

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

RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE NİMODİPİN KULLANIMININ
ETKİNLİĞİ

Dr. Mücahit ALTINIŞIK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. İsrail ORHAN

KAHRAMANMARAŞ - 2015

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

RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE NİMODİPİN KULLANIMININ
ETKİNLİĞİ

Dr. Mücahit ALTINIŞIK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. İsrail ORHAN

KAHRAMANMARAŞ - 2015

TEŐEKKÜR

İhtisasım süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, anlayışı ve deneyimi ile eğitimimi yönlendiren, iyi bir hekim olarak yetişmem için gayret sarf eden değerli hocam Sayın Prof. Dr. M. Akif KILIÇ'a

Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik anlamda yetişmemde bana her türlü desteği sağlayan, bilgi ve birikimlerini büyük sabır ve özveriyle aktaran, cerrahi ve teorik bilgilerimin gelişmesinde büyük katkıları olan, tezimin danışmanlığını yapan değerli hocam Sayın Yard. Doç. Dr. İsrail ORHAN'a

Asistanlığım süresince her aşamada her türlü destek, ilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Yard. Doç. Dr. Selman SARICA'ya

Özverili ve itinalı çalışmalarından dolayı Patoloji anabilim dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Harun ÇIRALIK'a,

Eğitimim süresince sevgi ve dostluklarını her zaman hissettiğim, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Ali OKUR, Dr. Mustafa ÇELİK ve Dr. Abdullah ARSLAN'a ,

Yaşamım boyunca sevgi ve desteklerini karşılıksız sunan, bugünlere gelmeme vesile olan anne ve babama,

Tüm mesleki ve özel yaşamımda hep yanımda olan ve hep yanımda olacağına inandığım hayat arkadaşım, sevgili eşim Ayşegül ALTINIŞIK'a,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

K.S.Ü TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Mücahit ALTINIŞIK tarafından hazırlanan Ratlarda Cisplatin Ototoksitesinde Nimodipin Kullanımının Etkinliği adlı bu tezin Tıpta Uzmanlık tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yard. Doç. Dr. İsrail ORHAN

Danışman

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

Başkan : Prof. Dr. M. Akif KILIÇ.....

Üye : Yard. Doç. Dr. İsrail ORHAN.....

Üye : Doç. Dr. Elif BAYSAL.....

Üye : Yard. Doç. Dr. Selman Sarıca

Üye : Yard. Doç. Dr. İdris ALTUN... ..

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Tarih : . . / . . / 2015

DEKAN

Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN

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

RATLARDA CİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE NİMODİPİN KULLANIMININ ETKİNLİĞİ

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. Mücahit ALTINIŞIK

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

MART-2015

ÖZET

Çalışmamızda, ratlarda deneysel olarak cisplatin ile oluşturulan ototoksisiteyi fizyolojik ve histopatolojik olarak belirlemek ve nimodipin kullanımı ile ototoksisitenin azaltılabilir ya da önlenemez olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız otoskopik muayenesi ve işitmesi normal tespit edilen 21 rat üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ratlar randomize olarak 3 gruba ayrılmıştır. Grup 1, sadece intraperitoneal 1 ml/gün salınarak kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Grup 2, bir defa intraperitoneal 12 mg/kg cisplatin verilerek cisplatin grubu olarak belirlenmiştir. Grup 3, bir defa 12 mg/kg cisplatin ve her gün 0,5 mg/kg intraperitoneal nimodipin verilerek nimodipin grubu olarak belirlenmiştir. Ototoksisite 0. gün ve 15. gün DPOAE testi ile takip edilmiştir. Otoakustik emisyon sonuçları 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frekanslarında değerlendirilmiş ve DP gram ölçümleri yapılmıştır. 15. gün sonunda ratların kokleaları diseke edilip 400x ışık mikroskopisi altında incelenmiştir. Histopatolojik değerlendirme stria vaskularis, dış tüy hücre ve spiral ganglion üzerinden yapılmıştır. Freitas ve ark. tarafından tanımlanan cisplatin kaynaklı ototoksisite 4 puan skorlama sistemi yapılmıştır.

Cisplatin grubu 15. gün DPOAE ölçümlerinde 0. güne göre 500, 750, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frekanslarında anlamlı düşme saptanmıştır ($p<0,05$). Nimodipin grubu 15. gün DPOAE sonuçlarında sıfırıncı güne göre 1500, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frekanslarında anlamlı düşme saptanmıştır ($p<0,05$). Stria vaskularis, dış tüy hücre ve spiral

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

Çalışmamızda, literatürde ilk kez cisplatin ototoksitesinde nimodipinin etkinliği hem fizyolojik hem de histolojik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, nimodipinin cisplatin kaynaklı ototoksitede potansiyel etkinliğinin olduğu düşünülmektedir. Ancak bu etkiyi destekleyecek birçok klinik ve deneysel çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler : Cisplatin, Nimodipin, Ototoksosite

Sayfa Adedi : 60

Danışman : Yard. Doç. Dr. İsrail ORHAN

THE EFFECTS OF NIMODIPINE ON CISPLATIN-INDUCED OTOTOXICITY IN RATS

SPECIALIZATION THESIS

MD. Mucahit ALTINISIK

KAHRAMANMARAŞ SUTCU IMAM UNIVERSITY

FACULTY OF MEDICINE

March -2015

ABSTRACT

We aim to determine and observe ototoxicity of experimentally used cisplatin in rats physiologically and histopathologically, also investigate whether reducible or avoidable ototoxicity by injection of nimodipin.

Our studies were carried out on the detected 21 rats that otoscopic and hearing examination was normal. Rats were randomized in 3 groups. Group 1 was determined as control group that only injected 1ml/day saline intraperitoneally. Group 2 was determined as cisplatin group that injected one dose 12mg/kg cisplatin intraperitoneally. Group 3 was determined as nimodipin group that injected one dose 12mg/kg cisplatin and 0,5 mg/kg/day nimodipin intraperitoneally. Ototoxicity was observed with DPOAE examination in 0th and 15th days. Otoacoustic emission results were evaluated at 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frequencies and DP gram measurements were done. End of the 15th day, rats' cochleas were dissected and examined under 400x light microscope. Histopathologic examination was done in stria vascularis, outer hair cell and spiral ganglion. Cisplatin 4 point ototoxicity scoring system, Freitas and his colleagues identified, have been done.

We identified fall off in cisplatin group significantly in 15th day DPOAE measurements according to 0th day at 500, 750, 3000, 4000 Hz, 6000 and 8000 Hz frequencies ($p<0,05$). We identified fall off in nimodipin group significantly in 15th day DPOAE measurements according to 0th day at 1500, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frequencies

($p < 0,05$). Nimodipin and cisplatin scores were significantly higher in stria vascularis, the outer hair cell and spiral ganglion's statistical analysis of histopathological scoring compared to the control group ($p < 0,05$). Cisplatin's score were detected significantly higher than nimodipin's score ($p < 0,05$).

The first time in the literature, nimodipin activity on the cisplatin ototoxicity was evaluated in our study in both physiologically and histologically. According to the results we have obtained, we think nimodipin has potential activities in ototoxicity due to cisplatin. Many more clinical and experimental works are needed to support this effect.

Key Words : Cisplatin, Nimodipine, Ototoxicity

Page Number : 60

Advisor : Ass. Prof. Dr. İsrail ORHAN

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.....	3
2.1. Kulak.....	3
2.1.1. Kulak Anatomisi.....	3
2.1.2. İşitme Fizyolojisi.....	8
2.2. Ototoksisite.....	11
2.2.1. Ototoksisiteye Genel Bakış.....	11
2.2.2. Cisplatin Ototoksisitesi.....	12
2.2.3. Serbest Oksijen Metabolitleri.....	15
2.2.4. Antioksidan Koruma Mekanizmaları.....	16
2.3. Otoakustik Emisyonlar.....	17
2.3.1. Spontan Otoakustik Emisyonlar.....	18
2.3.2. Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar.....	18
2.4. Nimodipin.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. DPOAE	21
3.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	22
3.3. İstatiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. DPOAE Sonuçları.....	24
4.1.1. Kontrol Grubu.....	24
4.1.2. Cisplatin Grubu.....	24
4.1.3. Nimodipin Grubu	25
4.2. Histopatolojik Sonuçlar.....	27

5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇLAR.....	42
7. KAYNAKLAR.....	43
8. ÖZGEÇMİŞ.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

BİUP	: Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller
Ca ⁺²	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CP	: Cis-diaminedichloroplatinium (cisplatin)
dB	: Desibel
DKY	: Dış kulak yolu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPOAE	: Distortion product-evoked otoacoustic emission
DTH	: Dış tüy hücre
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Oksitlenmiş glutasyon
HO ₂ [·]	: Hidroperoksil
Hz	: Hertz
İM	: İntramusküler
İP	: İntraperitoneal
İTH	: İç tüy hücre
MDA	: Malonildialdehit
Ms	: Milisaniye
NAC	: N-asetil sistein

NO	: Nitrikoksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit
OH ⁻	: Hidroksil
OAE	: Otoakustik emisyon
RO	: Alkoksil
ROO	: Peroksil
SFOAE	: Stimulus frekans otoakustik emisyon
SG	: Spiral ganglion
SNIK	: Sensörinöral işitme kaybı
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOM	: Serbest oksijen metabolitleri
SPL	: Ses basınç düzeyi
SV	: Stria vaskularis
TEOAE	: Geçici uyarılmış otoakustik emisyon
TM	: Timpanik membran

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Orta ve iç kulak anatomisi.....	5
Şekil 2. Koklea kesiti.....	6
Şekil 3. Korti organı.....	7
Şekil 4. Nimodipin moleküler formülü.....	19
Şekil 5. Cisplatin grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması.....	25
Şekil 6. Nimodipin grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması.....	26
Şekil 7. CP ve Nimodipin grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması.....	26
Şekil 8. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 0.....	27
Şekil 9. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 1.....	28
Şekil 10. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SV skor 3.....	28
Şekil 11. Işık mikroskopisinde nimodipin grubuna ait SV skor 2.....	29
Şekil 12. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait DTH skor 0.....	29
Şekil 13. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait DTH skor 2.....	30
Şekil 14. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait DTH skor 1.....	31
Şekil 15. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SG skor 0.....	32
Şekil 16. Işık mikroskopisinde nimodipin grubuna ait SG skor 1.....	32
Şekil 17. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SG skor 2.....	33
Şekil 18. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SG skor 3.....	33

Tablo 1. Ototoksik ilaçlar.....	12
Tablo 2. Cisplatinin kokleadaki antioksidan sistem üzerindeki etkisi.....	14
Tablo 3. Kontrol grubu DPOAE değerleri.....	24
Tablo 4. Cisplatin grubu DPOAE değerleri.....	24
Tablo 5. Nimodipin grubu DPOAE değerleri.....	25
Tablo 6. Cisplatin ototoksitesisi histopatolojik sonuçları.....	34

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum II), birçok malign tümör tedavisinde kullanılan yüksek etkili bir kemoterapotiktir. Özellikle testis, over, serviks kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, osteosarkom, özofagus ve baş-boyun kanserleri olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Cisplatin nefrotoksik, ototoksik, nörotoksik ve kemik iliği baskılanması gibi yan etkilerinden dolayı kendi kullanımını sınırlandırmaktadır (1). Nefrotoksik ve diğer yan etkilerini azaltmak için bazı yöntemler varken ototoksisite için henüz etkili bir yöntem yoktur (2).

Cisplatin ototoksisitesi, tedavi edici dozun verilmiş süresine bağlıdır. Tüm dozun aynı günde verildiği olguların %30-86'sında ototoksisitenin oluştuğu, dozun günler içinde verildiği olgularda ise ototoksik etkinin daha az görüldüğü bildirilmiştir (3). Ototoksisite çoğunlukla progresif seyirlidir ve geri dönüşümsüzdür. Yüksek frekanslarda işitme kaybı ile başlayıp daha sonra düşük frekansları da içine alan sensörinöral işitme kaybı (SNİK) oluşturmaktadır (4).

Cisplatin, tümör hücrelerinde doğrudan DNA hasarı ve oksijen radikalleri oluşturup hücreleri apoptozise zorlayarak etkisini gösterir (2). Histopatolojik çalışmalar cisplatin'nin dış ve iç tüy hücrelerini etkilemekle birlikte destek hücrelere, sifria vaskülarise ve spiral ganglionu zarar verdiğini göstermiştir (5, 6). Deneysel çalışmalarda cisplatin'e maruziyet sonrası antioksidan enzimlerin aktivitesinde değişimler olduğu, çeşitli radikal temizleyiciler ve antioksidanların işitme kaybına karşı in vivo koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (7).

Cisplatin esas olarak dış tüy hücrelerde hasarlanmaya neden olduğundan, öncelikle yüksek frekanslarda (4000-8000 Hz) işitme kaybı gözlenmektedir. Son yapılan çalışmalarda objektif bir inceleme olan DPOAE (Distortion product-evoked otoacoustic emission) ile yapılan işitme değerlendirmesinin cisplatin ototoksisitesini saptamada daha hassas olduğu gösterilmiştir. OAE (otoakustik emisyon) kokleanın durumuna karşı yüksek sensitiviteye ve spesifiteye sahiptir (3, 11-13).

Nimodipin ise kan beyin bariyerini hızlı bir şekilde geçebilen lipofilik L-tipi Ca^{+2} kanal blokörü olup inme sonrasındaki nörolojik defisitlerin gerilemesinde kullanılmaktadır (8). Ayrıca nimodipin, beyin damarlarında anti-vazokonstrüktör etkisinden dolayı tinnitus ve meniere tedavisinde kullanılmaktadır (9). Nimodipinin nöroprotektif etkisinin, hücre içerisine fazla miktarda Ca^{+2} girişinin engellemesiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Bu çalışmamızda ratlarda, cisplatin'nin ototoksik etkilerine karşı antioksidan ve nöroprotektif bir ajan olan nimodipin kullanımının etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak

2.1.1. Kulak anatomisi

İşitme ve dengenin periferik organı olan kulak, fonksiyon ve yapısal özellikleri dikkate alınarak 3 kısma ayrılır:

I-Dış kulak

II-Orta kulak

III-İç kulak

2.1.1.1. Dış kulak

Kulak kepçesi ve dış kulak yolu olmak üzere iki kısımda incelenir. Kulak kepçesi ses dalgalarını toplar ve sesin lokalize edilmesinde rol oynar. Kulak kepçesi deri ve perikondrium ile örtülü iç yüzü konkav elastik bir kıkırdaktan meydana gelir. Beslenmesi arteria temporalis superficialis ve arteria occipitalis posteriordan olur. Venöz drenajı ise aynı isimli venlerle sağlanmaktadır. İnervasyonu, V. ve VII. kafa çiftleri ile birlikte C2 ve C3 servikal sinirlerin duysal dalları tarafından sağlanır.

Dış kulak yolu (DKY) kavum konkadan timpanik membran (TM) dış yüzüne kadar olan bölümdür. Hafif "S" şeklinde oblik yerleşim gösterir. Dış kulak yolunun arka üst uzunluğu 25 mm iken ön alt uzunluğu 35 mm'dir (10). Dış kulak yolunun 1/3 dış kısmını kıkırdak doku yaparken 2/3 iç kısmını ise kemik doku yapar. Kıkırdak bölümde özellikle arka ve üst tarafta kalın bir cilt altı yağ dokusu bulunmaktadır. Bu bölgede ter, yağ ve serümen bezleri ile kıl folikülleri bulunmaktadır. Kemik bölümde ise cilt altı yağ dokusu giderek azalır. TM yakınlarında cilt periosta yapışıktır (11).

2.1.1.2. Orta kulak

TM ile kemik labirent arasına yerleşmiş, birbirleri ile ilişkili kanalları ve kulak kemikçiklerini içeren, müköz membranla örtülü havalı bir bölgedir. Vertikal ve anteroposterior çapları 15 mm'dir. Mediolateral uzunluk ise 6 mm iken umbo seviyesinde 2 mm'ye iner (12). Orta kulak anteriorda östaki tüpü yoluyla nazofarenksle, aditus ad antrum ve ismuslar yoluyla mastoid kaviteyle ilişkilidir. Dış kulak yoluna gelen ses dalgalarının iç kulağa taşınmasında rol alır. Orta kulak, TM baz alınarak epitimpanium, mezotimpanium ve hipotimpanium olmak üzere 3 bölümde incelenir. Orta kulak boşluğunun hacmi yaklaşık 2 cc'dir (13). Orta kulak boşluğunun düzensiz yapıda 6 duvarı vardır.

