

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ-BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MEMANTİN VE İZOTRETİNOİNİN OTOTOKSİSİTEYE
KARŞI KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Mehmet Akif ALAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2016

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ-BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MEMANTİN VE İZOTRETİNOİNİN OTOTOKSİSİTEYE
KARŞI KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Mehmet Akif ALAN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Yrd. Doç Dr. Mehmet Akif ERYILMAZ

KONYA, 2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, bu tezin hazırlanmasında da katkılarını esirgememiş olan çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akif Eryılmaz' a şükran ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimimde katkıları olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Fuat Yöndemli, Prof. Dr. Çağatay Han Ülkü, Prof. Dr. Hamdi Arbağ, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akif Dündar ve Yrd. Doç. Dr. Mitat Arıcıgil' e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmadaki büyük katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Figen Kaymaz ve Uzm. Dr. Ayşegül Süzer' e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesindeki desteklerinden dolayı Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne teşekkürlerimi sunarım.

Klinikte beraber çalışmaktan büyük keyif aldığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve klinik personeline teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim süresince sevgisi ve desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Uzm. Dr. Cemre Alan' a, kızıma, anneme ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2016

Dr. Mehmet Akif ALAN

ÖZET

Memantin ve İzotretinoinin Ototoksisiteye Karşı Koruyucu Etkisi

Dr. Mehmet Akif ALAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2016

Amaç: Bu tez çalışmasında cisplatin, amikasin ve akustik travma ile üç farklı grup hayvan modelinde oluşturulan ototoksisitenin, memantin ve izotretinoin ile önlenmesi ve bu sayede ototoksisite ve sensörinöral işitme kaybı patofizyolojisi ve tedavisi için yeni bir yaklaşım tanımlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: 70 tane Wistar Albino rat 7 denekten oluşan kontrol grubuna, 21'er denekten oluşan üç gruba ve bu üç grup kendi içinde 7'şer denekten oluşan A, B, C gruplarına rastgele ayrıldı. Çalışma öncesi tüm deneklerin işitme değerlendirilmesi anestezi altında BİUP ve DPOAE testleriyle belirlendi. Grup IA' ya cisplatin, Grup IB' ye cisplatin ve memantin, Grup IC' ye cisplatin ve izotretinoin verildi. Grup IIA' ya amikasin, Grup IIB' ye amikasin ve memantin, Grup IIC' ye amikasin ve izotretinoin verildi. Grup IIIA' ya akustik travma, Grup IIIB' ye akustik travma ve memantin, Grup IIIC' ye akustik travma ve izotretinoin verildi. Grup IV' e ilaç ve akustik travma verilmedi. Bütün gruplarda 3 günlük gözlem sonrası anestezi altında BİUP ve DPOAE Testleri ile tekrar işitme değerlendirilmesi yapıldı. Çalışma sonunda tüm ratlara genel anestezi altında ötanazi uygulandı ve kokleaları çıkarılarak transmisyon elektron mikroskopik inceleme yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda DPOAE sonuçlarımıza göre cisplatin, amikasin ve akustik travma ototoksisitesi oluştu. BİUP sonuçlarımıza göre cisplatin ve amikasin ototoksisitesi oluştu. Akustik travma BİUP bulgularımızda istatistiksel değişikliğe neden olmadı. Memantin her üç tip ototoksisitede, izotretinoinin ise cisplatin ve akustik travma ototoksisitesinde işitsel ve hücresel düzeyde koruyucu etkilerinin olduğu izlendi.

Sonuç: Memantin her üç tip ototoksisitedeki koruyucu etkisinin glutamat eksitotoksisitesi hipotezinden hareketle NMDA reseptör antagonizması ile olabileceğini, izotretinoinin ise cisplatin ve akustik travma ototoksisitesinde antioksidan mekanizma ile koruyucu etkisi olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Cisplatin, amikasin, akustik travma, eksitotoksisite

Bu tez Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından “151518010” proje numarası ile desteklenmiştir.



ABSTRACT

The Protective Effect of Memantine and Isotretinoin Against Ototoxicity

Background: In this study prevention of ototoxicity, which was established in three different rat models by administrating cisplatin, amikacin and acoustic trauma, with memantine and isotretinoin and in this way description of a new management for ototoxicity and pathophysiology and treatment of sensorineural hearing loss was aimed.

Methods: 70 Wistar Albino rat were divided into 4 groups: control group which includes 7 rats, 3 study groups each consist of 21 rats and these study groups were divided into A,B,C subgroups each consist of 7 rats randomly. Before study, hearing evaluation of all rats were tested under anesthesia with ABR and DPOAE. Group IA was administrated cisplatin, Group IB was administrated cisplatin and memantine, Group IC was administrated cisplatin and isotretinoin. Group IIA was administrated amikacin, Group IIB was administrated amikacin and memantine, Group IIC was administrated amikacin and isotretinoin. Group IIIA was exposed to acoustic trauma, Group IIIB was exposed to acoustic trauma and administrated memantine, Group IIIC was exposed to acoustic trauma and administrated isotretinoin. Group IV was not exposed to acoustic trauma and not administrated any medication. After 3 days observation, all of these groups had hearing tests under anesthesia with ABR and DPOAE again. At the end of the study, euthanasia was performed under general anesthesia in all rats, and cochleas of all rats were removed and transmission electron microscopic examination was performed.

