamızda oleuropeinin, cisplatin tedavisinde meydana gelen ototoksik hasara karşı kokleayı koruyucu etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Ancak bu konuda ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



6.SONUÇLAR

Kahramanmaraş Sütçü İmam üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda ratlarda cisplatin ototoksitesinde oleuropein kullanımının protektif etkinliğini, fizyolojik ve histolojik olarak değerlendirdiğimiz çalışma sonucunda;

- 1- Cisplatin uygulanan tüm ratlarda ototoksitesite DPOAE testi ile kanıtlanmıştır.
- 2- Cisplatin uygulanan tüm ratlarda DPOAE ölçümlerinde düşme izlenmiştir. Cisplatin tedavisi ile birlikte oleuropein verilen ratların DPOAE ölçümlerinde, sadece cisplatin kullanılanlara göre daha az düşme tespit edilmiştir.
- 3- Rat koklealarının ışık mikroskopisi ile histopatolojik incelemesinde, oleuropein grubundaki DTH, SV ve SG skorları cisplatin grubundan daha düşük bulunmuştur.
- 4- Çalışmamızdaki DPOAE yanıtlar ve morfolojik bulgular ışığında cisplatin ile indüklenen ototoksitesiteye karşı oleuropeinin koruyucu etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Ancak bu etkiyi destekleyecek birçok deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Alicura TS, Vuralkan E, Sonbay ND, Çalışkan M, Saka C, Beşaltı Ö, Akın İ: Protective Effects of Vitamins E, B and C and L-carnitine in the Prevention Of Cisplatin-Induced Ototoxicity in Rats. The Journal of Laryngology & Otology, 2012;126(5):464-469.
2. Goncalves MS, Silveira AF, Teixeira AR, Hyppolito MA. Mechanisms of cisplatin ototoxicity: theoretical review. J Laryngol Otol 2013; 127(6):536-41. .
3. Schweitzer VG. Cisplatin-induced ototoxicity: the effect of pigmentation and inhibitory agents. Laryngoscope 1993; 103:1-52.
4. Hinojosa R, Riggs LC, Strauss M, Matz GJ. Temporal bone histopathology of cisplatin ototoxicity. Am J Otol 1995; 16(6):731-40.
5. Minami SB, Sha SH, Schacht J. Antioxidant protection in a new animal model of cisplatin-induced ototoxicity. Hear Res 2004; 198(1-2):137-43.
6. Ioanna A, Efstathios K, Emmanuel M, Maria C, Apostolos A, Prokopios M, Aleksios LS, Elli K, Anna TK, Dimitrios TK. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hipolipidemic effect in anesthetized rabbits. The J of Nutrition.
7. Schleuning A. Tinnitus. Ed: I.B, JB, Head and Neck Surgery-Otolaryngology. Lipincott Company, Philedelphia, 1993.
8. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. s.29-102 Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 2002.
9. Donaldson J, Duckert L. Otolaryngology. 3th Edition, Vol 1, pp.23-58, WB Saunders Co, Philadelphia, 1991.
10. Devranoğlu İ. Dış ve Orta Kulak Cerrahisi. s.1-10, Deomed yayıncılık, İstanbul, 2011.
11. Karasalihoğlu A. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 3. Basım, s.3-14, Güneş Kitabevi, Ankara, 2003.
12. Ömür M, Dadaş B. Klinik Baş ve Boyun Anatomisi. Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996;181-213.
13. S. Ö. Temporal kemiğin cerrahi anatomisi. In: M.Gerçeker, editor. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi. p. 3-17, MN medikal ve Nobel tıp kitapevi, Ankara, 2013.