1. Dış (lateral) duvar: Dış duvarı TM ve temporal kemiğin skuamöz parçası meydana getirir. TM yarı saydam, 0.1 mm kalınlığında, uzun çapı 9-10 mm olup kısa çapı 8-9 mm'dir (13). Eliptik ve oblik yerleşimli bu zarın dış yüzünü DKY cilt epiteli, orta bölümünü fibröz tabaka, iç yüzünü orta kulak mukozası oluşturmaktadır (11).
2. İç (labirentin) duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayırır. Kokleanın birinci dönüşüne denk gelen orta kulak kabartması promontoryum olarak adlandırılır. Promontoryum arka-alt kısmındaki yuvarlak pencere ve arka üst kısmındaki oval pencere orta kulak ile iç kulak bağlantısını yapar. Oval pencere üzerine stapes tabanı oturur. Oval pencerenin arkasında fasiyal sinir timpanik bölümünün kabartması vardır. Oval pencerenin üst kısmında ise lateral semisirküler kanal belirginliği göze çarpmaktadır. Promontoryum ön üst tarafında tensör timpani kasının tutunduğu *processus kokleariformis* vardır. *Eminentia pyramidarum* promontoryumun ve oval pencerenin arkasında yer alır. Bu yapının içinde m.stapedius bulunur. M. Stapedius tendonu stapes kemikçığının arka bacağına üst kısmına yapışır (11, 13).
3. Üst duvar: Epitimpanium bölümünün tavanını oluşturan tegmen timpani tarafından sınırlanır.
4. Alt duvar: Hipotimpanium bölümünün tabanını oluşturur. Bulbus vena jugulare ile komşudur.
5. Ön duvar: Üst kısımda tensör timpani kasının yarı açık kanalının kabartması bulunur. Alt kısımda ise östaki tüpünün orta kulağa açıldığı yer vardır. *Canalis caroticus* vertikal parçası en alt bölümde yer alır.
6. Arka duvar: Orta kulağı mastoid boşluktan ayırır. Mastoid hücrelerle orta kulak bağlantısını sağlayan aditus ad antrum arka duvarda bulunur. Aditus ad antrumun hemen altında stapes kası tendonunun geçtiği piramidal çıkıntı (*Eminentia pyramidarum*) yerleşir. Piramidal çıkıntının hemen altında korda timpani orta kulağa girer. Fasiyal sinirin arka duvardaki timpanik parçasının üzerindeki girintiye fasiyal reses denir. Piramidal çıkıntının alt kısmında, fasiyal sinir kanalının altına doğru uzanan girinti, sinüs timpani olarak adlandırılır (13).

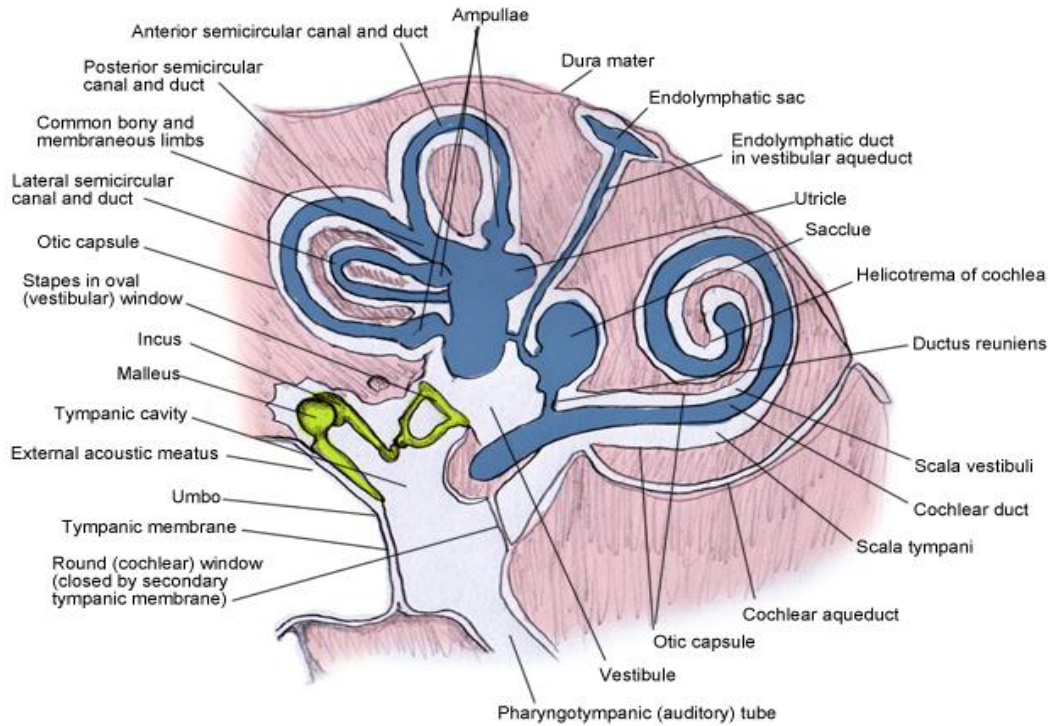
2.1.1.3. İç kulak

İşitme ve denge ile ilgili organların bulunduğu iç kulak, temporal kemik petröz parçasında yer alır (11). İç kulak, yuvarlak ve oval pencereler ile orta kulakla; koklear ve vestibüler aquaduktus ile de intrakraniyal yapılarla ilişkilidir (11, 12). İç kulağın esas yapısı olan membranöz labirent, membranöz endolenf içeren birbirleri ile bağlantılı olmasına karşın

ayrı görevleri olan 3 bölümden meydana gelir. Süperior parça (vestibüler labirent), inferior parça (koklea), endolenfatik kese ve duktustan oluşmaktadır (14).

Vestibüler labirent

Vestibüler labirent semisirküler kanallar, utrikul ve sakkülden oluşmaktadır. Petröz piramid ekseninde birbirine dik olacak şekilde konumlanan semisirküler kanallar, utrikulda başlayıp utrikulda sonlanırlar (14). Semisirküler kanallar superior, posterior ve lateral (horizontal) olmak üzere 3 adettir. Her semisirküler kanal başlangıç yerinde ampulla adı verilen genişleme yapar ve krista adı verilen denge uç organını bulundurur (14). Semisirküler duktuslar, kendilerini çevreleyen periotik boşluk (semisirküler kanallar) içine yerleşir ve yer yer otik kapsülün endosteomuna yapışıktır. Bu kanalların içindeki geriye kalan boşlukta periotik sıvı (perilenf) bulunur. Periotik boşluklar önde birleşerek vestibül adı verilen sakkul ve utrikulu içeren kaviteye açılır (15). Bu kavitenin lateralinde stapes tabanının oturduğu oval pencere yer alır (14).



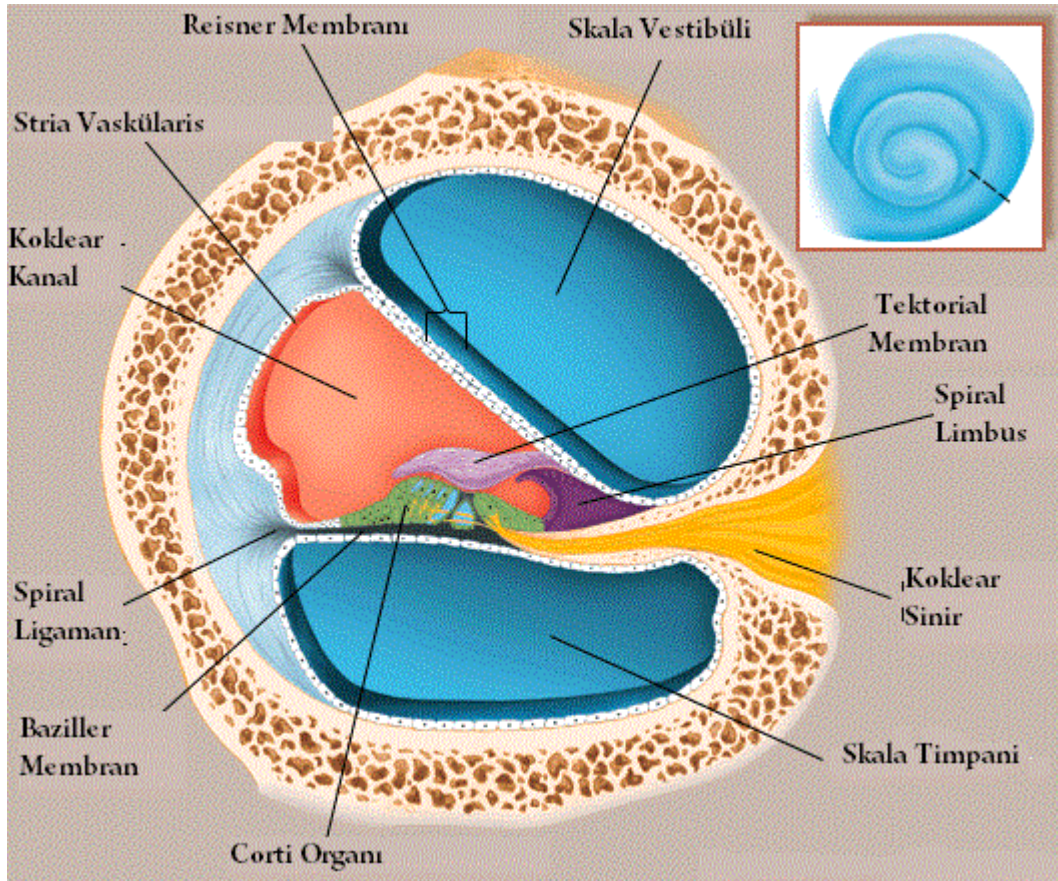
Şekil 1. Orta ve iç kulak anatomisi (16)

Utrikul, makula adı verilen otolitik bir uç organı içerir ve semisirküler kanal sıvı akımı için depo görevi görür. Makula utrikulun tabanında yatay düzlemde konumlanmıştır (14). Sakkul, yapıca utrikula benzer ve makulası dikey konumda medial duvarında bulunur. Sonuç olarak utrikul yatay, sakkul ise dikey hareketleri algılar ve her ikisi de statik dengede görevlidir (15). Duktus utrikularis ile duktus sakkularis birleşerek duktus endolenfatikusunu

oluşturur. Duktus endolenfatikus, akuaduktus vestibuli içerisinde ilerleyerek endolenfatik keseye bağlanır (15).

Koklea

Koklea açıldığında yaklaşık 35 mm uzunluğunda, modiulus denilen spongiöz kemikten yapılmış bir eksen etrafında 2,5 - 2,75 tur dönüş yapan spiral bir yapıdır. Modiulus kokleanın dönüşlerini sınırlar ve ayırır. Sekizinci kranial sinirin auditor parçasının lifleri ve koklear damarlar modiulus içinde taşınır ve kemiksi spiral laminadaki küçük kanallardan ilerleyerek tüylü hücrelerdeki sonlanma noktalarına ulaşırlar. Kemiksi spiral lamina modiulustan dışarıya doğru uzanır ve koklear duktusu merkezde sabitler. Kemiksi spiral lamina ve bu bölgeden otik kapsüle uzanan spiral ligaman ve reissner membranı kemik kokleayı 3 kanala böler (15, 17).



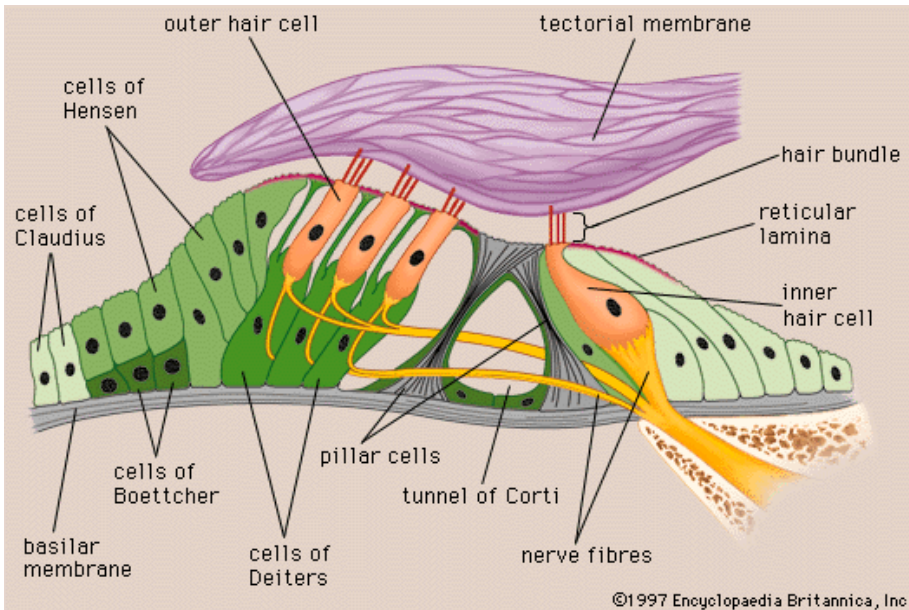
Şekil 2. Koklea kesiti.

Skala vestibuli, oval pencere seviyesinden başlar ve koklea apeksine kadar uzanır. Skala timpani ise bazalde yer alır ve ince bir membranla örtülü olan yuvarlak pencere ile sonlanır. Skala timpani kemiksi bir kanal olan akuaduktus koklea aracılığıyla subaraknoid boşlukla ilişkilidir. Perilenf ile beyin omurilik sıvısı (BOS) arasında madde geçişi bu kanal ile

sağlanır (17). Skala timpani ve skala vestibuli perilenf içerir. Skala vestibuli, helikotrema denilen dar bir kanalla skala timpaniyle ilişkilidir. Skala timpani ve skala vestibuli arasında endolenf içeren skala media (koklear duktus) yer alır (11).

Skala media, üçgen şeklinde fibröz bir bant aracılığıyla kemiksi spiral laminadaki dar bir tutunma yerinden otik kapsülün dışındaki geniş tutunma yerine doğru uzanan yapıdır. (15) Skala media vestibulumdaki koklear resesten başlayıp koklear apekte kör bir uç olarak sonlanır. Reissner membranı, iki kat epitelden oluşan, skala medianın üst sınırını oluşturan ve skala mediyı skala vestibuliden ayıran membrandır (15, 17). Reissner membranı medialde spiral limbusun modiolar yüzüne, lateralde spiral ligamana tutunur (11). Baziller membran ise skala mediyı skala timpaniden ayırır. Baziller membran uzunluğu yaklaşık 31.5 mm olup genişliği bazal turdan başlayıp apikale doğru artar. Cladius, boettcher, hensen, deiters gibi destek hücreler, sütun (pillar) hücreler, dış tüylü hücreler, iç tüylü hücreler, iç sulcus, spiral limbustaki interdental hücreler ve tektorial membran baziller membranı oluşturur (11). Duktus koklearis, kokleanın spiral kanalı boyunca uzanır. Duktus koklearisin tabanını baziller membran, dış duvarını spiral ligament üzerinde bulunan stria vaskularis, üst duvarını ise reissner membranı oluşturur (11, 15).

Korti organı işitme fonksiyonunda görev alan en önemli yapıdır. Perilenfteki mekanik titreşimleri sinir liflerini uyaran elektriksel uyarılara çevirir. Korti organı dıştan içe doğru şu yapılardan oluşur: Hensen hücreleri, dış korti tüneli, DTH dizisi, deiters hücreleri, nuel aralıkları, pillar hücreleri, iç tüylü hücreler, iç parmaklı hücreler, iç sınır hücreleri (11). Hensen hücreler, deiters hücreler ve pillar hücreler destek hücreler olup duyu hücreleri ise tek sıra halinde iç tüylü hücreler (İTH) ve üç ile beş sıra halinde dış tüylü hücrelerdir (11).



Şekil 3. Korti organı.

Korti organı yaklaşık 15500 tüylü içerir ve bunlar yaklaşık 3500 iç tüylü hücre ve 12500 dış tüylü hücre olarak sınıflanırlar (15). Dış tüylü ve iç tüylü hücrelerin apikal kısmında aktin içeren sterosilyalar bulunur. Bazal turdan apikal tura doğru gidildikçe sterosilyaların uzunlukları artmaktadır (11). Dış tüylü hücrelerin her birisinde altı veya yedi dizi sterosilya bulunur. Bu sterosilyalardan en uzun tectoriyal membranın alt ucuyla ilişkilidir. İç tüylü hücrelerdeki sterosilyaların ise tectorial membran ile bağlantıları yoktur (11). İç tüylü hücreler afferent sistem ile ilişkililiken dış tüylü hücreler efferent sistem ile ilişkilidir (14).

Dış tüylü hücreler apikal ya da bazal uçlarından deiters hücrelerine ve bunların parmaksı çıkıntılarına bağlıdırlar. Silindirik ya da testi biçimindedirler. Apekte doğru gidildikçe boyları artmaktadır. Deiters hücreleri uzantıları dış tüylü hücrelerin dış ve yan taraflarına bağlanır. Dış tüylü hücrelerin tabanları geniş veziküller içeren sinir lifleri ile örtülmüştür (11).

İç tüylü hücreler bazı özellikleri ile dış tüylü hücrelerden farklıdır. İTH, yapıcı vestibüler hücrelere benzerler. Hücre çekirdekleri yuvarlak ve hücrenin merkezindedir. Hücrelerin taban kısımlarında birçok nöron sonlanmaları bulunur (11).

İç ve dış tüylü hücreler hem afferent hem de efferent sinir liflerine sahiptirler. Afferent liflerin yaklaşık %90 iç tüylü hücreler ile sinaps yapar. Bunlar Tip 1 nöronlardır (11). Dış tüylü hücreler ise Tip 2 nöronlar ile sinaps yapar. Her bir Tip 2 nöron 10 tane dış tüylü hücreyi uyarır (11). İç ve dış tüylü hücreleri uyaran sinir lifleri spiral ganglionda bulunur. Miyelinli afferent ve efferent sinir lifleri lamina spiralis osseayı radyal olarak geçerler ve spiral laminadan çıkarken miyelin kılıflarını kaybederler (11, 12).

İç kulağın kanlanması labirentin arter tarafından sağlanır. Labirentin arter genellikle *arteria cerebelli antero-inferior*'dan kaynaklanır. Ancak, direkt olarak baziler arterden hatta vertebral arterden de kaynaklanabilir (18).

2.1.2. İşitme fizyolojisi

Kulak kepçesinin topladığı ses enerjisinin, kulağın fonksiyonel kısımlarında değişikliklere uğradıktan sonra, aksiyon potansiyelleri olarak beyine gönderilip burada ses halinde yorumlanması olayına işitme denir (18). Dış kulak, orta kulak, iç kulak, merkezi işitme yolları ve işitme merkezi işitme sisteminin parçalarıdır (11).