Results: In our study according to DPOAE results, amikacin and acoustic trauma ototoxicity occurred. According to our ABR results, we found ototoxicity of cisplatin and amikacin. Acoustic trauma did not cause statistical alteration in our ABR findings. It was observed that memantine in three ototoxicity models and isotretinoin in cisplatin and acoustic trauma ototoxicity model were protective effects for auditory and cellular level in ototoxicity.

Conclusion: We conclude that the protective effect of memantine on all three types of ototoxicity may be due to NMDA receptor antagonism on the basis of glutamate

excitotoxicity hypothesis, and that isotretinoin may be a protective effect of antioxidant mechanism in cisplatin and acoustic trauma ototoxicity.

Key words: Cisplatin, amikacin, acoustic trauma, excitotoxicity



İÇİNDEKİLER

Sayfa:

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İç Kulak Embriyolojisi.....	3
2.2. İç Kulak Anatomisi.....	4
2.2.1. Membranöz Labirent ve İç Kulak Sıvıları.....	5
2.2.2. Sensöryal Hücreler.....	7
2.2.3. İç Kulağın Vaskülarizasyonu.....	10
2.2.4. Koklear İnervasyon.....	10
2.3. İşitme Fizyolojisi.....	11
2.3.1. İç Kulak Fizyolojisi.....	12
2.3.2. Koklear Potansiyeller.....	14
2.4. Ototoksisite.....	14
2.4.1. Cisplatin Ototoksisitesi.....	15
2.4.1.1. Farmakokinetik.....	15
2.4.1.2. Histopatoloji.....	15
2.4.1.3. Klinik Bulgular.....	16
2.4.1.4. Korunma.....	17
2.4.2. Aminoglikozid Ototoksisitesi.....	17
2.4.2.1. Farmakokinetik.....	18
2.4.2.2. Histopatoloji.....	18
2.4.2.3. Klinik Bulgular.....	19
2.4.2.4. Korunma.....	19

2.4.3. Akustik Travma.....	20
2.4.3.1. Histopatoloji.....	20
2.4.3.2. Klinik Bulgular.....	21
2.4.3.3. Korunma.....	21
2.5. Memantin.....	21
2.6. Vitamin A ve İzotretinoin.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	25
3.2. Anestezi.....	26
3.3. DPOAE Testi Uygulanması.....	27
3.4. BİUP Testi Uygulanması.....	28
3.5. Cerrahi.....	29
3.6. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İnceleme Yöntemi.....	29
3.7. İstatistiksel Değerlendirme.....	29
4. BULGULAR.....	31
4.1. DPOAE Bulguları.....	31
4.1.1. Grup I.....	31
4.1.2. Grup II.....	36
4.1.3. Grup III.....	41
4.1.4. Grup IV (Kontrol Grubu).....	46
4.2. BİUP Bulguları.....	50
4.2.1. Grup I.....	50
4.2.2. Grup II.....	52
4.2.3. Grup III.....	54
4.2.4. Grup IV (Kontrol Grubu).....	55
4.3. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İnceleme Bulguları.....	57
4.3.1. Grup I.....	57
4.3.2. Grup II.....	61
4.3.3. Grup III.....	65
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ.....	87
7. KAYNAKLAR.....	90

TABLolar DİZİNİ

Sayfa:

Tablo 4.1. Grup I' in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.....	32
Tablo 4.2. Grup I' in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalama farkları ve standart sapmaları.....	33
Tablo 4.3. Grup IA-IB-IC' nin işlem öncesi SNR ortalama farkları.....	34
Tablo 4.4. Grup IA-IB-IC' nin işlem sonrası SNR ortalama farkları.....	35
Tablo 4.5. Grup II' nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.....	37
Tablo 4.6. Grup II' nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalama farkları ve standart sapmaları.....	38
Tablo 4.7. Grup IIA-IIB-IIC' nin işlem öncesi SNR ortalama farkları.....	39
Tablo 4.8. Grup IIA-IIB-IIC' nin işlem sonrası SNR ortalama farkları.....	40
Tablo 4.9. Grup III' ün ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.....	42
Tablo 4.10. Grup III' ün ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalama farkları ve standart sapmaları.....	43
Tablo 4.11. Grup IIIA-IIIB-IIIC' nin işlem öncesi SNR ortalama farkları.....	44
Tablo 4.12. Grup IIIA-IIIB-IIIC' nin işlem sonrası SNR ortalama farkları.....	45
Tablo 4.13. Grup IV' ün işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.....	47
Tablo 4.14. Kontrol Grubu ile Grup IA, IIA ve Grup IIIA' nın işlem öncesi SNR ortalama farkları.....	48