14. Santi PA, Mancini P. Koklear anatomi ve santral işitme yolları (çeviri: F. Karayel).Koç C (Ed). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007:3373-97.
15. Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. Anatomi. Ankara: Güneş Kitapevi; 1997:466-90.
16. Cingi C. Kulak Burun Boğaz Enfeksiyonları. s.9-24. Senk Matbaacılık, Eskişehir, 2008.
17. Ballenger JJ.Ear Anatomy.Ed:D.F. Austin, Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. pp.838-857,Williams-Wlkins, USA, 2009.
18. Gerçeker M MS, Beton S. Koleannın mikroskopik anatomisi. In: M G, editor. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi. p. 17-23, MN medikal ve Nobel tıp kitapevi, Ankara, 2013.
19. Cummings C, Flint P. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Koklear anatomi ve santral işitme yolları. s.3373-3396, Güneş Tıp Kitabevi , Ankara, 2007.
20. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. s.1-71,77-102,143-97. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 1998.
21. Altay B ÜB. İşitme fizyolojisi ve işitme kayıpları. In: M.Gerçeker, editor. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi. p. 23-31. MN medikal ve Nobel tıp kitapevi, Ankara, 2013.
22. Esmer N AM, Karasalihoğlu AR, Saatçi MR. . Kulak anatomisi. Klinik odyoloji. In: N E, editor. p. 14-35. Ankara Özlük Yayınevi, Ankara, 1995.
23. John HM, Waren YA. Anatomy and physiology of hearing. In: Bailey BJ (Ed). Otolaryngol Head Neck Surgery Vo1.2, Philedelphia: JB Lippincott Co; 1993:1441-61.
24. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Crause CJ, Schuller DE, Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Third Edition, Mosby Year Book, Saint Louis, 1998 pp.2803-2826, 2497-2509, 2885-2894.
25. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Cilt 2, s.269-282, Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 2007.
26. Chang KW, Chinosornvatana N. Practical grading system for evaluating cisplatin ototoxicity in children. J Clin Oncol 2010; 28: 1788- 1795.
27. Brock PR, Knight KR, Freyer DR, Campbell KCM, Steyger PS, Blakely BW. Platinum- induced ototoxicity in children: a consensus review on mechanisms,

- predispositions, and protection, Including a new international society of pediatric oncology Boston ototoxicity scale. *J Clin Oncology* 2012; 30: 2408-2417.
28. Akyildiz N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 2,s.415-430, Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara, 2002.
 29. Peyrone M. Ueber die einwirkung des ammoniaks auf platinchlorür. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 1844;51(1):1-29.
 30. Rutka R. Ototoxicity. BC Decker Inc. 2004;50-179.
 31. Strauss M, Towfighi J, Lipton A, Brown B, Lord S, Harvey HA. Cisplatin ototoxicity clinical experience an temporal bone histopatology. *Laryngoscope*. 1983 Dec;93(12):1554-1559.
 32. Blakley BW, Gupta AK, Myers SF, Schwan S. Risk factors for ototoxicity due to cisplatin. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120:541-546.
 33. Laurell G, Jungnelius U. High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *Laryngoscope* 1990;100:724-734.
 34. Kopelman J, Budnick AS, Kramer MB, Sessions RB, Wong GY. Ototoxicity of high-dose cisplatin by bolus administration in patients with advanced cancers and normal hearing *Laryngoscope*. 1988 Aug;98(8 Pt 1):858-864.
 35. Zuur CL, Simis YJ, Lansdaal PE, et al. Risk factors of ototoxicity after cisplatinbased chemo-irradiation in patients with locally advanced head-and-neck cancer: a multivariate analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;68:1320-1325.
 36. Zuur C, Simis Y, Lansdaal P, Rasch C, Tange R, Balm A, et al. Audiometric patterns in ototoxicity of intra-arterial cisplatin chemoradiation in patients with locally advanced head and neck cancer. *Audiology and Neurotology*. 2006;11(5):318-330.
 37. Çakıl B. Deneysel Olarak Oluşturulan Cisplatin Ototoksitesini Önlemede Gingko Biloba Ekstresinin Etkinliğinin DPOAE Testi ile Araştırılması. 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Samsun, 2008.
 38. Biro K, Baki M, Buki B, Nozsek L, Jokuti L. Detection of early ototoxic effect in testicular-cancer patients treated with Cisplatin by transiently evoked otoacoustic emission: a pilot study. *Oncology*. 1997 Sep-Oct;54(5):387-390.
 39. Estrem SA, Babin RW, Ryu JH, Moore KC. Cis- diamminedi-chloroplatinum (II) ototoxicity in the guinea pig. *Otolaryngol Head Neck*. 1981; 89: 638-645.
 40. Watanebe KI, Jinnouchi K, Hess A, Michel O, Baba S, Yagi T. Carboplatin induces less apoptosis in the cochlea of guinea pigs than cisplatin. *Chemotherapy* 2002; 48: 82-87.