Normal bir işitme için;

- İletim sistemi (conduction): İşitmenin olabilmesi için ses dalgalarının atmosferden korti organına iletilmesi gerekmektedir. Bu olay tamamen sesin kendi mekanik enerjisi ile oluşan bir durumdur (11).
- Dönüşüm (transdüksiyon): Mekanik enerji olan ses korti organındaki tüylü hücrelerde biyokimyasal tepkimeler ile aksiyon potansiyeline dönüştürülür (11).
- Uyarının taşınması (neural coding): İç ve dış tüylü hücrelerde oluşan elektrik akımı kendisi ile ilgili nöron liflerini uyarır. Oluşan enerji frekans ve şiddetine göre korti organında kodlanır. Oluşan elektriksel potansiyeller üst merkezlere nöron lifleri boyunca iletilir (11).
- Kortikal yorumlama (cognition): Koklear çekirdeklerden işitme merkezlerine gelen sinir iletimleri birleştirilir ve yorumlanır (11).

2.1.2.1. Dış kulak yolu fizyolojisi

Kulak kepçesi, konumu ve şekli ile çevredeki sesleri toplamayı ve dış kulak yoluna iletmeyi sağlar (11). Başın yönüne göre yaklaşık 135 derecelik alandaki tüm sesleri toplar. Konka ise bir megafon görevi yapar ve ses dalgalarını DKY’de yoğunlaştırır (11). Sonuç olarak kulak kepçesi ses dalgalarının şiddetini altı desibel (dB) artırır. DKY sesleri sadece yönlendirmez aynı zamanda sesin şiddetini artırır. Bu şiddetlenme 3500-4000 Hz frekansta maksimum olmakta ve 15-20 dB civarındadır (11).

2.1.2.2. Orta kulak fizyolojisi

Orta kulak, DKY’ye iletilen ses dalgalarının iç kulağa taşınmasında ve şiddetli ses dalgalarından iç kulağı korumada görev alır (13). Atmosferdeki ses dalgaları gaz ortamından sıvı ortama aktarılır. Gaz ortamından sıvı ortama aktarılırken enerjinin bir kısmı geri döner, bir kısmı ise sıvı ortama yani perilenfe geçer. Hava ortamından gelen ses enerjisinin sıvı ortama geçerken kaybettiği enerji, logaritmik olarak yaklaşık 30 dB’dir (11, 13). Orta kulak, bu enerji kaybını sesin şiddetini artırarak telafi eder (13). Bu etkinin oluşmasında 3 temel mekanizma rol oynar. Bunlar;

- 1) Timpanik membranın kaldıraç 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 ve ses enerjisi manibrium malleide toplanır, bir nevi amplifiye edilir (11). Ayrıca inkusun uzun kolu ile umbo ve processus brevisin birbirine oranı sistemin artırıcı etkisini sağlar. 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 tekrar şiddet kazanır (13). Yüzeyler arasındaki orana göre güç kazanımı logaritmik değerlere göre 26 dB olarak hesaplanmıştır (13). Ayrıca kemikçiklerin manivela hareketi yaklaşık 2.5 dB artış sağlar. Yuvarlak ve oval pencereler arasındaki faz farkı sayesinde ise yaklaşık 2.5 dB kazanç sağlanır (13). Orta kulakta bulunan *M. Tensor timpani* ve *M. Stapedius kasları* ses uyarıları ile harekete geçerek, gürültüye karşı iç kulağı korumaktadır (13).

2.1.2.3 İç kulak fizyolojisi

Dış kulak yolundaki hava iç kulağa 2 şekilde iletilir;

- Birinci yol; DKY'deki hava TM'ye iletdikten sonra kemikçik zincir yolu ile oval pencereye aktarılır.
- İkinci yol; dış kulak kanalındaki hava kulak zarını titreştirir ve bu titreşimler direk yuvarlak pencereye ulaşır.

Kemikçik zincir ile oval pencereye aktarılan ses hem hızlıdır hem de enerjisi fazladır (11). Oval ve yuvarlak pencerelere aktarılan iki ayrı ses enerjisi arasında iletim hızının farklı olması yüzünden faz farkı oluşur. Bu faz farkı sonucu, ses dalgalarının perilenfe aktarılması ile perilenf hareketlenir ve baziller membranda titreşimler meydana gelir (11, 18). Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar ulaşır. Bekesy, bu harekete gezinen dalga "travelling wave" olarak isimlendirmiştir. Bu dalganın özelliği amplitüdün giderek artması ve titreşimlerin belli bir bölgede en yüksek amplitüde eriştikten sonra aniden bitmesidir (13). İletim dalgası baziller membran üzerinde uyarının taşıdığı frekansa uyan bölgede en yüksek amplitüde erişir ve bu bölgeyi titreştirerek fibrilleri uyarır. Kokleaya ulaşan titreşimler, iç kulak sıvılarında oval pencereden yuvarlak pencereye doğru bir hareket oluşturur (13). Kokleadaki baziller membranın bazale yakın kısmı ince, kısa ve gergindir. Tepeye yakın yeri ise kalın, uzun ve gevşektir. Bu sebeple baziller membranın taban kısmı en yüksek frekanslarda, apikal kısmı ise en alçak frekanslarda uyarılır (11).

Korti organının iç ve dış tüylü hücreleri, akustik enerjinin nöral enerjiye çevrilmesinde büyük role sahiptir (18). Dönüşüm olayının meydana gelişinde tüylü hücre ve sterosilya işbirliğinin rolü olduğu herkes tarafından kabul edilmektedir. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Bu kanallar sterosilyaların hareketleri ile açılır veya kapanırlar. Sterosilyalar ise baziller membran hareketleri ile hareketlenir. Sonuçta, baziller membran hareketleri elektriksel akıma dönüşmüş olur ve kendileri ile ilişkili olan afferent sinir liflerine bu elektriksel potansiyel aktarılır (18). Ses uyarıları, taşıdıkları frekanslara

göre beyinde değişik yerlerde yorumlanırlar. Yüksek tonlar işitsel merkezin derinliklerinde, düşük tonlar ise yüzeylede sonlanırlar (13).

2.2.Ototoksisite

2.2.1. Ototoksisiteye genel bakış

Ototoksisite çeşitli ilaçlara ve kimyasal maddelere maruz kalma sonucu koklear ve vestibüler sistemde ortaya çıkan hasarlanmaya verilen genel bir tanımlamadır (19). Sistemik, oral hatta topikal ilaç kullanımıyla dahi iç kulakta ototoksisite için yeterli konsantrasyona ulaşılabilir (20). Ototoksisiteye maruz kalan hastaların takibinde, odyolojik incelemelerle toksik etkilerinin başladığının saptanması, ilacın kesilmesi ya da ilacın değiştirilmesi ve ototoksik etkilerin rehabilitasyonu gibi durumlar üzerinde önemle durulması gereken konulardır (20).

İlaçlara bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir. Genellikle en sık görülen semptom tinnitustur. Tinnitus çoğunlukla yüksek frekanlarda ve 4-6 kHz aralığında değişmektedir (19). Kullanılan bir toksik maddenin ototoksik olduğunun söylenebilmesi için kriter, bilateral 250 ile 8000 frekansları arasında en az 10 dB kayba neden olmasıdır (20). İşitme kaybı ve tinnitus genellikle bilateral ve simetriktir. Ancak, tek taraflı bulgular ile nadir de olsa karşılaşılabılır. Vestibüler sistem bozukluğu sıklıkla kendisini dengesizlik olarak gösterir. Hastalar diziness veya denge kaybından şikayetçidir. Vestibüler semptomlar, tam vestibüler hasar olmadıkça, santral kompensatuvar mekanizmalarla zamanla azalır (19).

Böbrek ya da karaciğer yetmezliğinde, bağışıklık sistemi yetersiz kişilerde, yaşlı hastalarda, daha önce ototoksisite ortaya çıkmış olgularda, birden fazla ototoksik ilacın bir arada kullanıldığı hastalarda, daha önceden sensörinöral işitme kaybı (SNİK) mevcut olan hastalarda ve kollajen damar hastalığı olan olgularda ototoksisite için potansiyel olarak daha yüksek risk vardır (20). Klinikte en sık kullanılan ototoksik ajanlar Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. Ototoksik etki gösteren ilaçların sınıflandırılması

ANTİBİYOTİKLER	ANTİENFLAMATUARLAR	ANTİNEOPLASTİK AJANLAR	OTOTOPIKAL AJANLAR
Aminoglikozitler Amikasin Gentamisin Streptomisin	Salisalatlar	Cisplatin	Antibiyotik
Makrolitler Eritromisin Azitromisin Klaritromisin	Naproksen	Nitrojen mustard	Antiseptik
Vankomisin	İndometazin	Vincristin	Antienflamatuar
LOOP DİÜRETİKLER	ANTİMALARYAL İLAÇLAR	ŞELASYON YAPICI AJANLAR	KİMYASAL MADDE VE MADENLER
Furosemid Bumetanid Etakrinik asit	Kinin Klorakin Kinidin	Desferoksamin	Civa Kurşun Alkol Tütün Benzen

2.2.2. Cisplatin ototoksitesi

2.2.2.1. Cisplatin

Cisplatin, birçok malign tümör tedavisinde kullanılan yüksek etkili bir kemoterapötiktir (1). İnorganik platinyum bileşiklerinin *Escherichia coli* proliferasyonunu inhibe ettiğini 1965'te Rosenberg ve arkadaşları yayınlamışlardır. Sonraki yıllarda deneysel olarak cisplatin'nin tümörlerde en aktif platinyum bileşiği olduğu belirlenmiş ve 1970'lerde klinik kemoterapötik olarak kullanılmaya başlanmıştır (21). Testis, over, serviks kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, osteosarkom, özofagus ve baş-boyun kanserlerinde olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılan cisplatin geniş bir spektruma sahiptir (1).

2.2.2.2. Cisplatin ototoksitesinin klinik özellikleri

Cisplatin daha fazla kokleotoksiktir ve kullanıldığı zaman hastalarda % 7 oranında işitme kaybı ortaya çıkarır. Vakaların %80'inde işitme kaybı bilateral ve SNİK şeklindedir. Tam veya kısmi iyileşme olmakla birlikte genellikle hasar kalıcıdır (20). Vestibülotoksite nadirdir (19). Tinnitus ise cisplatin ototoksitesinin bir sekeli olarak hastaların %60'ında kalır. Ancak işitme kaybının bir belirtisi değildir. Genellikle yüksek frekanslardaki işitme kaybı ile birlikte veya herhangi bir işitme bozukluğu olmadan da bulunabilir (21, 22).

Cisplatin ototoksitesisi dozla ilişkili ve kümülatiftir. Genellikle düşük doz ve uzun süreli tedavilerde ototoksitesite daha az ortaya çıkar. Yüksek doz cisplatine maruz kalan hastalarda 2000-8000 Hz arasındaki frekanslarda 40-60 dB işitme kaybı ortaya çıkmaktadır. Ototoksik etki genellikle tedavi başlangıcının ikinci günü başlar ve tedavi sonrası 7. güne kadar devam eder (19). Cisplatin'e 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 kayıp olmalıdır (20). Artan kümülatif dozlar işitme kaybının şiddetini artırır ancak bazen tek bir bolus uygulamasının ardından ciddi işitme kaybının görülmesi, cisplatin ototoksitesisinde kişisel yatkınlığın da etkili bir faktör olduğunu düşündürür (21).

Cisplatin gastrointestinal sistemden absorbe olmaz sadece intravenöz uygulanır. Plazma proteinlerine %90 oranında ve parsiyel irreversible olarak bağlanır. Yarılanma ömrü 60 saat'tir (5). İntravenöz infüzyon ve yavaş intravenöz enjeksiyon şeklinde tek başına 100 mg/m² dozunda, kombinasyon içinde ise 20 mg/m² dozunda uygulanır. Cisplatin'nin plazmadan atılım yolu böbreklerdir. Kullanımından sonra 4 ay süre ile böbrek dokusunda platin saptanabilir (22).

Kemoterapötik etkiliğini maksimuma çıkartıp yan etkileri minimize etmek için farklı doz uygulamaları, hidrasyon ve tuz yükleme gibi uygulamalarla nefrotoksitesiteyi engellemede başarılı olursa da ototoksitesite üzerine bu yöntemlerin etkisi tespit edilmemiştir (22).

Cisplatin'nin erişkinlerde olduğu kadar çocuklardaki malign tümörlerde de geniş kullanım alanı vardır. Bu sebeble cisplatin pediatrik yaş grubu için önemli bir toksik maddedir (11). Cisplatin'nin osteosarkom, nöroblastom gibi pediatrik solid tümörlerde kullanımının artmasıyla çocuklarda ototoksitesitenin önemi artmıştır. Ayrıca cisplatin'nin sebep olduğu işitme kaybı pediatrik hastalarda daha ciddi boyuttadır. Yapılan çalışmalarda bu oran %50-100 arasında bildirilmiştir ve hastaların üçte biri işitme cihazı kullanmaktadır. Ancak bu hastalarda ortaya çıkan işitme kaybı, eşlik eden veya önceden verilmiş olan radyoterapi sonucu artmış olabilir (22).

2.2.2.3.Cisplatinin etki mekanizması

Yapılan ultrastrüktürel incelemelerde cisplatin'nin etkilediği primer bölgenin kokleanın bazal ve orta kısımlarındaki DTH'ler olduğu gösterilmiştir. Tüylü hücre hasarı tabandan apekse, 3. sıra DTH'lerden 1. sıra DTH'lere ve daha sonra İTH'lere doğru ilerleme gösterir. Destek hücreleri ve stria vaskularis genellikle etkilenir. Spiral ganglion hücrelerindeki değişiklikler de yine DTH hasarının en şiddetli olduğu bazal kıvrımlarda gözlenir. DTH hasarının şiddetinin işitme kaybının derecesiyle, hasar lokalizasyonunun ise işitme kaybının

görüldüğü frekanslarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Kobaylarda cisplatin ototoksitesinde elde edilen elektrokoleografi sonuçlarında, koklear mikrofoniklerdeki değişimlerin endokoklear potansiyel değişimlerden çok daha belirgin olması da, hasarlanan bölgenin DTH'ler olduğunu göstermiştir (23-25).

Cisplatin toksisitesinin hücresel mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu amaçla toksisite mekanizmasını açıklamak amacıyla, cisplatin'nin etkisi çeşitli hayvan modelleri üzerinde çalışılmıştır. Cisplatin toksisitesini açıklayacak birden fazla patofizyolojinin olduğu savunulmaktadır. Hücre içerisine difüzyon yoluyla giren cisplatin metabolitleri, kemoterapötik ve hatta toksik etkisini, hücre içinde reaktif platin metabolitlerine hidrolize olarak gösterir. Cisplatin, DNA ile etkileşerek, sarmal içi ve sarmallar arası çapraz bağlar kurar. Bu bağların yapılması ise DNA transkripsiyonunu ve replikasyonunu inhibe eder. Cisplatin'nin modifiye ettiği DNA, yeterince rejenere olamadığı için, ortaya çıkan DNA hasarı düzeltilemeyecek boyuttaysa, hücre tarafından tolere edilemez ve hücrenin apoptozisine sebep olur (26).

Bir çok çalışmada, cisplatin toksisitesinin patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli bir yeri olduğu gösterilmiştir (26). İç kulak, tripeptid glutatyon ve onunla ilişkili glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimler içeren bir koruma sistemine sahiptir (20). Hayvanlarda cisplatin ototoksik dozda verildiğinde, antioksidan enzimlerde (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) ve glutatyonda azalma, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA (malonildialdehid) düzeylerinde artış izlenmiştir (27).

Tablo 2. Cisplatinin kokleadaki antioksidan sistem üzerindeki etkisi

Lipid peroksidasyonu	↑	SOD	↓
GSH	↓	CAT	↓
GSSG	↑	GSH-Px	↓
		GR	↓

GSH: Glutatyon, **GSSG:** Oksitlenmiş glutatyon, **SOD:** Süperoksit dismutaz, **CAT:** Katalaz, **GSH-Px:** Glutatyon peroksidaz, **GR:** Glutatyon redüktaz.

Cisplatin ototoksitesinde suçlanan reaktif oksijen metabolitleri, antioksidanları azaltarak ve lipid peroksidasyonu artırarak hasar oluşturur. Süperoksit anyonunda ve hidrojen peroksitte artma koklear hücrelere kalsiyum iyonu akışına ve patolojik değişikliklere yol açar (26).

Antioksidan koruyucu sistem, hücre içinde ve hücre zarına bağlı küçük moleküllerden, oksidasyon-redüksiyon işlemlerini yapan enzimlerden, hidrojen peroksiti ve serbest radikalleri ortadan kaldıran veya zararsız hale getiren gama-glutamil siklusundan oluşur (24).

Oksijen radikallerini ortadan kaldıran veya zararsız hale getiren antioksidan enzimler ve yanı sıra küçük moleküller (vitamin E, β -karoten, askorbat, ve glutasyon (GSH) hücrel hasarı azaltmada rol oynarlar. Antioksidan sistem hücreleri sadece reaktif oksijen radikallerinden değil aynı zamanda serbest radikallere bağlı hasardan da korur. Oluşan reaktif oksijen radikalleri eğer sınırlandırılmazsa protein, DNA ve doymamış yağlar gibi birçok hücrel elemanlarla tepkimeye girerek apoptozisle sonuçlanabilecek kimyasal reaksiyonlara ve metabolik, yapısal değişikliklere neden olur. (24)

ATPaz, adenilat siklaz, sitokrom P-450 mikrozomal enzimleri ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz gibi bazı kilit enzimlerin inaktivasyonu, cisplatin toksisitesinin moleküler mekanizmalarını açıklayan teorilerden bir diğeridir. Bu teoriye göre ayrıca lizozomal enzim aktivitelerinde dengesizlik, mitokondrial oksijen transportunda ve/veya kalsiyum dengesinde bozulmalar olmaktadır (24).