Tablo 4.15. Kontrol Grubu ile Grup IA, IIA ve Grup IIIA' nın işlem sonrası SNR ortalama farkları.....	49
Tablo 4.16. Grup I' in işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları ve standart sapmaları.....	50
Tablo 4.17. Grup I' in BİUP eşik ortalamalarının işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları.....	51
Tablo 4.18. Grup I' in işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik farkları.....	51
Tablo 4.19. Grup II' nin işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları ve standart sapmaları.....	52
Tablo 4.20. Grup II' nin BİUP eşik ortalamalarının işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları.....	52
Tablo 4.21. Grup II' nin işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik farkları.....	53
Tablo 4.22. Grup III' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları ve standart sapmaları.....	54
Tablo 4.23. Grup III' ün BİUP eşik ortalamalarının işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları.....	54
Tablo 4.24. Grup III' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik farkları.....	55
Tablo 4.25. Grup IV' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik değerleri ortalaması ve standart sapmaları.....	56
Tablo 4.26. Kontrol Grubu ile Grup IA, IIA ve IIIA' nın işlem öncesinde ve sonrasında BİUP eşik farkları.....	56
Tablo 4.27: Grup I' in koklear morfolojik değişiklik skorlaması.....	61
Tablo 4.28: Grup II' nin koklear morfolojik değişiklik skorlaması.....	65
Tablo 4.29: Grup III' ün koklear morfolojik değişiklik skorlaması.....	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa:

Şekil 2.1: Koklear sinirin modiölustan Corti organına geçişi.....	5
Şekil 2.2: Corti organını ve temel hücreseö yapılarını gösteren kesit.....	5
Şekil 2.3: Bazal turda Corti organının retiküler laminasını gösteren scanning elektron mikrografı.....	7
Şekil 2.4: İç ve dış tüylü hücrelerin şematik tasviri.....	9
Şekil 2.5: Basit harmonik hareket.....	12
Şekil 2.6: Sesin kokleadaki yayılımının şematik gösterimi.....	14

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa:

Resim 3.1: DPOAE probunun rat kulağına yerleştirilmesi.....	27
Resim 3.2: BIUP Testi Uygulaması.....	28
Resim 4.1: Kontrol Grubu ve Grup I' in yarı ince kesit görüntüleri.....	59
Resim 4.2: Grup I' in transmisyon elektron mikroskopik görüntüleri.....	60
Resim 4.3: Kontrol Grubu ve Grup II' nin yarı ince kesit görüntüleri.....	63
Resim 4.4: Grup II' nin transmisyon elektron mikroskopik görüntüleri.....	64
Resim 4.5: Kontrol Grubu ve Grup III' ün yarı ince kesit görüntüleri.....	67
Resim 4.6: Grup III' ün transmisyon elektron mikroskopik görüntüleri.....	68

SİMGELER ve KISALTMALAR

AMPA: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asid

ATP az: Adenozin trifosfataz

BİUP: Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri

dB: Desibel

DNA: Deoksiribo nükleik asit

DPOAE: Distortion product otoacoustic emissions

HL: Hearing level

Hz: Hertz

NMDA: N-Metil D-Aspartat

PTS: Permenant threshold shift

SNR: Signal Noise Ratio

SPL: Sound pressure level

Std. S: Standart sapma

TEM: Transmisyon elektron mikroskopi

TGF- â1: Transforming growth faktör- â1

TTS: Temporary threshold shift

i.p: İntraperitoneal

s.c: Subkutanöz

mg/kg: miligram/kilogram

1.GİRİŞ-AMAÇ

Ototoksisite herhangi bir ilaç ve kimyasal madde nedeniyle gelişen, kalıcı veya geri döndürülebilir iç kulak hasarıdır. Ototoksisiteye neden olan ilaçlar; antibiyotikler, kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ilaçlar, diüretik grubu ilaçlar, salisilatlar olarak sınıflanabilir. Güncel pratikte en sık karşılaşılan ototoksik ajanlar; aminoglikozid grubu antibiyotikler ve kemoterapi protokollerinde sıklıkla yer alan Cis-diaminedichloroplatinium(cisplatin) grubu antineoplastik ajanlardır. Ototoksik etkileri olmayan ve aminoglikozidlere tercih edilebilecek antibiyotiklerin geliştirilmesi ototoksisite açısından umut verici olsa da cisplatin grubu antineoplastik ajanlar birçok kemoterapi protokolünün vazgeçilmezi olmaya devam etmektedir.

Ani ve yüksek şiddetteki gürültüye maruz kalma sonucunda oluşan geçici veya kalıcı sensörinöral işitme kaybına akustik travma denir. Akustik travma da gürültüye bağlı oluşan bir tür ototoksisitedir.

Cisplatin, aminoglikozidler ve akustik travma ototoksisitesi uzun dönemdir bilinen ve üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış konulardır ancak üzerinde fikir birliğine varılmış kesin tedavi yöntemleri yoktur(Duan 2000, Gonçalves 2013, Langer 2013, Polony 2014).