41. Laurell G, Bagger- Sjöback D: Dose- dependent inner ear changes after i.v administration of cisplatin. *J Otolaryngol* 1991; 20: 158- 167.
42. Laurell G, Bagger-Sjoberg D. Degeneration of the organ of Corti following intravenous administration of cisplatin. *Acta Otolaryngol* 1991;111:891-898.
43. Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V: Cisplatin Ototoxicity and Protection: Clinical and Experimental Studies. *Tohoku J Exp Med.*2009; 219(3): 177–186.
44. van Ruijven MW, De Groot JC, Smoorenburg GF: Time Sequence of Degeneration Pattern in the Guinea Pig Cochlea During Cisplatin Administration. A Quantitative Histological Study. *Hear Res.*2004; 197: 44–54.
45. van Ruijven MW, de Groot JC, Klis SF, Smoorenburg GF. The cochlear targets of cisplatin: an electrophysiological and morphological time-sequence study. *Hear Res* 2005;205:241-248.
46. Meech RP, Campbell KC, Hughes LP, Rybak LP. A semiquantitative analysis of the effects of cisplatin on the rat stria vascularis. *Hear Res* 1998;124:44-59.
47. Cesares C, Ramirez- Camacho R, Trinidad A, Roldan A, Jorge E, Ramon Garcia-Berrocal J. Reactive oxygen species in apoptosis induced by cisplatin: review of physiopathological mechanisms in animal models. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2012; 269: 2455-2459.
48. Lin E, Lowry SF, Calvano SE: Systemic Response to Injury and Metabolic Support. Brunicaardi FC, Andersen AD, Billiar TR. Editors. *Schwartz's principles of surgery.* pp 3-41. Mc Graw-Hill, New York, 2005.
49. Ertan T, Soran A, Kılıç M: Kan Malondialdehid ve Total Antioksidan Seviyesinin Önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2: 154- 67, 2001.
50. Öncü M. Sıçan Böbrek Dokusunda Klorprifos-etil Toksisitesinde Oksidatif Hasarın Rolü ve Buna C ve E Vitamini Kombinasyonu ve Melatoninin Etkisi: Histolojik ve Biyokimyasal bir Çalışma (uzmanlık tezi). Isparta: S.D.Ü. Tıp Fakültesi, 2000.
51. Kayaalp S. *Tıbbi Farmakoloji.* 9. Basım, Cilt 2,s.1564-7, Hacettepe Taş Yayınevi, Ankara, 2007.
52. Girotti AW: Lipid Hydroperoxide Generation, Turnover, and Effector Action in Biological Systems. *J Lipid Res.* 2000; 39: 1529- 1542.
53. Gutteridge JMC: Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clinical Chemistry.* 1995;41: 1819-1828.
54. Urso ML, Clarkson PM: Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. *Toxicol.*2003; 189: 41-54.

55. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 1978;64:1386-1391.
56. Hall JW, Baer JE, Chase PA, Schwaber MK. Clinical application of otoacoustic emissions: what do we know about factors influencing measurement and analysis? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;110(1):22-38.
57. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1993;14(1):11-22.
58. Kemp DT. Exploring cochlear status with otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatcke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. p.1-47. Thieme Medical Publishers Inc, New York, 2002.
59. Filiz A. Amikasin ototoksisitesinde betaglukan'ın koruyucu etkisinin deney hayvanlarında otoakustik emisyon ile değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Malatya, 2011.
60. Plinkert PK, Bootz F, Vossieck T. Influence of static middle ear pressure on transiently evoked otoacoustic emissions and distortion products. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994;251(2):95-99.
61. Nozza RJ, Sabo DL, Mandel EM. A role for otoacoustic emissions in screening for hearing impairment and middle ear disorders in school-age children. *Ear Hear* 1997;18(3):227-239.
62. Johnson KC. Audiologic assessment of children with suspected hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 2002;35(4):711-732.
63. Bright KE. Spontaneous otoacoustic emissions. In: Robinette MS, Glatcke TJ (Eds). *Otoacoustic Emissions*. 2nd ed. p.74-94. Thieme Medical Publishers Inc, New York, 2002.
64. Özturan O, Lew H, Jerger J. Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. *KBB İhtisas Dergisi* 1994; 2:194-205.
65. Malik, N.S.A. and J.M. Bradford. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in 'Arbequina' olives. *Scientia Hort.* 2006;110: 274-278.
66. Panizzi, L, M.L. Scarpati and G. Oriente. Chemical structure of oleuropein, bitter glucoside of olive with hypotensive activity. *Gazz. Chim. Ital.* 1960; 90: 1449-1485.
67. Winkelhausen, E. R. Pospiech and G. Laufenberg. Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. *Bull. Chem. Techn. Macedonia.* 2005; 24(1): 41-46.