2.2.3. Serbest oksijen metabolitleri

Serbest oksijen metabolitleri (SOM), dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan, organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girmeye eğilimli, güçlü oksitleyici özellikte, kısa ömürlü bileşiklerdir. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden, bir elektron eksilmesi veya eklenmesiyle oluşurlar (28). Serbest oksijen metabolitleri (süperoksit anyon O_2^- , hidroksil radikali OH^- , H_2O_2) normal metabolizma akışında ortaya çıkmaktadır. Ancak iyonize radyasyon, oksitleyici özellik taşıyan maddeler (bazı ilaçlar, örn; kemoterapötikler, bazı antibiyotikler), hücreye yabancı olan maddeler (ksenobiyotikler), hiperoksi, enflamasyon, hava kirliliği, kanser, diyabet ve yaşlanma gibi durumlarda reaktif oksijen metabolitlerinin seviyesi artabilir. (29). Serbest oksijen radikalleri, hücre zarı ve hücre içi organel membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve membran geçirgenliğinin artmasına, enzimlerin ve sitostrüktürel proteinlerin sülfidril gruplarının oksitlenmesine ve çapraz bağlanmasına neden olurlar. Ayrıca enzimlerin inhibisyonuna, antiproteazların inaktivasyonu sonucu dirençli proteolitik enzimlerin aktivasyonuna, DNA yapısının bozulmasına ve kırılmasına (mutasyona) ve mukopolisakkaritlerin de polimerizasyonuna yol açarlar. Lipid peroksidasyonu zar yapısına zarar vermenin yanında oluşan lipid peroksitler inflamatuvar hücrelere karşı kemotaktik oldukları için bu hücreleri ekstravasküler alana çekerek

inflamasyonu başlatırlar. Serbest radikaller hücrede iyon transportunu ve membran potansiyelini bozarlar (30).

Süperoksit radikalleri arasında en önemlileri; süperoksit (O_2^-), hidroperoksil (HO_2^-), hidroksil (OH), alkoksil (RO), peroksil (ROO), nitrikoksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO_2) radikalleridir. Radikal olmayan oksijen merkezli bileşikler ise singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), hipoklorid asit (HOCl), lipid hidroperoksit (LOOH), ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi bileşiklerdir ve bu moleküller reaktivitesi oldukça yüksek bileşiklerdir. En reaktif ve en sitotoksik radikal hidroksil radikalidir. Hidroksil radikalleri klor (Cl) ile tepkimeye girerek dokuda diğer bir sitotoksik bileşik olan HOCl (Hipoklorik asit) oluşturabilir. Süperoksit anyonu, damar endotelinde endojen nitrik oksit (NO) ile tepkimeye girerek daha sitotoksik olan peroksinitrit ($ONOO^-$) ve sonra peroksi nitröz asit oluşturur (30).

2.2.4. Antioksidan koruma mekanizmaları

Hücre içinde ve ekstrasellüler matrikste sitotoksik oksijen radikallerini zararsız hale getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Mevcut mekanizmalar normal metabolizma sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler fakat hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, reaktif oksijen metabolitlerini oluşturan ksenobiyotiklerle (tütün dumanı, ozon, asbest gibi) karşılaşılması ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofiller ile diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumda oksidan/antioksidan dengesi bozulur, antioksidan mekanizmalar biter ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliği artar. Hücre zedelenmesine ve hücre ölümüne yol açar (30). Antioksidan savunma mekanizmalarının önemlileri şunlardır:

- Reaktif oksijen radikallerini daha az zararlı ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri: Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glukoz -6- fosfat dehidrogenaz vb.
- Radikalleri yakalayıp inaktive eden antioksidan maddeler: İnsan hücre membranında oksidanın yapacağı zedelenmeyi önleyen E vitamini (alfa tokoferol), hem ekstrasellüler sıvıda hem de intraselüler alanda antioksidan etkinlik gösteren ve antiproteazların oksidanlarla inaktivasyonunu önleyen C vitamini (askorbik asit), indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asit, beta karoten, taurin, yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümin
- Reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını engelleyen ve oluşanın dağılmasını önleyen sistemler: Bunlar hidrojen peroksit ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali

oluşmasını sağlayan Haber-Weiss reaksiyonunu katalize eden demir ve bakır iyonunu hücrede ve plazmada bağlayan ferritin, transferrin, laktoferrin ve serüloplazmin ve mitokondrilerde doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyel sitokrom oksidazdır.

Enzim dışı antioksidan ve yağda çözünen bir vitamin olan E vitamini hücre zarında yerleşmiştir ve oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonu yapmasını engeller. A vitamini ve beta karoten, zincir reaksiyonu kıran antioksidanlardır ve ayrıca singlet oksijeni doğrudan yakalar ve zararsız hale getirir. Askorbik asit nötrofillerdeki oksidanları, hidroksil radikalini ve hidrojen peroksiti yakalar. İndirgenmiş glutatyon (GSH), reaktif oksijen radikallerini doğrudan ya da enzimatik yolla zararsız hale getirir. Enzimatik ve enzim dışı antioksidan mekanizmalar genellikle tek başlarına değil, birbiri ile ilişkili çalışırlar. Şöyle ki askorbik asit ve indirgenmiş glutatyon (GSH), lipid peroksit ile reaksiyona girerek onu normal duruma getirirler; ayrıca bu sırada oksitlenmiş olan E vitaminini tekrar indirgenmiş (aktif) olan E vitaminine dönüştürürler (30).

2.3. Otoakustik Emisyonlar

1948 yılında Gold iç kulakta baziller membranının hareketlerinin otoakustik emisyonlara yol açtığı ve bunların dış kulak yolundan kayıt edilebileceği fikrini savunmuştur. 1978 yılında David Kemp bu görüşü geliştirerek kokleanın pasif bir transdüktör olmadığı; skala vestibüli, reissner membranı, baziller membran ve skala timpani sisteminin osilasyonunun sadece uyarın enerjisine bağlı olduğu yönündeki öne sürdüğü teori ile otoakustik emisyonları bulmuştur (31).

OAE koklea tarafından spontan olarak veya akustik uyarılara cevap olarak oluşturulan düşük şiddetteki seslerdir. Oluşturulan bu sesler stapes tabanı, kemikçikler ve TM yoluyla DKY'ye iletilir. DKY'ye yerleştirilen hassas mikrofon yardımıyla bu sesler kaydedilir (32). OAE, dış tüylü hücreleri hedef alan ototoksistide işitme kaybı oluşmadan erken koklear hasarı tespit etmede çok önemlidir. Standart odyometriye göre ototoksik zararı daha önceden saptayabilmektedir (31).

OAE için gerekli uyarının orta kulaktan kokleaya geçip, kokleada otoakustik emisyon yanıtının oluşması ve bu yanıtın tekrar orta kulaktan geçerek dış kulak yoluna iletilebilmesi için dış kulak yolu, orta kulak ve kokleanın normal fonksiyon göstermesi gerekir. Bu sebeple SNIK tip işitme kaybını tespit etmek için OAE öncesi orta kulağın durumunu kontrol etmek önemlidir (33, 34).

Otoakustik emisyonlar genel olarak iki gruba ayrılarak incelenir.

1. Spontan otoakustik emisyonlar
2. Uyarılmış otoakustik emisyonlar
 - Geçici uyarılmış otoakustik emisyon (TEOAE)
 - Stimulus frekans otoakustik emisyon (SFOAE)
 - Distorsiyon ürünleri otoakustik emisyon (DPOAE)

2.3.1. Spontan otoakustik emisyonlar

Dışarıdan herhangi bir uyarı olmaksızın oluşur. Düşük şiddetteki dar band sinyaller olup, sağlıklı kulakların %72' sinde tespit edildiğini gösteren yayınlar vardır (35). 30 dB'den fazla SNIK tip işitme kayıplarında genellikle alınamaz. Yenidoğanlarda çoğunlukla 2500-5000 Hz arasında gözlemlenirken erişkinde 2000 Hertz (Hz) frekans bölgesinde ortaya çıkar. Spontan otoakustik emisyonların (SOAE) yaşla beraber hem amplitüdü hem de görülme sıklığı düşer ve ayrıca ototoksik ilaçlardan ve gürültüden etkilenir (31).

2.3.2. Uyarılmış otoakustik emisyonlar

Dışarıdan gelen bir uyarı sırasında veya sonrasında oluşurlar. Uyarının tipine göre üç alt gruba ayrılır.

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

2.3.2.1. Geçici uyarılmış otoakustik emisyon (TEOAE)

Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar, 0.5-6 kHz frekans aralığında orta yoğunlukta geniş band klik veya tone bip ses verilerek elde edilir. Duyarlı bir mikrofon ve 80 dB şiddetinde bir ses kaynağı bir kulak probu içinde birleştirilerek dış kulak yoluna yerleştirilir. Uyarı verildikten belirli bir latans süresi sonrasında yanıt ortaya çıktığı için, 20 milisaniyelik (ms) kayıt aralığının ilk iki milisaniyesi sıfırlanarak çizdirilir (36).

TEOAE yapılırken nonlinear uyarı yöntemi kullanılmakta, DKY'ne verilen kliklerden sonra elde edilen yanıtlar averajlanmaktadır. Toplam 260 averajlamadan sonra test sona erer. Alınan TEOAE'ler genellikle zayıftır. Transient otoakustik emisyonlar 25-30 dB'yi geçen işitme kayıplarında tespit edilememekle birlikte normal işiten vakaların %98'inde vardır. Ayrıca 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 elde edilemeyebilir (31).

2.3.2.2. Stimulus frekans otoakustik emisyon (SFOAE)

Frekansa özel olarak uzun süreli tonal stimuluslarla elde edilir. Akustik uyarını cevaplardan ayırmada güçlük vardır. TEOAE'lere göre klinik kullanımı azdır; çünkü hem TEOAE ile ortak koklear orijini taşır ve hem de teknik olarak daha karmaşıktır (36).

2.3.2.3. Distorsiyon ürünleri otoakustik emisyon (DPOAE)

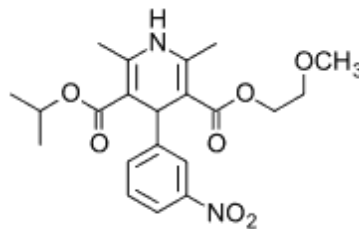
Eş zamanlı olarak uyarın iki pür tonun, koklea içerisinde non-lineer etkileşiminden ortaya çıkan ve DKY'den ölçülen akustik enerji olarak tanımlanırlar (37). En kuvvetli DPOAE cevapları insanlarda 2f1-f2 frekanslarında elde edilmiştir.

DPOAE'lerin klinikte iki farklı ölçüm metodu vardır; birincisi farklı f1 ve f2 frekanslarında uyarın şiddeti sabit iken uyarınların verilmesi ve bu frekansların 2f1-f2 formülüne göre ortalamalarının farklı frekanslarda yerleşimleri ile 0.5-8 kHz gibi geniş aralıkta tipik DPOAE'leri elde edilmektedir. İkinci metotta ise uyarın şiddeti frekans sabit tutularak artırılır (31, 37).

Ölçüm için kullanılan cihazlar DPOAE'de TEOAE'den daha karmaşıktır. DKY'ye iki ayrı frekansta uyarın vermek için iki tane mini hoparlör ve bir tane mini mikrofon konması gerekir. DPOAE'de stimulusun frekans ve şiddet oranları ölçüm sonuçlarını değiştirmektedir (31). Ölçümlerin zorluklarına rağmen DPOAE'ler koklear işitme ile ilgili önemli bilgiler verir. İşitme eşiğinin 15 dB SPL'den daha düşük olduğu durumlarda DPOAE'ler saptanır fakat işitme eşiğinin 50 dB SPL'nin üstünde olduğu durumda kaydedilemez. (37)

2.4. Nimodipin

Moleküler formülü isopropil (2 - metoksietil) 1, 4 - dihidro - 2, 6 - dimetil - 4 - (3 - nitrofenil) - 3, 5 - piridin – dikarboksilat olan nimodipin dihidropridin türevi L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanal blokörüdür. Moleküler formülü şekil 4'te gösterilmiştir. (38).



Şekil 4. Nimodipin moleküler formülü.

Kan beyin bariyerini geçebilen nimodipin'in vazodilatatör ve antiiskemik etkinliği mevcuttur. Nimodipin subaraknoid kanama sonrası serebral vazospazmda ve inme sonrası

nörolojik defisitlerin gerilemesinde kullanılmıştır (8, 39). Oral alım sonrası 1 saat içerisinde maksimum konsantrasyona ulaşır. Büyük oranda karaciğerden metabolize olur. Yarılanma zamanı intravenöz kullanımda 1,2-1,8 saat iken oral kullanımda 8-10 saattir (38). Mutlak biyoyararlanımı %5-15, plazma proteinlerine bağlanma oranı %97-99'dur. Nimodipin başlıca dihidropidin halkasının dehidrojenasyonu ve oksidatif O-demetilasyonu ile metabolize olur. İnsanda oluşan metabolitler %50 böbreklerden ve %30 safra yollarından atılır (40).

Hücre içinde kalsiyum birikimi, toksik nöronal hücre ölümünün son ortak yoludur. Serbest kalsiyum iyonlarının nörotransmitter kanallardan fazla miktarlarda geçmesiyle doku yıkım enzimleri olan fosfolipaz, proteaz ve fosfatazın aktive olmaları doku harabiyetine neden olmaktadır. Kalsiyumun doğrudan nörotoksik etkisinin yanında vasküler düz kas hücrelerinde kasılma sonucu vazokonstrüksiyona neden olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak kalsiyum hem doğrudan hücreyi etkileyerek programlı hücre ölümüne yol açmakta, hem de kan akımını bozup enerji metabolizmasını etkileyerek komşu hücrelerde sekonder yaralanmaya neden olmaktadır (41).

Birçok çalışmada nimodipinin anti-vazospazm ve indirekt anti-oksidan etkisi gösterilmiştir (42). Serebral damarlardaki anti-vazokonstrüktör etkisinden dolayı tinnitus ve meniere gibi durumlarda kullanılmıştır (43).

3. GEREÇ YÖNTEM

Çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun "2014" tarihli ve "02" numaralı onayını aldıktan sonra KSÜ deney hayvanları laboratuvarından temin edilen 250-350 gram ağırlığındaki sağlıklı erişkin 21 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.

21 rat randomize olarak, her bir grupta 7 rat olacak şekilde 3 gruba ayrıldı

Grup 1 (Kontrol): Bu gruba dahil edilen 7 rata intraperitoneal 1 ml/gün salin verildi. 0. ve 15. gün DPOAE testi yapıldı.

Grup 2 (Cisplatin): Bu gruptaki 7 hayvana bir defa olmak üzere intraperitoneal 12 mg/kg cisplatin (Platosin-s, Med İlaç, İstanbul) verildi. 0. ve 15. gün DPOAE testi yapıldı.

Grup 3 (Nimodipin): Bu gruptaki 7 hayvana tek doz 12mg/kg cisplatin ve 0,5 mg/kg/gün intraperitoneal nimodipin (Nimotop®, Bayer AG, Almanya) verildi. 0. 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 21 ratın 42 kulağının otomikroskopik bakışı yapıldı ve dış kulak yolundaki debris veya buşonlar temizlendi. Bütün kobaylarda normal timpanik membran görüntüsü saptandı. İntraperitoneal ilaç uygulaması öncesinde, tüm rat kulaklarında MEDSEN Capella model otoakustik emisyon cihazı ve NOAH yazılımı kullanılarak DPOAE testi yapıldı ve normal işitmenin varlığı tespit edildi. Tüm gruplarda ilk enjeksiyonlara başlamadan 30 dk. önce DPOAE ölçümü yapıldı. İlk cisplatin uygulamasının yapıldığı gün, gün 0 olarak alındı. Tüm gruplara 0. ve 15. günde toplam 2 defa DPOAE ölçümü yapıldı. Primer tonlar dış kulak yoluna yerleştirilen uygun prob yardımıyla verildi. Akustik uyaran 2 pür ton (f_1 ve f_2 ; f_1/f_2

oranı = 1.22) 70 dB ses basınç düzeyi (SPL) olarak belirlendi. Proben yerleşiminin kontrolü ve kalibrasyonu test öncesinde otomatik olarak ölçüm sistemi tarafından yapıldı. Otoakustik emisyon sonuçları 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frekanslarında yapılarak ölçüm sonuçları kaydedildi. DP gram ölçümleri yapıldı.

3.2.Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmanın 15. günü yapılan DPOAE sonrasında hayvanlara intraperitoneal olarak tiyopental sodyum verilerek giyotin cihazıyla ötenazi uygulandı. otomikroskop altında ratların temporal kemikleri çıkarılarak %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu. 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 bırakıldı. 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 incelenmiş ve dijital görüntüler alındı.

Cisplatin ototoksitesisi 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 derecesine bakıldı. Freitas ve ark. tarafından tanımlanan cisplatin kaynaklı ototoksitesite 4 puan skorlama sistemi kullanıldı.