Kokleadaki en önemli aferent nörotransmitterin glutamat olduğu ve iç tüylü hücrelerden salınan glutamatın spiral gangliondaki nöronların terminal uçlarındaki N-Metil D-Aspartat(NMDA) reseptörlerine bağlandığı bilinmektedir(Eybalin 1993, Duan 2000). İskemi, inme, hipoglisemi, alkol intoksikasyonu ve epilepsiye bağlı eksitotoksik hücre ölümünde NMDA reseptörleri önemli rol oynamaktadır(Brassai 2014). Cisplatine bağlı bulantı, kusmada ve cisplatinin periferik nöropatik etkilerinde NMDA reseptörlerinin rol oynadığı ile ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur(Lehmann 1996, Lucot 1998, Carozzi 2010). Ancak literatürde cisplatinin neden olduğu ototoksisite ve bu ototoksisitenin NMDA reseptör blokörleri ile tedavisi konusunda yapılmış çalışma yoktur.

Aminoglikozidlerin de NMDA reseptörleri üzerinden eksitotoksik hücre hasarı yoluyla ototoksisiteye neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(Pavlidis 2014). Aminoglikozidlerin neden olduğu ototoksisitenin ve akustik travmaya bağlı gelişen sensörinöral işitme kaybının NMDA reseptör blokörü yoluyla önlenmesi ile ilgili literatürde yapılmış sınırlı sayıda çalışma mevcuttur(Duan 2000, Pavlidis 2014).

A vitamininin serebral iskemide, inmede ve nörotoksisitede nöroprotektif etkileri ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur(Choi 2009). Ancak ototoksisitede ve akustik travmada kullanımına ilişkin yapılmış çalışma yoktur.

Cisplatin, amikasin ve akustik travma ile üç farklı grup hayvan modelinde oluşturulan ototoksisitenin, memantin (NMDA reseptör blokörü) ve izotretinoin (A vitamini türevi) ile önlenmesi ve bu sayede ototoksisite ve sensörinöral işitme kaybı patofizyolojisi ve tedavisi için yeni bir yaklaşım tanımlamak amaçlanmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. İç Kulak Embriyolojisi

Kulak 3 anatomik bölümden oluşur;

- Dış kulak; aurikula (pinna), dış akustik yol, timpan zarın dış bölümlerinden oluşur.
- Orta kulak; timpan zarın iç bölümünü iç kulağın oval penceresine bağlayan 3 auditör kemik zincirinden oluşur.
- İç kulak; işitme ve denge ile ilgili vestibülokoklear organdan oluşur.

İç kulak diğer bölümlerden en erken gelişmeye başlayan kısımdır. 4. hafta başında arka beynin ardındaki myelensefalonun her iki yanında yüzey ektodermin kalınlaşması sonucu otik placode oluşur. Notokord ve paraksiyal mezodermden gelen indüktif etkiler yüzeyel ektodermden otik plakların oluşumunu uyarır. İki otik plak yüzey ektodermden hemen içe kıvrım yapar ve otik plakların oluşumu altındaki mezenkime doğru döner. Böylece otik çukur oluşur. Otik pit kenarları birleşir ve otik kese (membranöz labirent tohumu) oluşur. Yüzey ektoderm ile bağlantısını kaybeden otik keseden oluşan bir divertikül gelişip endolenfatik kanal ve kesesini oluşturmak üzere uzar. Bu halde otik kesenin iki bölgesi tanımlanabilir:

- Endolenfatik kanal, utrikül ve yarım daire kanallarının geliştiği arka utriküler bölüm
- Spiral organın (Corti) içinde bulunduğu koklear kanal ve sakkulusu oluşturan ön sakküler bölge

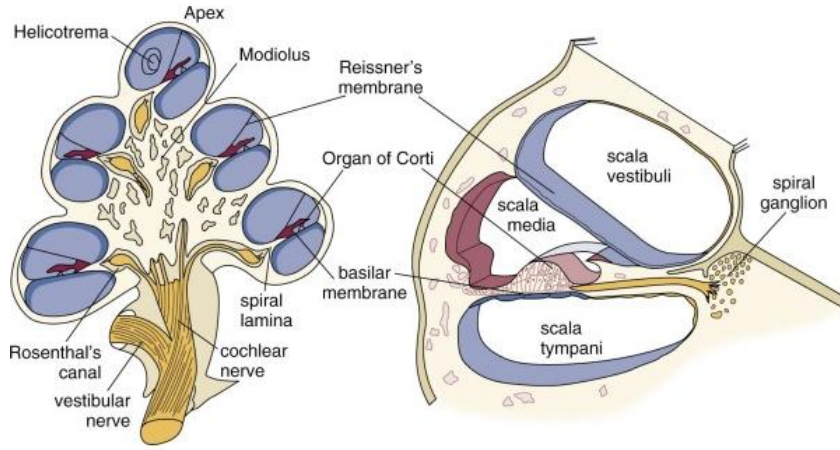
Disk benzeri 3 divertikül, gelişen membranöz labirentin utriküler bölümünden oluşur. Ardından bu divertiküllerin orta bölümleri birleşir ve kaybolur. Divertiküllerin birleşmeyen periferik bölümleri, utrikül ile birleşik yarım daire kanallarını oluşturur ki bunlar kemik labirentin yarım daire kanalları içinde kalırlar. Her yarım daire kanalının bir ucundan yerel genişleme ile belirgin ampulla oluşur.