68. Sanchez, J.C, M.A. Alsina, M.K. Herrlein and C. Mestres. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid Polym. Sci.* 2007;285: 1351–1360.
69. Soler-Rivas, C, J.C. Espin and H.J. Wichers. Oleuropein and related compounds. *J. Sci. Food Agric.* 2000; 80: 1013-1023.
70. Visioli, F, S. Bellosta, and C. Galli. Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci.* 1998; 62: 541–546.
71. Owen, R.W, A. Giacosa, W.E. Hull, R. Haubner, G. Würtele, B. Spiegelhalder and H. Bartsch. Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet. Oncol.* 2000; 21: 107–112.
72. Wojcikowski K, Stevenson L, Leach D, et al. Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process. *J Altern Complement Med* 2007;13:103–109.
73. Pieroni A, Heimler D, Pieters L, et al. In vitro anti-complementary activity of flavonoids from olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Pharmazie* 1996; 51:765–768.
74. Petroni A, Blasevich M, Salami M, et al. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res* 1995; 78:151–160.
75. Tutour B, Guedon D. Antioxidative activities of olea europea leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry* 1992; 31 (4) :1173-1178.
76. Durrant J, Campbell K, Fausti SA, Guthrie O, Jacobson G. American Academy of Audiology Position Statement and Clinical Practice Guidelines: Ototoxicity Monitoring 2009;3-9.
77. Knight KR, Kraemer DF, Winter C, Neuwelt EA. Early changes in auditory function as a result of platinum chemotherapy: use of extended high-frequency audiometry and evoked distortion product otoacoustic emissions. *J Clin Oncol* 2007;25:1190-1195.
78. Sockalingam R, Freeman S, Cherny TL, Sohmer H. Effect of high-dose cisplatin on auditory brainstem responses and otoacoustic emissions in laboratory animals. *Am J Otol* 2000;21:521-527.
79. Hatzopoulos S, Di Stefano M, Albertin A, Martini A. Evaluation of cisplatin ototoxicity in a rat animal model. *Ann N Y Acad Sci* 1999;884:211-225.
80. Lafraniere D, Smurzynski J, Jung MS, Leonard G, Kim DO: Otoacoustic Emissions in Full-Term Newborns at Risk for Hearing Loss. *Laryngoscope.* 1993; 103: 1334-1341.

81. Brown AM, McDowell B, Forge A: Acoustic Distortion Products Can Be Used to Monitor the Effects of Chronic Gentamicin Treatment. *Hear Res.* 1989;42: 143–156.
82. Kim DO, Paparello J, Jung MD, Smurzynski J, Sun X: Distortion Product Otoacoustic Emission Test of Sensorineural Hearing Loss: Performance Regarding Sensitivity, Specificity and Receiver Operating Characteristics. *Acta Otolaryngol.*1996; 116: 3–11.
83. Freitas M, Castro BG, DeCJ, Gomes R, Barreto MM, Albuquerque RR. Light microscopy study of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *The Journal of Laryngology & Otology* 2009; 123(06):590-597.
84. Ozturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR. Monitoring of Cisplatin Ototoxicity by Distortion-Product Otoacoustic Emissions. *Auris Nasus Larynx* 1996; 23(1):147-151. .
85. Van Ruijven MWM, de Groot JCMJ, Hendriksen F, Smoorenburg G. Immunohistochemical localization of platinum DNA in the cochlea of cisplatin- treated guinea pigs. *Hear. Res.* 2005; 203: 112- 121.
86. Rybak LP, Whitworth CA, Mukerjea D, et al: Mechanisms of cisplatin- induced ototoxicity and prevention. *Hear Res.* 2007; 226:157- 167.
87. Özkırış M, Kapusuz Z, Karaçavuş S, Saydam L. The effects of lycopene on cisplatin-induced ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2013; 270(12):3027-3033.
88. Thomas JP, Lautermann J, Liedert B, Seller F, Thomale J. High accumulation of platinum- DNA adducts in stria marginal cells of the cochlea is an early event in cisplatin but not in carboplatin ototoxicity. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 23- 29.
89. Lee JE, Nagakawa T, Kita T, Kim TS, Iguchi F, Endo T et al. Mechanisms of apoptosis induced by cisplatin in marginal cells in Mouse stria vascularis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2004; 66: 111- 118.
90. Kelly TC, Whitworth CA, Husain K, Rybak LP. Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. *Hear. Res.* 2003; 186: 10-16.
91. Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Otol Neurotol.* 2000;21:513-520.
92. Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, Butterfield DA. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hear Res* 1996;98:116-124.
93. Dehne N, Lautermann J, Petrat F, Rauen U, De Groot H. Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;174:27-34.