Stria vaskülaris histopatolojisi skorlama sistemi;

Skor 0	Büzülme yok
Skor 1	Hafif derece büzülme
Skor 2	Orta derece büzülme
Skor 3	Ciddi derece büzülme

Korti organı histopatolojisi skora sistemi;

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

Spiral ganglion histopatolojisi skora 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. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1.DPOAE Sonuçları

4.1.1. Grup 1 (Kontrol)

Bu gruptaki 7 rata intraperitoneal 1 ml/gün salin verildi. Bu grup sadece DPOAE yanıtları açısından diğer gruplar ile karşılaştırılmak üzere kullanılmıştır. Ölçümler 0. ve 15. gün 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz frekanslarında yapılmıştır. Bu gruptaki tüm ratlar çalışmayı tamamlamışlardır. Kontrol grubu 0. ve 15. gün DPOAE sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Kontrol grubu 0. Gün ve 15. Gün için mean±SEM değerleri

GRUP	500 Hz	750Hz	1000 Hz	1500 Hz	2000 Hz	3000 Hz	4000 Hz	6000 Hz	8000 Hz
K1	2,2±0,4	4,5±0,7	5,5±0,8	2,6±0,5	4,9±0,3	13,2±3,3	17,1±2,2	26,7±0,7	33,3±1,4
K15	2,1±0,4	4,7±0,9	5,8±1	2,7±0,5	4,7±0,8	11,3±1,4	17,9±1,3	27,1±1,6	34,9±2

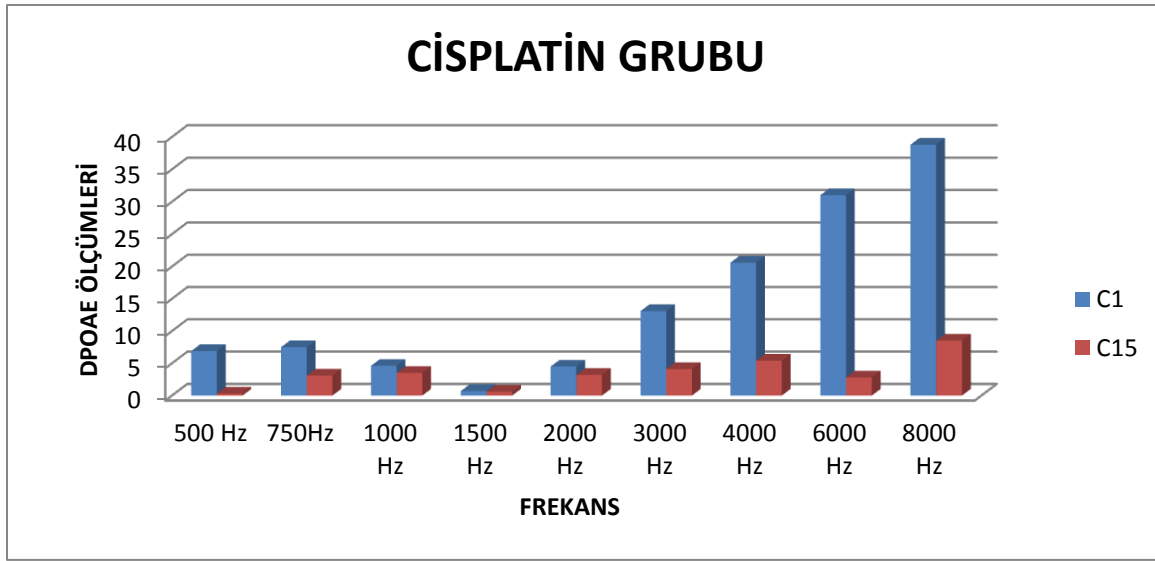
Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde 0. ve 15. günlerde tekrarlanan tüm frekans ölçümleri arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır ($p<0,05$).

4.1.2. Grup 2 (Cisplatin)

Bu gruba dahil olan 7 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 6 rat değerlendirilmeye alınmıştır. Cisplatin grubu 0. ve 15. gün DPOAE sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Cisplatin grubu 0. Gün ve 15. Gün için mean±SEM değerleri

GRUP	500 Hz	750Hz	1000 Hz	1500 Hz	2000 Hz	3000 Hz	4000 Hz	6000 Hz	8000 Hz
C1	6,9±2	7,5±1	4,6±2	0,7±0,6	4,5±3	13,1±4	20,6±4	31±3	38,8±4
C15	0,3±0,5	3,1±0,7	3,5±0,6	0,6±0,4	3,2±0,9	4,1±1	5,4±1	2,8±1	8,5±1



Şekil 5. Cisplatin grubu 1. Gün ve 15. Gün DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması

CP1: Cisplatin grubu 1. Gün

CP15: Cisplatin grubu 15. gün

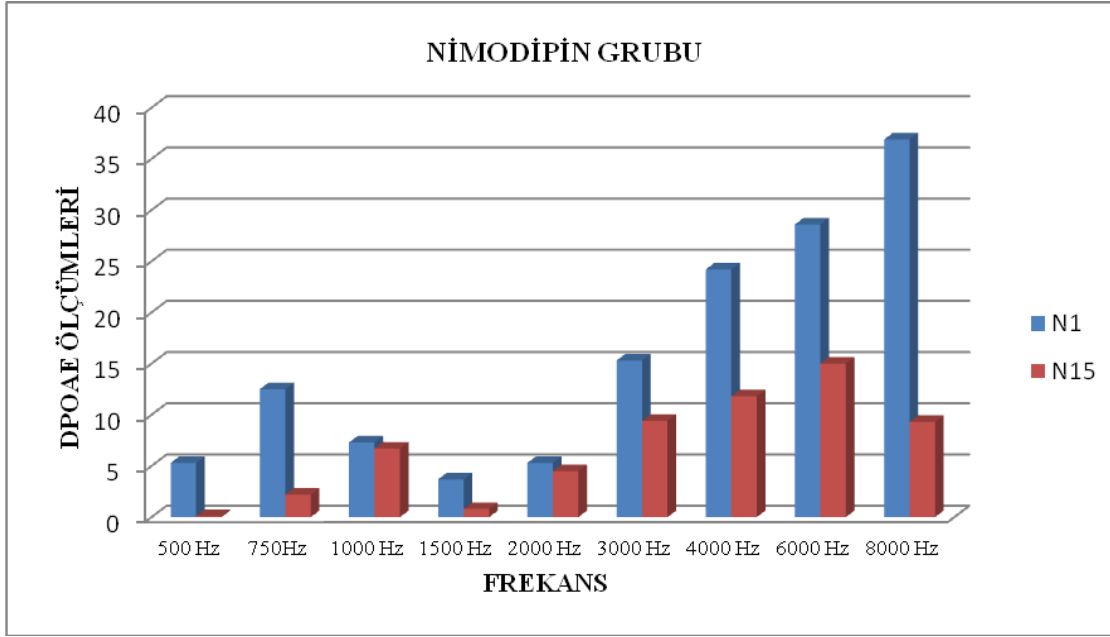
Bu grubun istatistiksel analizinde 15. gün DPOAE ölçümlerinde 0. güne göre 500, 750, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frekanslarında anlamlı düşme saptanmıştır ($p < 0,05$). Diğer frekanslarda düşme olmasına rağmen anlamlı farklılık izlenmemiştir. Cisplatin grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün ölçümlerinde tüm frekanslarda cisplatin grubunda anlamlı düşme saptanmıştır ($p < 0,05$).

4.1.3. Grup 3 (Nimodipin)

Tek doz 12 mg/kg cisplatin ve 15 gün boyunca 0,5 mg/kg/gün nimodipin uygulanan 7 rattan 6 tanesi çalışmayı tamamlayabilmiştir. Bir rat toksik etki sonrası kaybedilmiştir. Tüm ratlarda gastrointestinal yan etkiler, alopesi ve kilo kaybı gözlenmiştir. Çalışmayı tamamlayabilen 6 rat değerlendirilmeye alınmıştır. Nimodipin grubu 0. ve 15. gün DPOAE sonuçları Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Nimodipin grubu 1. gün ve 15. gün için mean±SEM değerleri

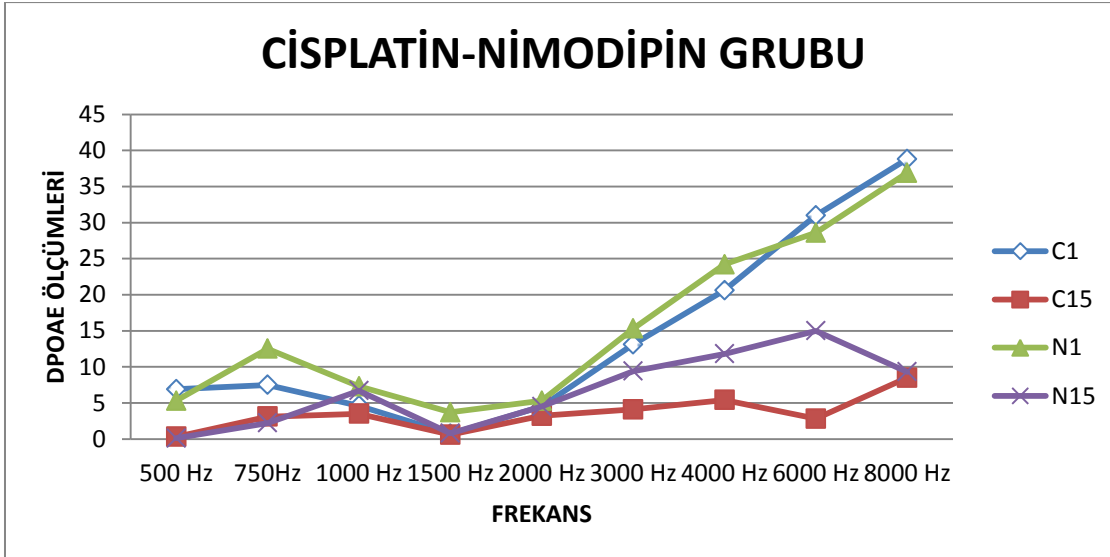
GRUP	500 Hz	750Hz	1000 Hz	1500 Hz	2000 Hz	3000 Hz	4000 Hz	6000 Hz	8000 Hz
N1	5,3±1	11,8±3	7,3±1	3,7±1	5,3±1	15,3±2	24,2±2	28,6±2	36,9±2
N15	0,1±0,5	2,2±0,6	6,7±1	0,8±0,5	4,5±1	9,4±1	11,8±1	15±1	9,3±1



Şekil 6. Nimodipin grubu 1. Gün ve 15. Gün DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması

N1: Nimodipin grubu 1. Gün N15: Nimodipin grubu 15. gün

Bu grubun istatistiksel olarak analizinde 15. gün DPOAE sonuçlarında 0. güne göre 500, 750, 1500, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz frekanslarında anlamlı düşme saptanmıştır. Nimodipine grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün 500, 750, 1500, 3000, 4000 Hz, 6000 Hz ve 8000 Hz frekans sonuçlarında nimodipin grubunda anlamlı düşme saptanmıştır.



Şekil 7. Cisplatin ve Nimodipin grubu DPOAE sonuçlarının karşılaştırılması

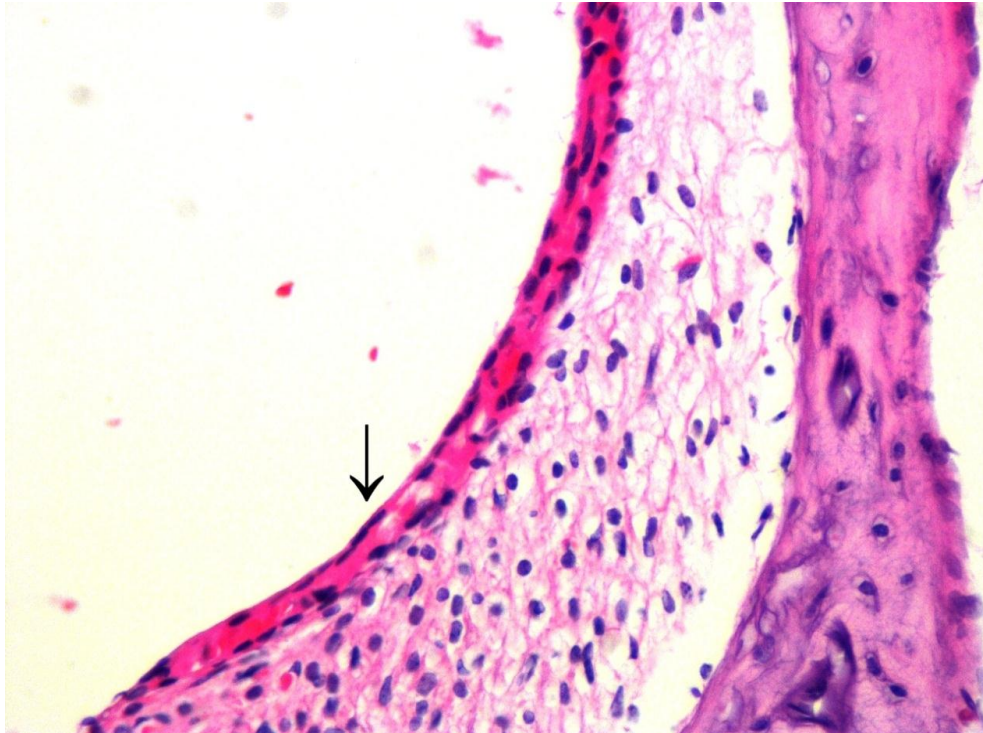
CPI: Cisplatin grubu 1. Gün C15: Cisplatin grubu 15. Gün N1: Nimodipin grubu 1. Gün N15: Nimodipin grubu 15. gün

Nimodipin grubu cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında 15. gün 1000, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz nimodipin grubu sonuçları cisplatin grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p<0,05$).

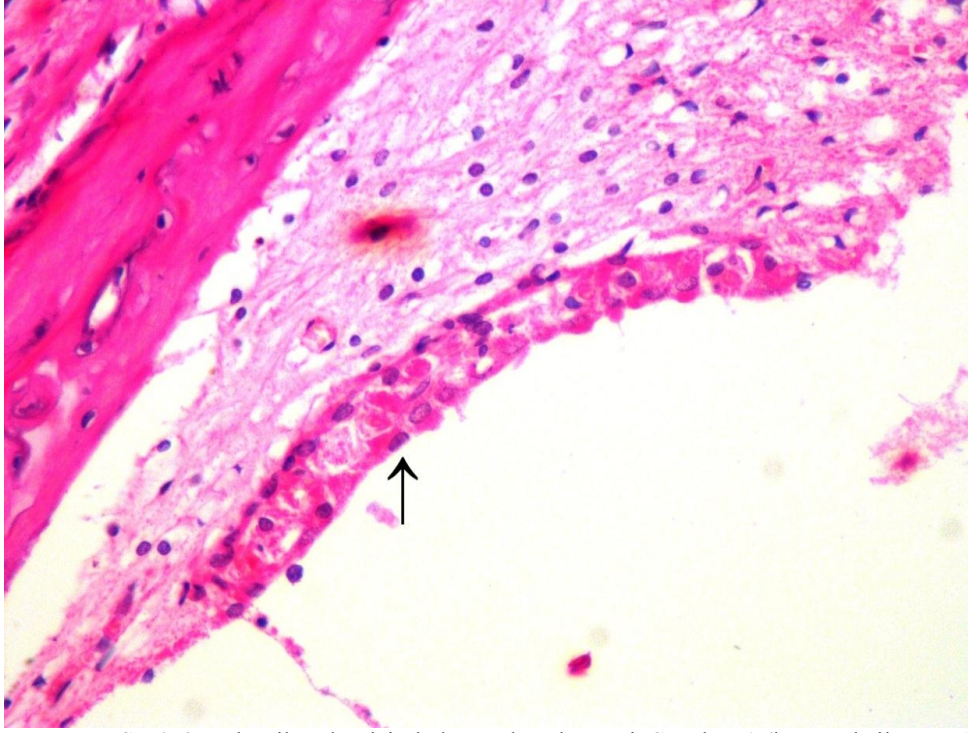
4.2. Histopatolojik Sonuçlar

Kontrol grubundan 7, Cisplatin ve cisplatin-nimodipine grubundan 6 şar adet olmak üzere toplam 19 hayvanın 38 temporal kemiği çalışmaya dahil edildi. 2 rat toksik nedenlerle kaybedildi. Temporal kemiklerin her birinden koklea diseke edilerek ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Değerlendirme stria vaskularis, dış tüy hücre ve spiral ganglion üzerinden yapılmış olup Freitas ve ark. (44) 4 puan skorlama sistemi kullanılmıştır.

Stria vaskularis skorlamasında stoplazmik vokualizasyon, marjinal hücre kaybı ve intermediat hücre büzülmesi baz alınmıştır. Büzülme ve sitoplazmik vokualizasyonun olmadığı histolojik görüntüler skor 0 olarak değerlendirilmiştir. Hafif derece büzülme ve stoplazmik vokualizasyon skor 1, orta derece skor 2 ve ciddi derece ise skor 3 olarak değerlendirilmiştir.