Otik kesenin ön sakküler bölümünden tübüler divertikül yapısında koklear kanal gelişir ve membranöz kokleayı oluşturmak için kıvrılır. Koklea sakkulus ile birleşir ve ductus reuniens oluşur. Spiral organ (Corti) koklear kanal duvarlarındaki hücrelerden farklılaşır. Sekizinci kafa sinirinin ganglion hücreleri membranöz koklea kıvrımları boyunca göç ederler ve spiral ganglionu oluştururlar. Sinir uzantıları bu gangliondan tüylü hücrelerde sonlanan spiral organa uzanırlar. Spiral gangliondaki bu hücreler embriyonik bipolar yapısını korurlar, diğer spinal ganglion hücreleri gibi unipolar değildirler.

Otik kesenin indüktif etkileri otik kese etrafındaki mezenkimin yoğunlaşp kırıkdağımsı otik kapsüle dönüşmesini uyarr. Histokimyasal ve in vitro çalışmalar sonunda iç kulaktaki epitel-mezenkim ilişkilerini ve otik kapsül oluşmasını düzenlemede transforming growth faktör- $\alpha 1$ (TGF- $\alpha 1$)' in rolü olabileceği öne sürülmüştür (Frenz 1991). Membranöz labirent genişledikçe vakuoller belirir ve bunlar daha sonra birleşip perilenfatik aralığı oluşturur. Böylece membranöz labirent üstünde yer alır. Koklea kanalı ile ilgili perilenfatik aralık iki kısma ayrılır: scala timpani ve scala vestibüli. Daha sonra kırıkdağımsı otik kapsül iç kulağın kemik labirentini oluşturmak üzere kemikleşir. İç kulak erişkin boyut ve şekline fetal dönemin ortalarında (20-22 hafta) ulaşır (Moore 2009).

2.2. İç Kulak Anatomisi

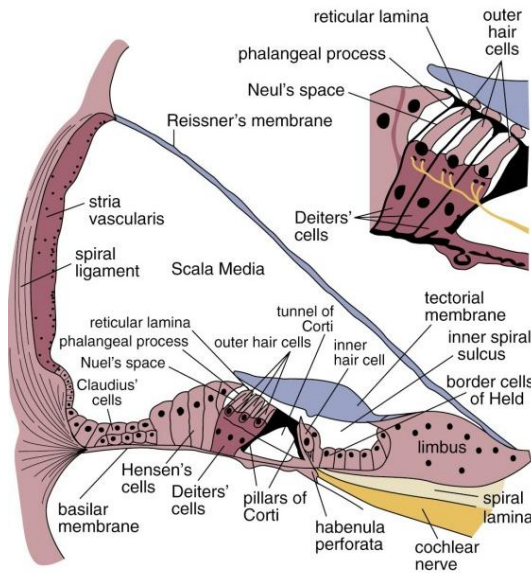
İç kulak temporal kemiğin petröz apeksinde yer alır ve osseöz veya kemik labirent adı verilen kemik yapı tarafından örtülür. Koklea ve vestibüler labirenti oluşturan kemik, insan vücudunda yer alan en sert kemik dokudur. Labirent üç parçaya ayrılır: vestibül, koklea ve semisirküler kanallar. Orta ve iç kulak yapıları arası ilk bağlantı noktası vestibülün oval pencere bölgesidir. Oval pencere membranı ile stapes tabanı bitişiktir. Kokleanın bazal sonlanma noktası ise orta kulak boşluğuna açılan yuvarlak pencere membranıdır. Koklea en geniş bölgesinin bazalde olduğu, apekse kadar $2^{3/4}$ dönüş yapan salyangoz benzeri bir yapıdır. Şekil 2.1' de kokleaya ait kesitler şematize edilmiştir. Kokleanın kalbi modiolustur. Modiolus porlu bir kemik yapıdır, bu yapı internal akustik kanaldan tüylü hücrelerle sinapsına kadar seyreden işitsel sinir liflerine yol oluşturur. Modiolustan kemik labirente uzanan kemik bölge "osseöz spiral lamina" olarak adlandırılır. Osseöz spiral lamina kokleanın merkezinin etrafını sarar ve böylece üst ve alt koklear boşluklardan scala vestibuli ve scala timpani adı verilen alt boşlukların oluşumunu sağlar. Kokleanın apeksinde yer alan helikotremada bu bölümler ilişki içerisindedir. Ayrıca spiral lamina, baziler membran için de bağlantı noktası oluşturur. Koklea boyunca spiral lamina ve baziler membranın genişlikleri ters orantılıdır, bazal kısımda spiral lamina daha geniştir ve apekse doğru daralır, baziler membran bazal kısımda daha dardır ve apekse doğru genişler. Bu baziler membranın frekans spesifitesini sağlayan birçok faktörden biridir. Kokleanın bazal dönüşünde koklear akuadukt yer alır. Koklear akuadukt perilenf ile beyin omurilik sıvısı arasındaki ilişkiyi sağlayan kemik bir kanaldır.