94. Bánfi B, Malgrange B, Knisz J, et al. NOX3, a superoxide-generating NADPH oxidase of the inner ear. *J Biol Chem* 2004;279:46065-46072.
95. Kalcioglu MT, Kizilay A, Gulec M, Karatas E, Iraz M, Akyol O, ve ark. The protective effect of erdosteine against ototoxicity induced by cisplatin in rats. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology and Head & Neck* 2005; 262(10):856-863.
96. Kuduban O, Kucur C, Sener E, Suleyman H, Akcay F. The Role of Thiamine Pyrophosphate in Prevention of Cisplatin Ototoxicity in an Animal Model. *The Scientific World Journal* 2013; 2013:1-5.
97. Roldan FA, Trinidad A, Rodriguez VA, Garcia BJ, Millan I, Coronado M, et al. Effect of intratympanic dimethyl sulphoxide (DMSO) in an in vivo model of cisplatin-related ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2014; 271:3121-3126.
98. Hughes AL, Hussain N, Pafford R, Parham K. Dexamethasone Otoprotection in a Multidose Cisplatin Ototoxicity Mouse Model. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2014; 150(1):115-120.
99. Güneri EA. Kobaylarda Deneysel Olarak Cisplatinle Oluşturulmuş Ototoksisitede Pantotenik Asit Kullanımının OAE ile Değerlendirilmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 1998.*
100. Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otology & Neurotology* 2004; 25(6):910-915.
101. Kanter M, Tarladaçalışır YT, Uygun M. Cisplatin nefrotoksisitesinde E vitamininin koruyucu etkileri: ışık ve elektron mikroskopik çalışma. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2007; 5(3):83-90.
102. Dündar MA. Cisplatinin indüklediği ototoksisite üzerine melatonin ve alfa lipoik asitin etkileri. *Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Konya, 2009.*
103. Light JP, Silverstein H. Transtympanic perfusion: indications and limitations. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 2004; 12(5):378-383.
104. Campbell K, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. The effect of D-methionine on cochlear oxidative state with and without cisplatin administration: mechanisms of otoprotection. *J Am Acad Audiol* 2003;14:144-156.

105. Campbell K, Larsen DL, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. Glutathione ester but not glutathione protects against cisplatin-induced ototoxicity in a rat model. *J Am Acad Audiol* 2003;14:124-133.
106. Church MW, Blakley BW, Burgio DL, Gupta AK. WR-2721 (Amifostine) ameliorates cisplatin-induced hearing loss but causes neurotoxicity in hamsters: dose-dependent effects. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology* 2004; 5(3):227-237.
107. So H, Kim H, Lee J, Lee J, Park S, Park C, et al. Flunarizine induces Nrf2-mediated transcriptional activation of heme oxygenase-1 in protection of auditory cells from cisplatin. *Cell Death & Differentiation* 2006; 13(10):1763-1775.
108. Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasouljan B, Hashemi P. The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. *Phytomedicine* 2011;18(2-3):170-175.
109. Vlahov G, Flavonoids in Three olive (*Olea europaea*) Fruit Varieties During Maturation. *J.Sc.Food.Agric* 1998; 58: 157-159.
110. Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Maria P. Acute doxorubicin carditoxicity is succesfully treated with the phytochemical oleuropein trough suppression of oxidative and nitrosative stres. *Journal of Moleculer and Celllar Cardiology* 2007;42(3):549-558.
111. Brown AM, McDowell B, Forge A: Acoustic Distortion Products Can Be Used to Monitor the Effects of Chronic Gentamicin Treatment. *Hear Res.* 1989;42: 143–156.

8.ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Aksaray'da doğdum. İlköğrenimi TEK İlkokulu'nda, orta öğrenimi Ceyhan İlköğretim okulunda tamamladım. Lise öğrenimimi Nevşehir Fen Lisesi'nde tamamladım. 2005 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yükseköğrenime başlayıp 2011 yılında mezun oldum. Hekimliğe 2011 yılında Aksaray Ortaköy Devlet Hastanesi'nde başladım. 2012 Nisan döneminde girdiğim Tıpta Uzmanlık Sınavı'nda Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak yerleştim. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.