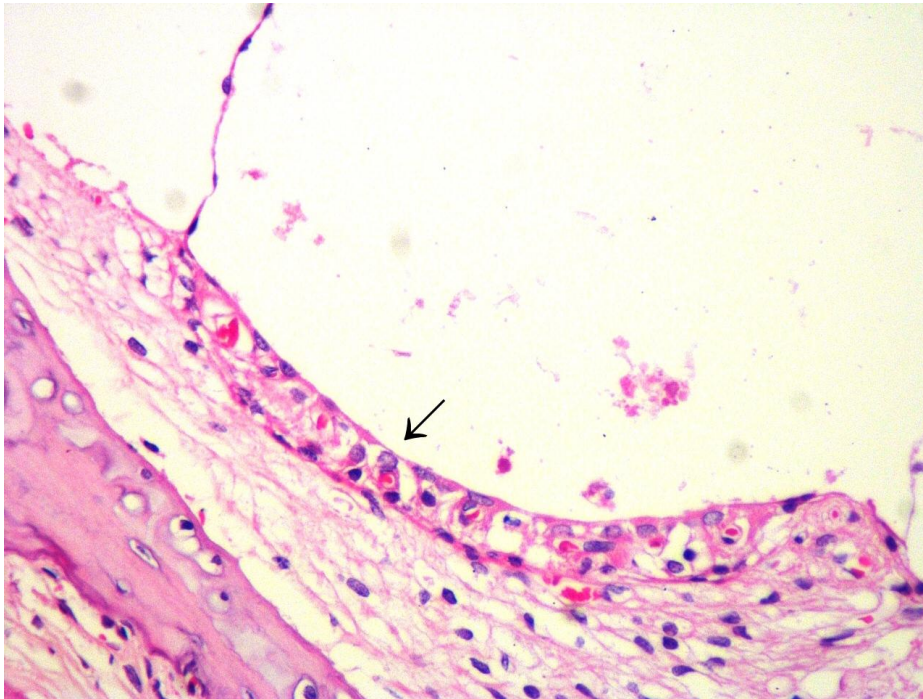


Şekil 8. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 0 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 9. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SV skor 1 (hemotoksilen-eozin x400)

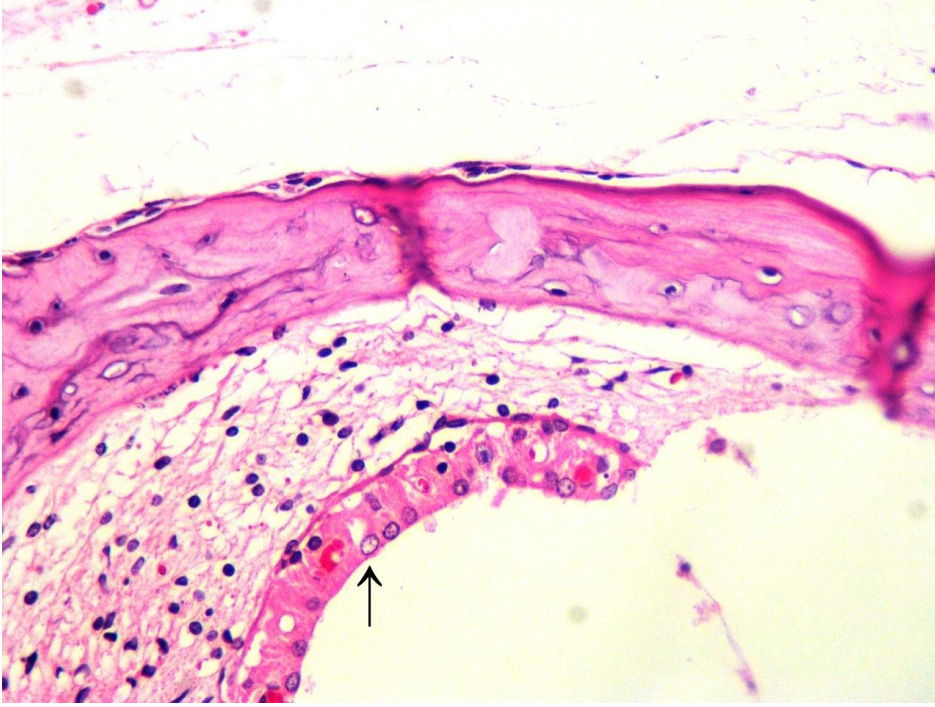
Kontrol grubundaki toplam 14 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelemesinde, 4 rat stria vaskülarisinde hafif derecede intermediat hücre büzülmesinin olduğu, sitoplazmik vokualizasyonun olmadığı ve marjinal hücre bütünlüğünün korunduğu izlenmiştir (Şekil 9). On rat stria vaskülarisinde ise intermediat hücrelerde büzülmenin, sitoplazmik vokualizasyonun olmadığı ve marjinal hücre dizisinin korunduğu izlenmiştir (Tablo 6, Şekil 8).



Şekil 10. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait SV skor 3 (hemotoksilen-eozin x400)

Cisplatin grubuna dahil toplam 12 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelemesinde, 2 rat stria vaskularisi skor 1, 7 rat stria vaskularisi skor 2 ve 3 rat stria vaskularisi skor 3 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 6, Şekil 10).

Nimodipin grubu olarak belirlenen 6 rata ait toplam 12 stria vaskularisin incelemesinde, 2 spesmen skor 0, 8 spesmen skor 1 ve 2 spesmen skor 2 olarak raporlanmıştır (Tablo 6, Şekil 11).



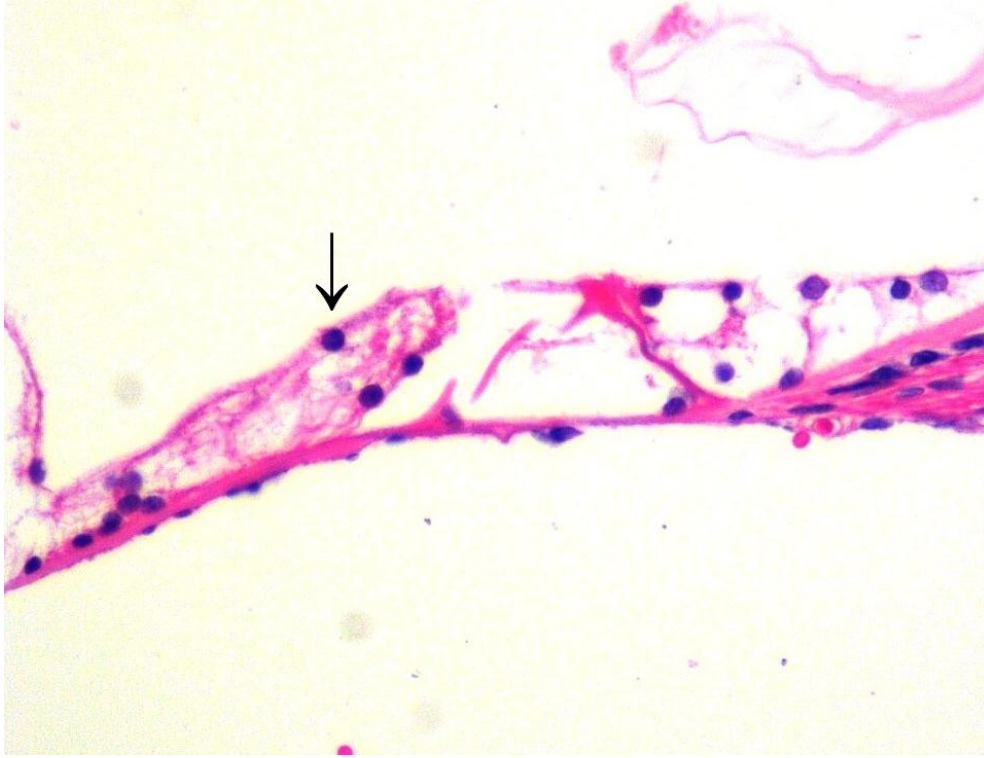
Şekil 11. Işık mikroskopisinde nimodipine grubuna ait SV skor 2 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 12. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait DTH skor 0 (hemotoksilen-eozin x400)

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

Kontrol grubuna dahil toplam 14 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelenmesinde, 2 rat kokleası skor 1 olarak değerlendirilmiştir. 12 rat kokleasında ise skor 0 olarak raporlanmıştır (Tablo 6, Şekil 12)

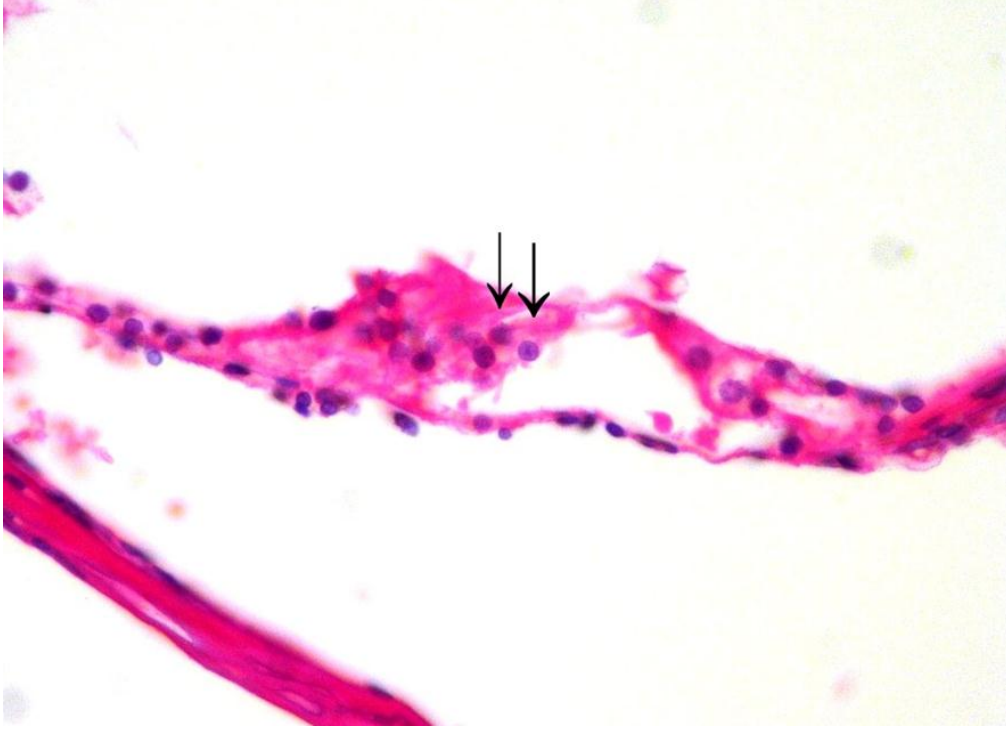


Şekil 13. Işık mikroskopisinde cisplatin grubuna ait DTH skor 2 (hemotoksilen-eozin x400)

Cisplatin grubunda incelenen toplam 12 rat kokleasının ışık mikroskobu altında incelemesinde, dört koklea skor 1, sekiz koklea ise skor 2 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 6, Şekil 13).

Nimodipin grubu olarak belirlenen toplam 12 kokleanın incelemesinde, üç spesmen skor 0, yedi spesmen skor 1 ve iki spesmen skor 2 olarak raporlanmıştır (Tablo 6, Şekil 14).

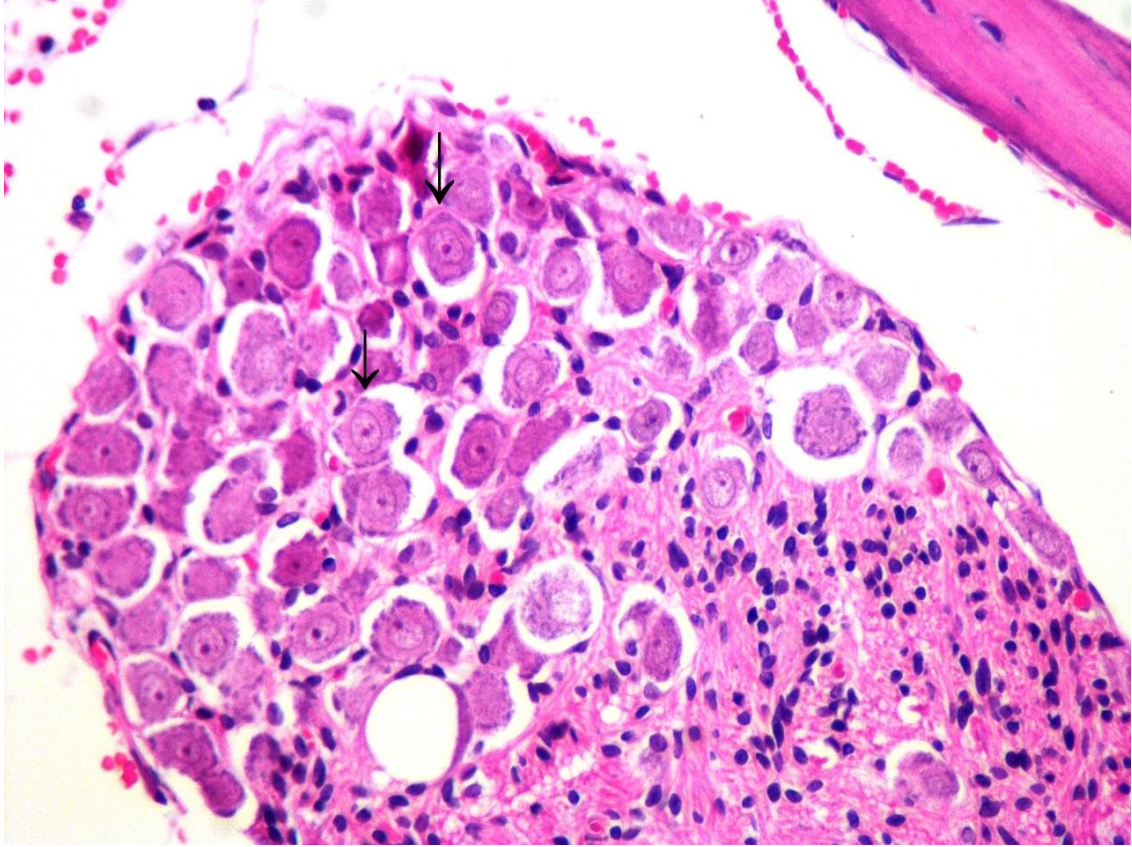
Spiral ganglion skorlamasında nöron dejenerasyonu ve sitoplazmik vokualizasyon değerlendirme kriteri olarak belirlenmiştir. Dejenerasyonun olmadığı durumda skor 0, hafif dejenerasyon varlığında skor 1, orta dejenerasyon varlığında skor 2 ve ciddi dejenerasyon varlığında skor 3 olarak değerlendirilmiştir.



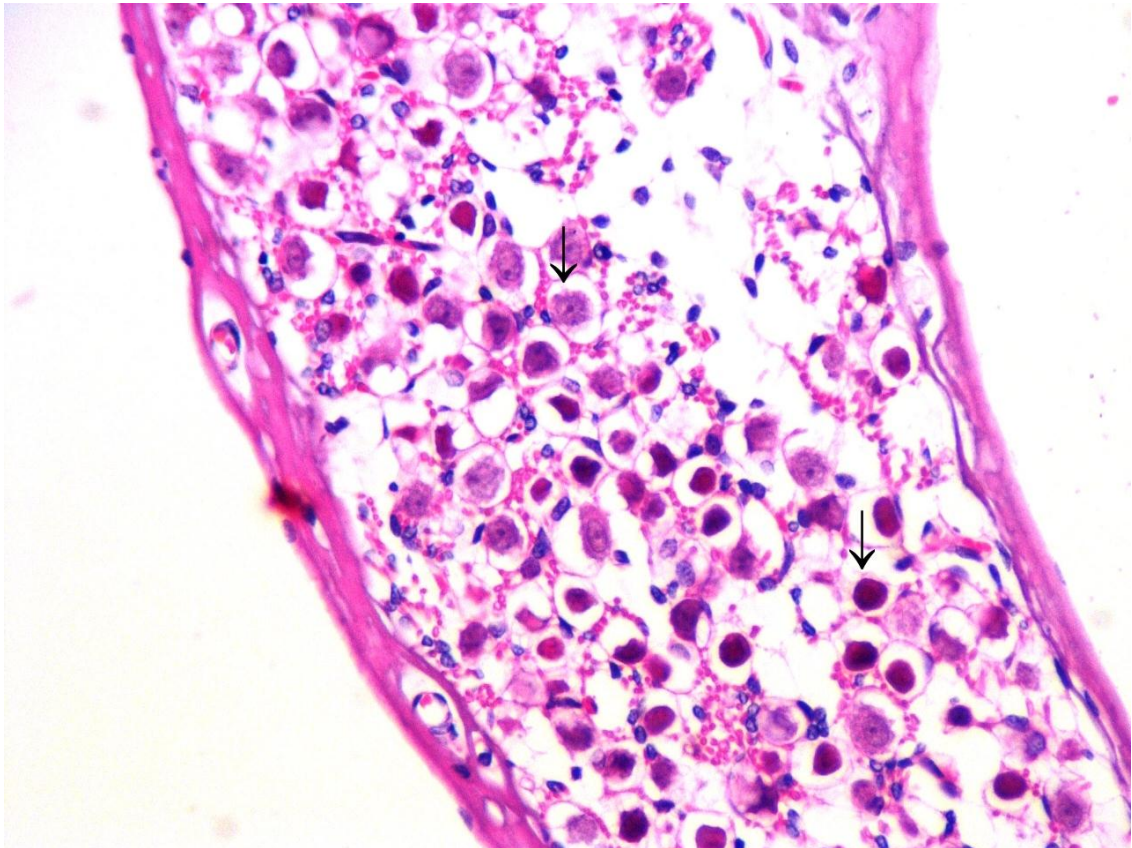
Şekil 14. Işık mikroskopisinde nimodipin grubuna ait DTH skor 1 (hemotoksilen-eozin x400)

Kontrol grubu olarak belirlenen 14 kokleanın incelemesinde, 4 spesimde hafif derecede nükleer dejenerasyon ve sitoplazmik vokualizasyon izlenmiş olup skor 1 olarak değerlendirilmiştir. 10 rat kokleasında ise sitoplazmik vokualizasyon ve nükleer dejenerasyon saptanmamıştır ve skor 0 olarak raporlanmıştır (Tablo 6).