Şekil 2.1: Koklear sinirin modiolustan Corti organına geçişi gösterilmektedir (*sol*). Kemik koklear kanal ve koklea içindeki membranöz kompartmanlar gösterilmektedir (*sağ*) (Cummings 2010).

2.2.1. Membranöz Labirent ve İç Kulak Sıvıları

Membranöz labirent şekil olarak kemik koklea gibidir ve scala media adı verilen üçüncü bir koklear boşluk oluşturur. İşitmenin sensöriyal organı membranöz labirentte yerleşir. Şekil 2.2' de membranöz labirent ve içerdiği yapılar kesitsel olarak görülmektedir.



Şekil 2.2: Corti organını ve temel hüresel yapılarını gösteren kesit (Cummings 2010).

Membranöz labirent süperiordan Reissner membranı tarafından, inferiordan baziler membran, lateralden ise spiral ligamentin oturduğu dış koklear duvar tarafından sınırlanır.

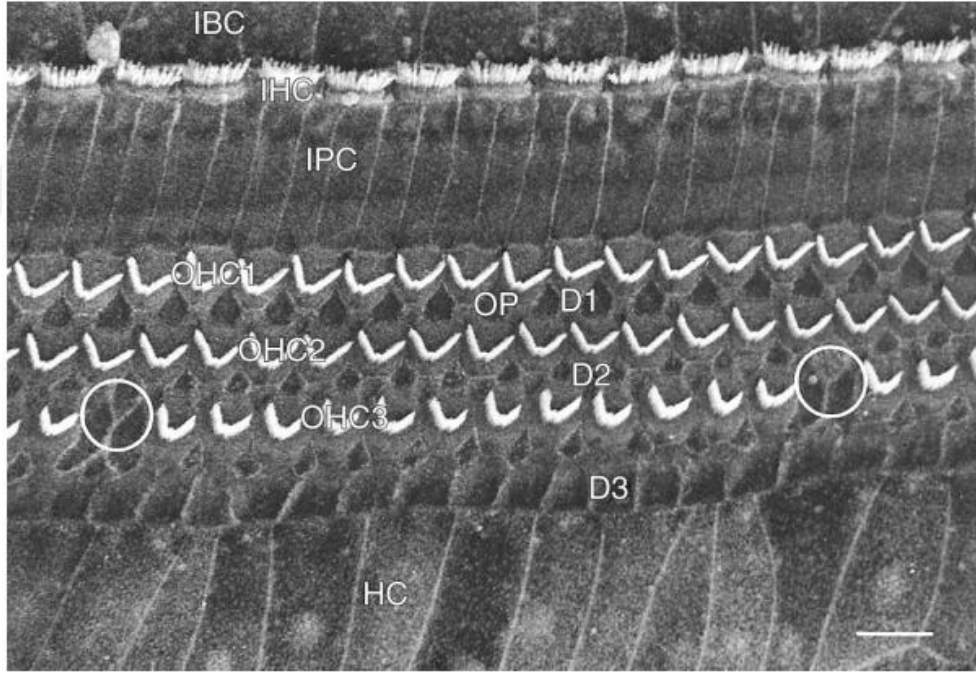
Membranöz labirent iten lateral duvar boyunca stria vascularis ile döşelidir. Stria vascularis endolenf komşuluğundadır, scala medianın metabolizmasından sorumlu yoğun vaskülaritesi olan bir dokudur. Bazal, intermediate ve marginal olmak üzere üç tip hücreden oluşur. Asıl fonksiyonundan sorumlu hücreler marginal hücrelerdir. Sahip olduğu Na^+ - K^+ ATPaz enzimi sayesinde endolenfin K^+ düzeyinin kontrolünden sorumludur (Kerr 1982). Bazal hücreler en dış tabakayı, intermediate hücreler ise orta tabakayı oluşturur. Intermediate hücreler fagositer hücrelerdir. Reissner membranı spiral limbus ile spiral ligaman arasında uzanır. Perilenf tarafı gevşek yassı epitelyum ile endolenf tarafı ise mikrovilluslu kübik hücrelerle döşelidir. Reissner membranı sadece suya geçirgendir. Stria vascularis ile baziler membran arasında uzanan tek sıra kübik epitelden oluşan yapıya *spiral prominens* adı verilir. Corti organını da içeren karmaşık yapılar ise baziler membran üzerinde yerleşmiştir. Corti organı baziler membran boyunca longitudinal olarak uzanır ve çok çeşitli tipte epitelyal hücre ve yapılar içerir (Cummings 2010). *Claudius hücreleri* baziler membranın scala media tarafı boyunca uzanan kübik epitelyal hücrelerdir. Scala media ile scala timpani arasındaki sıkı bağlantıyı oluştururlar. *Boettcher hücreleri* ise Claudius hücreleri ile baziler membran arasında bulunan bağ dokusu elemanlarının sentezinden sorumlu hücrelerdir. En sık koklear tabanda bulunurlar, apekse doğru sayıca azalırlar. Tek tabakalı küboidal formda hücreler, sıklıkla hücre kümeleri oluştururlar. Sitoplazmaları zengin organeller içerir ve yoğunlukları Claudius hücrelerinden daha fazladır. Fonksiyonlarının fibronektin ve baziler membran için diğer matriks bileşenlerini üretmek olduğu düşünülmektedir. Karbonik anhidraz içerdiklerinden sıvı transportunda da görevli olabilirler.

Tektoryal membran tip II kollajen liflerinin oluşturduğu dış tüylü hücre silyelerinin üzerini örten yumuşak jelatinöz bir yapıdır (Bess 2008). İ ve dış tüylü hücrelerin arasında Corti organının *pillar hücreleri* uzanır. Pillar hücreleri spiral lamina ve baziler membrandan kaynaklanır ve baziler membrandan tektoryal membrana doğru birbirlerine yaklaşarak “*Corti tüneli*”ni oluştururlar. Bunun lateralinde üç sıra halinde dış tüylü hücreler bulunur. Bu dış tüylü hücre grubu da inferiordan *Deiters hücreleri* tarafından desteklenir. Her bir Deiters hücresinin apikal tarafında “*falangeal proçes*” adı verilen birer parmaksı çıkıntı bulunur. Dış tüylü hücreler ile falangeal proçes arasındaki boşluğa ise “*Nuel boşluğu*” adı verilir. Phalangeal hücreler, falangeal proçes ve dış tüylü hücrelerin üst yüzeyi “*retiküler lamina*”yı oluşturur. Retiküler lamina tüylü hücrelerin apikal kısımlarını

destekleyen sıkı bir matriksten oluşur. Dış tüylü hücrelerin lateralinde ise “*Hensen hücreleri*” ve “*Claudius hücreleri*” bulunur (Cummings 2010).

2.2.2. Sensöryal Hücreler

Stereosilya: İç ve dış tüylü hücreler tüylü hücre fonksiyonunda hayati olan apikal stereosilyalar içerirler. Stereosilyaların boyu koklear tabandan apekse doğru gittikçe artar ve stereosilyalar lateral olarak dış tüylü hücre sıralarını çaprazlar (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Bazal turda Corti organının retiküler laminasını gösteren scanning elektron mikrofrafı. İç sınır hücreler (IBC), iç tüylü hücreler (ICH), iç pillar hücre baş plakaları (IPC), dış tüylü hücre sırası 1 (OHC1), dış pillar hücre falangeal proçesleri (OP), dış tüylü hücre sırası 2 (OHC2), Deiters hücre sırası 1 falangeal proçes (D1), dış tüylü hücre sırası 3 (OHC3), Deiters hücre sırası 2 falangeal proçes (D2), Deiters hücre sırası 3 falangeal proçes (D3) ve Hensen hücresi (HC). Üçüncü sırada iki falangeal skar (halka içinde) mevcut, bu durum iki dış hücre kaybını gösterir. Ölçü = 10 µm (Cummings 2010).

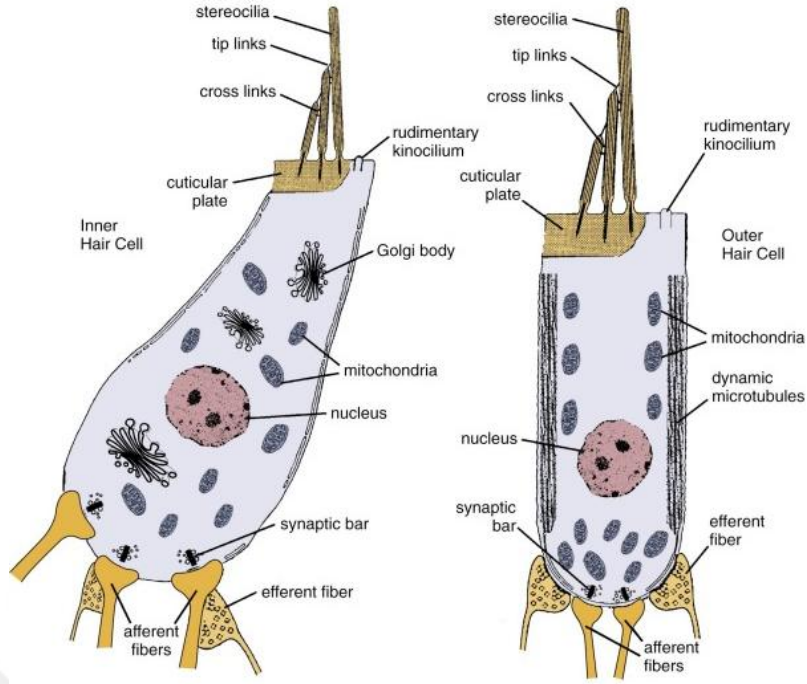
İç tüylü hücre stereosilyaları hemen hemen dış tüylü hücre stereosilyalarının iki katı kalınlığındadır ve stereosilyalar daha fazla çomaksı formdadır. Stereosilyalar gerçek silya değildir ancak tüylü hücrenin kütiküler plate' inden daha uzun, sert mikrovilluslardır.