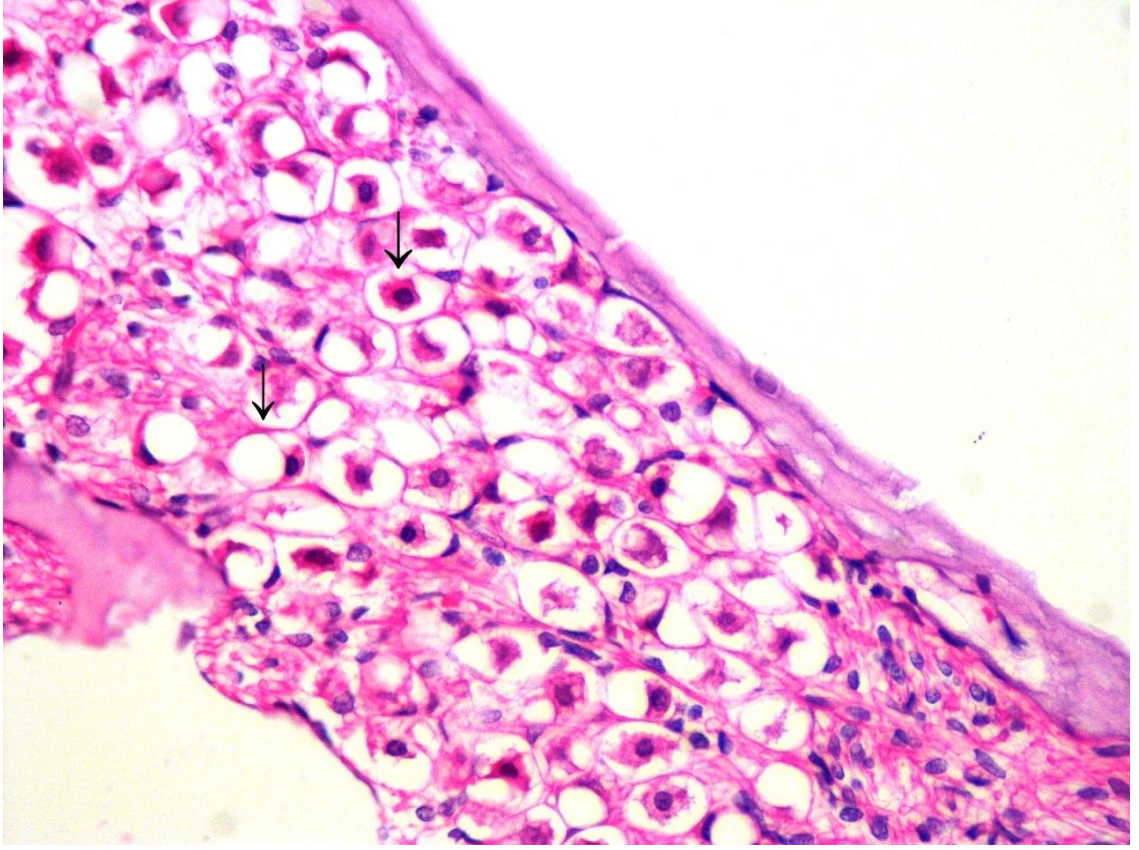
Cisplatin grubunda incelenen 12 rat kokleasının ışık mikroskobu bakısında iki koklea skor 3, sekiz koklea skor 2 ve iki koklea skor 1 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 6, Şekil 17-18).



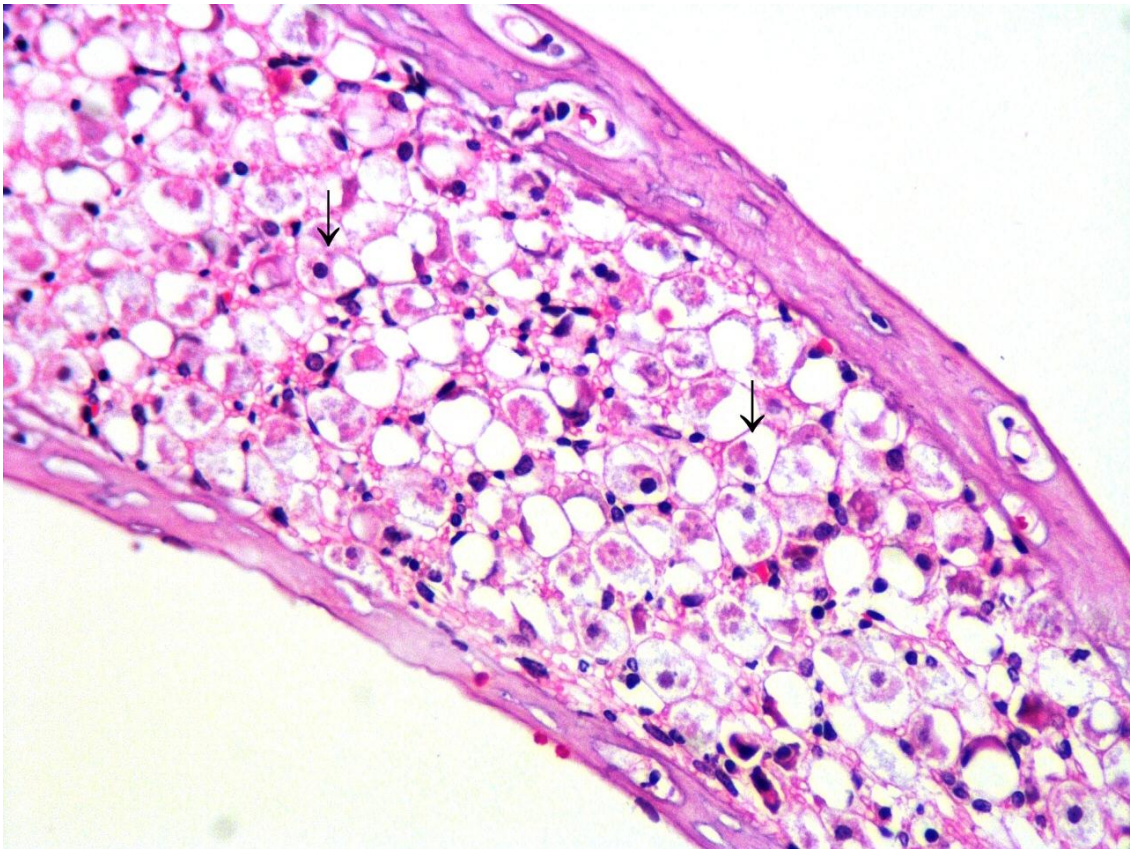
Şekil 15. Işık mikroskopisinde kontrol grubuna ait SG skor 0 (hemotoksilen-eozin x400)



Şekil 16. Işık mikroskopisinde nimodipin 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)

Nimodipin grubuna dahil olan 12 rat kohleasının incelemesinde 2 spesmen skor 2 ve 10 spesmen skor 1 olarak raporlanmıştır (Tablo 6, Şekil 16).

Cisplatin ototoksitesinde DTH, SV ve SG bölgelerine ait histopatolojik skorlama tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Cisplatin ototoksitesisi histopatolojik sonuçları

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

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

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

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

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

5. TARTIŞMA

Cisplatin, birçok malign tümör tedavisinde kullanılan yüksek etkili bir kemoterapotiktir. Özellikle testis, over, serviks kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, osteosarkom, özofagus ve baş-boyun kanserleri olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (1). Cisplatin tümör hücrelerinde etkisini, direk DNA hasarı ve hücreyi apoptozise götüren reaktif oksijen metabolitleri oluşturarak göstermektedir (45). Cisplatinin en önemli yan etkileri nefrotoksisite, ototoksisite, kemik iliği baskılanması ve gastrointestinal toksisite olarak karşımıza çıkmakta ve bu etkilerinden dolayı kendi kullanımını sınırlandırmaktadır. (1, 46). Nefrotoksik etkiler hidrasyon ve mannitol gibi yöntemlerle, diğer yan etkiler tedavinin bölünmesi ile kontrol edilebilirken ototoksik etkiler için halen etkili bir yöntem bulunmamaktadır (2).

Yapılan çalışmalarda cisplatin alan hastalarda % 20-90 arasında değişen oranlarda ototoksisite bildirilmiştir (46-48). Cisplatin, morfolojik olarak stria vaskularis, dış tüy hücreleri ve spiral ganglion gibi üç önemli yapıyı hedef alır (49). Ototoksisite genellikle bilateral yüksek frekanslardan başlayıp düşük frekanslara ilerleyen ve geri dönüşümsüz SNİK tip işitme kaybı şeklinde kendini gösterir. Cisplatin, DNA ve aracı proteinlere bağlanarak hücre fonksiyonlarını bozmakta ve ayrıca iç kulaktaki oksidan ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengeyi oksidan lehine kaydırmaktadır. Sonuç olarak apoptozis ile kokleadaki hücre sayısını azaltmaktadır (50, 51). Yapılan birçok çalışmada reaktif oksijen metabolitleri ve oksidanlar cisplatin kaynaklı ototoksisitede suçlanmaktadır (51). Ototoksik dozda cisplatin verilen hayvanlarda, antioksidan enzimlerde (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) ve glutatyonda azalma, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinde artış izlenmiştir (27). Hücrelerin zarlarında ortaya çıkan lipid peroksidasyonu sonucunda çok toksik olan 4-Hydroxynoneal (4-HNE) oluşur ve bu da hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artmasına sebep olur (52). Öne sürülen bu hipotezler hücre zarındaki kalsiyum kanallarının işleyişinin düzenlenmesi ve hücre içi serbest oksijen metabolitlerinin üretiminin önlenmesi veya lipid peroksidasyonunun engellenmesi sonucunda DTH ölümünün önüne geçilebileceği fikrini akla getirmektedir.

Cisplatin ototoksisitesi dozla ilişkili ve kümülatiftir. Genellikle düşük dozlu ve uzun süreli tedavilerde ototoksisite, yüksek doz tedavilere göre daha az ortaya çıkmaktadır. Yüksek doz cisplatine maruz kalan hastalarda 2000-8000 Hz arasındaki frekanslarda .40-60 dB işitme kaybı ortaya çıkmaktadır (19). Litaratürde yapılmış çalışmalarda cisplatin dozu ve uygulama sayısı değişmektedir. Kalcıoğlu ve ark. (53) 16 mg/kg, Kuduban ve ark. (54) 5mg/kg, Roldan

ve ark. (55) 10mg/kg tek doz şeklinde uygularken Hughes ve ark. (56) 2-3 mg/kg/gün 5-10 gün süreyle multidoz cisplatin uygulamışlardır (56). Bizim çalışmamızda, mortaliteye en az yol açacak ve ototoksik etkiyi oluşturacak uygunlukta bir doz olan 12 mg/kg cisplatin tek seferde uygulanmıştır.

Ototoksisiteye yönelik ilk bulgular genellikle cisplatin kullanımından 3-4 gün sonra ortaya çıkar. Cisplatin ototoksisitesinin hücresel düzeyde 3. gün başladığı ve 7-10 gün içinde en üst düzeye eriştiği gösterilmiştir (22). Hayvan çalışmalarında ise ototoksik etkinin farklı olarak 5. gün en üst seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Deney hayvanlarında cisplatin ototoksisitesinin OAE ve beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller (BİUP) ile incelenmesi sonucunda; ototoksik etkinin 2. günden sonra ortaya çıktığı, 5. günde maksimuma ulaştığı, 5. gün ile 14. günde elde edilen OAE ve BİUP kayıtları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ve 14. günden sonra ototoksik etkinin değişmediği bildirilmiştir (57). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak deney süresi 15 gün olarak belirlenmiştir.

Literatüre bakıldığında cisplatin ototoksisitesinin monitörizasyonunda fizyolojik, histolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılmıştır (1, 2, 22, 26, 44, 46). Hughes ve ark. (56) sadece ABR sonuçlarını değerlendirirken Özturan ve ark. (58) ise sadece DPOAE sonuçlarını kriter olarak belirlemişlerdir. Kalcıoğlu ve ark (53) fizyolojik monitorizasyon için DPOAE ölçümlerini ve biyokimyasal monitorizasyon için superoksit dismutaz, ksantin oksidaz ve malondialdehit seviyelerini değerlendirmişlerdir (53). Kuduban ve ark. (54) histolojik değerlendirme için ışık mikroskopisini kullanırken biyokimyasal parametreler olarak superoksit dismutaz, glutatyon ve glutatyon peroksidazı kullanmışlardır. Roldan ve ark. (55) fizyolojik olarak ABR ölçümlerini kullanırken histolojik değerlendirme için elektron mikroskopunu kullanmışlardır. Biz çalışmamızda fizyolojik monitorizasyon için DPOAE testini, histopatolojik değerlendirme için ışık mikroskopisini kullandık.

Fonksiyonel çalışmalarda cisplatin'nin hem yüksek dozlarda hem de düşük kümülatif dozlarda koklear hasara yol açtığı, BİUP, OAE ve endokoklear potansiyelin ölçüldüğü elektrokokleografik yöntemlerle gösterilmiştir (57, 59). Stavroulaki ve ark. (60) yaptıkları prospektif bir çalışmada, 50 mg/m² cisplatin kullanılan çocuklarda, 1. kür sonrasında, işitme duyusu kaybının erken teşhisi için TEOAE ve DPOAE testlerinin etkinliğini pür ton odyometri ile karşılaştırmışlardır. Ototoksisite monitorizasyonu DPOAE testinin, pür ton odyometri ve TEOAE testlerine göre özellikle yüksek frekanslarda koklear disfonksiyonu saptamakta daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Pür ton odyometri testindeki yüksek frekanslarda eşik değişikliği olmazken, DPOAE amplitüdlerinde belirgin düşüş gözlenmiştir. Özturan ve ark. (58) prostat kanseri için kümülatif 300 mg/m² cisplatin alan hastalarının

ototoksik monitörizasyonunda pür ton odyometri ve DPOAE testlerini karşılaştırmışlardır. DPOAE testi pür ton odyometriye göre 1 kür önceden işitme kaybını göstermiştir. Sockalingam ve ark. cisplatin ototoksisitesinde DTH fonksiyonlarını gösteren en duyarlı metotların TEOAE ve DPOAE testleri olduğunu belirtmişlerdir (49). Bizim çalışmamızda cisplatin ototoksisitesinin fizyolojik monitörizasyonu için DPOAE kullanılmıştır. DPOAE ölçümünü tercih etmemizin sebebi hem kokleaya spesifik hem de kolay uygulanabilir olmasıdır. Testin non-invaziv olması da önemli özelliklerinden birisidir.

Cisplatin'in yüksek frekanslarda işitme kaybı yaptığı bir çok çalışmada gösterilmiştir. Freitas ve ark. (44) yaptığı çalışmada DPOAE ölçümlerinde 3, 4, 6, 8 kHz frekanslarını değerlendirmişler ve 8 kHz frekansında anlamlı düşmeler tespit etmişlerdir. Literatürdeki diğer çalışmalarda değerlendirilen eşikler 0,5-12 kHz frekans aralığında değişmektedir (31, 44, 58). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak 0,5 ile 8 kHz frekans aralığında ölçümler yapılmıştır; cisplatin ve nimodipin grubu DPOAE 15. gün ölçümlerinde 0. güne göre özellikle yüksek frekanslarda anlamlı düşüşler saptanmıştır.

Litaratürde fonksiyonel çalışmalar her zaman histopatolojik çalışmalarla birlikte değerlendirilmemiştir. Histopatolojik çalışmalarda SV, DTH ve SG parametreleri ışık mikroskopisi veya elektron mikroskopisi ile değerlendirilmiştir (2, 46). DTH kaybının eşlik ettiği korti organı hasarının bazal kıvrımda daha yoğun olmakla birlikte kokleanın tüm kıvrımlarında oluşabildiği bildirilmiştir (61). Sluyter ve ark. (62) cisplatinin kronik kullanımı sonrasında guinea pig kokleasının bazal dönümünde strial alanda azalma izlemişlerdir. Cisplatin alımı sonrasında, strial disfonksiyonun histolojik göstergesi olabilecek endolenfatik hidrops bulguları izlenmiş ve reissner membranının korti organı üzerine katlanması saptanmıştır. Özkırış ve ark.'ın (46) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada DTH kaybı, SV ve SG hücrelerinde nükleer dejenerasyon ve sitoplazmik vokualizasyon saptamışlardır. Freitas ve ark. (44) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada ışık mikroskobu ile cisplatin ototoksisitesini değerlendirmişler ve kokleada DTH kaybı ve SV'de intermediat hücrelerde büzülme, marjinal hücrelerde sitoplazmik vokualizasyon, ödem ve atrofi saptamışlardır ancak SG hasarı gözlememişlerdir.

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. Nimodipin grubundaki histopatolojik hasarlanma cisplatin grubuna göre daha az olarak tespit edilmiştir.

Cisplatinin özellikle nefrotoksisite ve ototoksisite yan etkilerini azaltmak ve cisplatin doz artışı ile tedavi etkinliğini artırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda birçok antioksidan ve sitoprotektif ajan kullanılmıştır. Bunlar arasında N-Asetil Sistein (NAC), sodyum tiosülfat, 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, adenozin reseptör agonistleri, pantotenik asit, pifithrin, lipoik asit ve melatonin sayılabilir (7, 22, 25, 26, 29, 48, 63). Hayvan çalışmalarında cisplatin ototoksisitesinde sitoprotektif veya antioksidan maddeler sistemik ya da intratimpanik yolla kullanılmıştır.

Transtimpanik yolla, sitoprotektif ajan diğer organları etkilemeden direk yolla ve yüksek konsantrasyonda iç kulağa geçer ve sistemik yan etkileri azdır (64). Hughes ve ark. (56) tekrarlayan dozlarda cisplatine karşı intratimpanik deksametazon etkinliğini fareler üzerinde çalışmışlardır. İntratimpanik deksametazonun herhangi bir otoprotektif etkisini saptanılmamıştır. Roldan ve ark. (55) cisplatin ile ilişkili ototoksisitede intratimpanik DMSO kullanımının etkinliğini araştırmışlardır. Koklea fonksiyonel ve morfolojik olarak değerlendirilmiştir. DMSO'nun etkinliği tespit edilmemiştir.

Sistemik kullanımda dikkat edilmesi gereken, kullanılan maddenin cisplatin ile etkileşimi sonucu antitümör etkinliği bozup bozmamasıdır. Mesna, D-metionin ve sodyum tiyosülfat gibi bileşikler sistemik kullanıldığında cisplatin ile inaktif kompleks oluşturarak cisplatinin antitümör etkinliğini azaltır, bu sebeple intratimpanik yolla kullanılması önerilmiştir (50, 65). N-asetil sistein'in hem sistemik hem de transtimpanik uygulamada cisplatin kaynaklı ototoksisitede koruyucu etkileri saptanmıştır. Dickey ve ark. (66) cisplatin uygulamadan hemen önce intravenöz NAC verilmesinin BİUP eşiklerinde iyileşme sağladığını saptamışlardır. Choe ve ark. (25) intraperitoneal cisplatine karşı transtimpanik NAC uygulamasında DPOAE ölçümlerinde anlamlı olumlu sonuçlar almışlardır. Churc ve ark. (67) kobaylar üzerinde yaptığı çalışmada yüksek doz aminofostinin otoprotektif etkilerini göstermişlerdir fakat yan etki olarak nörotoksisite geliştiğini raporlamışlardır. So ve ark. (68) T- tipi spesifik kalsiyum kanal blokörü olan flurazinin cisplatin toksisitesinde etkinliğini araştırmışlardır. Cisplatinin lipit peroksidasyonu ve mitokondriyal geçirgenlik artışı gibi toksik etkilerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca flurazin oksidatif strese karşı endojen koruyucu moleküllerin salınımını arttırmıştır.

Nimodipin, kan beyin bariyerini geçebilen vazodilatör ve antiiskemik etkinliği olan L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanal blokörüdür. Kalsiyum iyonları depolarizasyonda, büyümede, eksitabilitede, yaşlanmada, öğrenmede ve hücre proliferasyonunda sonuç olarak nöronal fonksiyonlarda çok önemli rol oynamaktadır. Litaratürde nimodipin subaraknoid kanama sonrası serebral vazospazmda ve inme sonrası nörolojik defisitlerin gerilemesinde kullanılmıştır (8, 38-43, 69). Serebral damarlardaki anti-vazokonstrüktör etkisinden dolayı tinnitus ve meniere gibi durumlarda olumlu sonuçlar tespit edilmiştir (43).

Seok ve ark. (70) ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş global iskemide, nimodipinin nöroprotektif etkinliğini çalışmışlardır. İskemik grupta nöronal hasar göstergesi olan glutamat seviyesi nimodipin verilen gruba göre anlamlı yüksek saptanmıştır.

Robin ve ark. (71) ratlarda travma sonrası fasiyal sinir iyileşmesinde nimodipinin etkisini araştırmışlardır. Nimodipin ile tedavi edilen grupta fasiyal sinir iyileşmesi anlamlı yüksek saptanmıştır.

Ochı ve ark. (72) kinin ototoksitesine karşı nimodipinin etkinliğini kobaylar üzerinde araştırmışlardır. Bileşik aksiyon potansiyelleri yuvarlak pencereden kaydedilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre nimodipinin herhangi bir etkisinin olmadığını raporlamışlardır. Ochı ve ark. (43) salisilat ototoksitesinde nimodipinin etkinliğini kobaylar üzerinde çalışmışlardır. Bileşik aksiyon potansiyeller ve koklear kan akım parametrelerini değerlendirmişlerdir. Nimodipinin aksiyon potansiyellerine herhangi bir etkisi olmazken, koklear kan akımını artırdığı tespit edilmiştir. Bu etkisinden dolayı nimodipinin otoprotektif etkisi olabileceği vurgulanmıştır.

Hipotezler ışığında bizim çalışmamızda antioksidan, nöroprotektif ve kalsiyum metabolizmasında etkileri olan nimodipinin kullanılması uygun görülmüştür.

Litaratürde nimodipin kullanımı ve dozu çeşitli şekillerde belirlenmiştir. Ochı ve ark. (43, 72) kinin ve salisilat ototoksitesine karşı nimodipini subkutanöz 2mg/kg tek doz şeklinde kullanmışlardır. Seok ve ark. (70) ratlarda yaptığı deneysel global iskemi çalışmasında nimodipini 0.025 µg/100 mg/dk 10 dakika infuzyon şeklinde uygulamışlardır. Angelov ve ark. (73) fasiyal sinirin cerrahi tamiri sonrası aksonal yenilenme üzerine ratlarda yaptıkları çalışmada 1000 ppm nimodipin içeren besin tabletlerini kullanmışlardır. Robin ve ark. (71) ratlarda travma sonrası nimodipinin fasiyal sinir iyileşmesine olan etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada nimodipini subkutanöz salınımlı implant şeklinde kullanmışlardır. Dölen ve ark. (74) yaptığı travmatik fasial sinir yaralanmalarında nimodipin ve metilprednizolonun iyileşmeye etkileri konusunda ratlar üzerinde yaptığı uzmanlık tezinde nimodipini 0,5

mg/kg/gün intraperitoneal olarak uygulamışlardır. Bizim çalışmamızda nimodipin litaratürle uyumlu olarak 0,5 mg/kg intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

DeneySEL bir hayvan çalışmasında spinal kord yaralanması modelinde nalorfin, metilprednizolon ve nimodipinin etkileri araştırılmıştır. İlaçların verilmesinden 24 saat sonra spinal kordlarda kraniokaudal olarak likefaksiyon nekrozu değerlendirilmiş ve skorlanmıştır. En iyi sonucun nalorfin verilen grupta daha sonra da metilprednizolon verilen grupta izlendiği fakat tüm grupların kontrol grubuna göre anlamlı düzelme sağladığı bildirilmiştir. Çalışma sonunda nimodipinin spinal kord hasarı sonrası dakikalar içinde başlanması gerekliliğini bildirmişlerdir (75). Bizim çalışmamızda nimodipin uygulamasını cisplatin verilmesinin hemen sonrasında yapılmıştır.

Bizim çalışmamızda litaratürde ilk olarak cisplatin ototoksitesinde nimodipinin 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 nimodipin kullanıldığında, DTH, stria vaskularis ve spiral gangliyon bölümlerindeki hasar, elektrofizyolojik ve histopatolojik değerlendirmede daha az olduğu istatistiksel olarak ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, çalışmamızda nimodipinin, 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 nimodipin kullanımının etkinliğini, fizyolojik ve histolojik olarak değerlendirdiğimiz çalışma sonucunda;

- 1- Cisplatin uygulanan tüm ratlarda ototoksiste DPOAE testi ile ortaya konulmuştur.
- 2- Çalışmamızda kullanılan 12 mg/kg cisplatin dozu ratlarda ototoksiste oluşturmak için yeterli olmuştur. Çalışmamızda bu dozda toksik sebeplerle 2 rat kaybedilmiştir.
- 3- Cisplatin uygulanan tüm ratlarda DPOAE ölçümlerinde düşme saptanmıştır. Cisplatin tedavisi ile birlikte nimodipin verilen ratların DPOAE ölçümlerinde, sadece cisplatin kullanılanlara göre daha az düşme saptanmıştır.
- 4- Rat koklealarının ışık mikroskopisi histopatolojik incelemesinde, cisplatin grubundaki DTH, SV ve SG skorları nimodipin grubundan daha yüksek tespit edilmiştir.
- 5- Elde ettiğimiz sonuçlara göre nimodipinin cisplatin kaynaklı ototoksistede potansiyel etkinliğinin olduğunu düşünmekteyiz. Ancak bu etkiyi destekleyecek birçok deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Saleh S, Demerdash E. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97: 91-7.
2. Goncalves MS, Silveira AF, Teixeira AR, Hyppolito MA. Mechanisms of cisplatin ototoxicity: theoretical review. *J Laryngol Otol* 2013; 127(6): 536-41.
3. Biro K, Baki M, Buki B, Noszek L, Jokuti L. Detection of early ototoxic effect in testicular-cancer patients treated with cisplatin by transiently evoked otoacoustic emission: a pilot study. *Oncology* 1997; 54(5):387-90.
4. Rybak L, Whitworth C. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today* 2005; 10:1313-21.
5. Schweitzer VG. Cisplatin-induced ototoxicity: the effect of pigmentation and inhibitory agents. *Laryngoscope* 1993; 103:1-52.
6. Hinojosa R, Riggs LC, Strauss M, Matz GJ. Temporal bone histopathology of cisplatin ototoxicity. *Am J Otol* 1995; 16(6):731-40.
7. 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.
8. Allen GS, Ahn HS, Preziosi TJ, Battye R, Boone SC, Chou SN, et al. Cerebral arterial spasm—a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *New England Journal of Medicine* 1983; 308(11):619-624.
9. Lassen LF, Hirsch BE, Kamerer DB. Use of nimodipine in the medical treatment of Meniere's disease: clinical experience. *Otology & Neurotology* 1996; 17(4):577-580.
10. Schleuning A. Tinnitus. Ed: I.B, JB, *Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. Lipincott Company, Philedelphia, 1993
11. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. s.29-102 Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 2002.
12. Donaldson J, Duckert L. *Otolaryngology*. 3th Edition, Vol 1, pp.23-58, WB Saunders Co, Philadelphia, 1991
13. Devranoğlu İ. Dış ve Orta Kulak Cerrahisi. s.1-10, Deomed yayıncılık, İstanbul, 2011.
14. Cingi C. Kulak Burun Boğaz Enfeksiyonları. s.9-24. Senk Matbaacılık, Eskişehir, 2008.
15. Ballenger JJ. *Ear Anatomy*. Ed: D.F. Austin, *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. pp.838-857, Williams-Wilkins, USA, 2009.

16. Emedicine.medscape.com/article/1948907.
17. Cummings C, Flint P. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Koklear anatomi ve santral işitme yolları. s.3373-3396, Güneş Tıp Kitabevi , Ankara, 2007.
18. Karasalihoğlu A. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 3. Basım, s.3-14, Güneş Kitabevi, Ankara, 2003.
19. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Cilt 2, s.269-282, Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 2007.
20. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 2, s.415-430, Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara, 2002.
21. Rutka R, Ototoxicity. pp.50-179, BC Decker Inc., USA, 2004.
22. Çakıl B. Deneysel Olarak Oluşturulan Cisplatin Ototoksisitesini Önlemede Ginkgo Biloba Ekstresinin Etkinliğinin DPOAE Testi ile Araştırılması. 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Samsun, 2008.
23. Sie KC, Norton SJ. Changes in Otoacoustic Emissions and Auditory Brain Stem Response after C/s-Platinum Exposure in Gerbils. Otolaryngology-Head and Neck Surgery 1997; 116(6):585-592.
24. Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D, et al. Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. Otolology & Neurotology 1997; 18(5):559-571.
25. Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. Otolology & Neurotology 2004; 25(6):910-915.
26. 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.
27. Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. Otolology & Neurotology 2000; 21(4):513-520.
28. Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing: cause, consequence, and criteria. Annals of the New York Academy of Sciences 1999; 884(1):19-40.
29. 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.

30. Kayaalp S. Tıbbi Farmakoloji. 9. Basım, Cilt 2, s.1564-7, Hacettepe Taş Yayınevi, Ankara, 2007.
31. 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.
32. Ballenger JJ. Diagnostic Audiology Hearing Devices. Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. 15 edition, pp.960-3, Williams-Wilkins, 2000.
33. Bray P, Kemp D. An advanced cochlear echo technique suitable for infant screening. British journal of audiology 1987; 21(3):191-204.
34. Margolis RH, Bass-Ringdahl S, Hanks WD, Holte L, Zapala DA. Tympanometry in newborn infants-1 kHz norms. Journal of the American Academy of Audiology 2003; 14(7):383-392.
35. Penner M, Zhang T. Prevalence of spontaneous otoacoustic emissions in adults revisited. Hearing research 1997; 103(1):28-34.
36. Özturan O, Lew H, Jerger J. Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. KBB İhtisas Dergisi 1994; 2:194-205.
37. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. Ear and hearing 1993; 14(1):11-22.
38. Bayer A, Product information nimotop. Germany, 2011
39. Gelmers H. Calcium-channel blockers: effects on cerebral blood flow and potential uses for acute stroke. The American journal of cardiology 1985; 55(3):B144-B148.
40. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. s.388-394, Feryal Matbaacılık, Ankara, 2009
41. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, et al. Acute spinal cord injury, part II: contemporary pharmacotherapy. Clinical neuropharmacology 2001; 24(5):265-279.
42. Ismailoglu O, Atilla P, Palaoglu S, Cakar N, Yasar U, Kilinc K, ve ark. The therapeutic effects of melatonin and nimodipine in rats after cerebral cortical injury. Turkish neurosurgery 2011; 22(6):740-746.
43. Ochi K, Kinoshita H, Kenmochi M, Nishino H, Ohashi T. Effects of nimodipine on salicylate ototoxicity. The Annals of otology, rhinology and laryngology 2002; 111:1092-1096.

44. Freitas M, Castro BG, De CJ, Gomes R, Barreto MM, Albuquerque RR. Light microscopy study of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *The Journal of Laryngology & Otology* 2009; 123(06):590-597.
45. Wang D, Lippard S. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature reviews Drug discovery* 2005; 4(4):307-320.
46. Özkırış M, Kapsuz Z, Karaçavuş S, Saydam L. The effects of lycopene on cisplatin-induced ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2013; 270(12):3027-3033.
47. Stocks RM, Gould HJ, Bush AJ, Dudney BW, Pousson M, Thompson JW. Ototoxic protection of sodium thiosulfate: daily vs constant infusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 131:115-9.
48. Rutka R. Ototoxicity. pp.50-179, BC Decker Company, Canada, 2004.
49. Sockalingam R, Freeman S, Cherny L, Sohmer H. Effect of high-dose cisplatin on auditory brainstem responses and otoacoustic emissions in laboratory animals. *Otology & Neurotology* 2000; 21(4):521-527.
50. Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing research* 2007; 226(1):157-167.
51. Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V. Cisplatin ototoxicity and protection: clinical and experimental studies. *The Tohoku journal of experimental medicine* 2009; 219(3):177.
52. Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, Butterfield DA. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hearing research* 1996; 98(1):116-124.
53. Kalcıoglu 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.
54. 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
55. Roldan FA, Trinidad A, Rodriguez VA, Garcia BJ, Millan I, Coronado M, et al. Effect of intratympanic dimethyl sulphoxide (DMSO) in an in vivo model of cisplatin-related ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2014; 271:3121-32261.

56. 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.
57. Güneri EA. Kobaylarda Deneysel Olarak Cisplatinle Oluşturulmuş Ototoksisitede Pantotenik Asit Kullanımın OAE ile Değerlendirilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 1998
58. 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.
59. Laurell G, Engström B. The ototoxic effect of cisplatin on guinea pigs in relation to dosage. *Hearing research* 1989; 38(1):27-33.
60. Stavroulaki P, Apostolopoulos N, Segas J, Tsakanikos M, Adamopoulos G. Evoked otoacoustic emissions-an approach for monitoring cisplatin induced ototoxicity in children. *International journal of pediatric otorhinolaryngology* 2001; 59(1):47-57.
61. Blumenreich MS, Woodcock TM, Jones M, Richman SP, Gentile PS, Kubota TT, et al. High-dose cisplatin in patients with advanced malignancies. *Cancer* 1985; 55(5):1118-1122.
62. Sluyter S, Klis SF, Groot JC, Smoorenburg GF. Alterations in the stria vascularis in relation to cisplatin ototoxicity and recovery. *Hearing research* 2003; 185(1):49-56.
63. Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. *Journal of pineal research* 2000; 28(2):73-80.
64. Light JP, Silverstein H. Transtympanic perfusion: indications and limitations. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 2004; 12(5):378-383.
65. Campbell KCM, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. D-Methionine protects against cisplatin damage to the stria vascularis. *Hearing Research* 1999; 138:13-28.
66. Dickey DT, Wu YJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. Protection against cisplatin-induced toxicities by N-acetylcysteine and sodium thiosulfate as assessed at the molecular, cellular and in vivo levels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2005; 314(3):1052-1058.
67. 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.

68. 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.
69. Gispen W, Schuurman T, Trabe J. Nimodipine and neural plasticity in the peripheral nervous system of adult and aged rats. *The Calcium Channel: Structure, Function and Implications*. pp.491-502, Springer, Italy, 1988.
70. Seok KC, Lee GJ, Choi S, Kim YJ, Park HK, Park BJ. Neuroprotective Effects by Nimodipine Treatment in the Experimental Global Ischemic Rat Model: Real Time Estimation of Glutamate. *J Korean Neurosurg Soc* 2011; 49:1-7.
71. Robin LW, Heaton JT, Edwards C, Smitson C, Hadlock TA. Nimodipine and acceleration of functional recovery of the facial nerve after crush injury. *Archives of facial plastic surgery* 2010; 12(1):49-52.
72. Ochi K, Kinoshita H, Kenmochi M, Nishino H, Ohashi T. Effects of nimodipine on quinine ototoxicity. *Annals of otology rhinology and laryngology* 2003; 112(2):163-168.
73. Angelov DN, Neiss WF, Streppel M, Andermahr J, Mader K, Stennert E. Nimodipine accelerates axonal sprouting after surgical repair of rat facial nerve. *The Journal of neuroscience* 1996; 16(3):1041-1048.
74. Dölen T. Travmatik fasial sinir yaralanmalarında nimodipin ve metilprednizolon'un iyileşme üzerine etkileri. *Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Elazığ, 2012.*
75. Seçkin Z, Alp MS, Aykol Ş, Orbay T, Ataoğlu Ö. Deneysel spinal kord yaralanmalarında farklı ilaç gruplarının etkisi. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 1991; 2:10-13

8. ÖZGEÇMİŞ

Osmaniye’de 1986 yılında doğdum. İlköğrenimimi Osmaniye Yavuz Selim İlkokulu’nda, orta öğrenimimi Osmaniye Saim Bey İlköğretim okulunda tamamladım. İskenderun İbni Sina Anadolu Lisesini bitirdim. 2004 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde yüksek öğrenimime başlayıp 2010 yılında mezun oldum. Doktorluk mesleğime Erzincan Kemah Devlet Hastanesinde başladım. 2010 Eylül döneminde girdiğim Tıpta Uzmanlık Sınavında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı’na yerleştim. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.