Matür koklear tüylü hücreler, vestibüler tüylü hücrelerden farklı olarak, kinosilyum

içermez. Dış tüylü hücre stereosilya demeti, köşesi koklear apekse ve birinci tüylü hücre sırasından üçüncüye doğru daha keskin olan V veya W şeklinde bir patern oluşturur. Tüylü hücreler apikal yüzlerinde altı veya yedi sıra stereosilya demeti içerir. İç tüylü hücre stereosiyası üç veya dört sıralı hafif kıvrımlı bir demet oluşturur. Dış tüylü hücrelerin, en uzun sıralı stereosilya tepelerinin tektoryal membranın alt yüzüne yapışıyor olduğu iddia edilmektedir (Kimura 1966).

Dış Tüylü Hücreler: Dış tüylü hücreler silindirik şekildedirler ve Corti organında, apikal kutuplarında Deiters hücrelerinin falangeal süreçlerine yapışırken, bazalde kupa şeklindeki Deiters hücre gövdelerinin içerisine doğru girerler (Şekil 2.4). Çoğu dış tüylü hücre gövdesi sıvı dolu Nuel boşlukları tarafından çevrelenmiştir. İnsanda yaklaşık 13,400, çinçilyada ise 10,400 dış tüylü hücre bulunmaktadır. Apekse doğru hücre boyları artar (14-55 mm), lateralde hücre sıralarını çaprazlar (20-55 mm). İç plazma membranı boyunca, hücrenin uzunluğunca kütiküler plate’ den bazal yerleşimli nükleus bölgesine uzanan birkaç tabaka yüzey altı sisterna vardır. Kütiküler plate altındaki yüzey altı sisterna sarmalına “*Hensen cisimleri*” denir. Bu sisternaların görevleri henüz kesin olarak aydınlatılmamış olsa da dış tüylü hücre motilitesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Evans 1990). Yüzey altı sisternaların yakınında çok sayıda mitokondri ve diğer organeller bulunur. Küre şeklindeki nükleus hücrenin bazal ucunda yerleşim gösterir. Nükleus altında, dış tüylü hücre bazalinde değişik boyutlarda çok sayıda mitokondri bulunur. Deiters hücre çıkıntıları dış tüylü hücrenin bazolateral kenarında kupa benzeri bağlantılar oluşturur. Ayrıca küçük aferent ve büyük eferent sinir sonlanmaları da dış tüylü hücre gövdesinin bazal kenarında bulunur.

İç Tüylü Hücreler: İç tüylü hücreler vestibüler ve dış tüylü hücrelere benzerler (Şekil 2.4). Ancak diğerlerinden farklı olarak iç tüylü hücreler destek hücreleri tarafından sıkı bir şekilde çevrelenmiş, dar boyunlu şişe şeklinde bir hücre sırası oluştururlar. Büyük, küre şekilli nükleusları hücrenin ortasındadır ve iç plazmalemma boyunca yalnızca birkaç sıra yüzey altı sisterna vardır. Organelleri, özellikle veziküller, sitoplazma boyunca homojen bir şekilde dağılmıştır. İç tüylü hücrenin bazal kısmında çok sayıda sinaptik sonlanma vardır. Her bir aferent sinir sonlanmasına komşu saçlı hücre sitoplazmasında bir sinaptik şerit olur. Eferent sonlanmalar daha büyüktür ve veziküllerle doludur ve iç tüylü hücrelerinden ziyade aferent sinir lifleriyle sinaps yaparlar.



Şekil 2.4: İç (solda) ve dış(sağda) tüylü hücrelerin şematik tasviri. İç tüylü hücreler şişe şeklinde, çoğunlukla aferent inervasyona duyarlı, indirekt yolla eferent inervasyona da duyarlıdır. Dış tüylü hücreler silindirik şekilli ve direkt aferent ve eferent inervasyona duyarlıdır (Cummings 2010).

İç Sulkus: Corti organının medial kenarı, spiral limbusun lateral kenarı ve apikalde tektoryal membran tarafından sınırlanan spiral açık kanala denir. İç sulkus hücreleri küboidal şekilleri ve boş sitoplazmaları ile Claudius hücrelerine benzerler. Hücreler sıkı bağlantılar ile bağlıdır ve apikal yüzeylerinde kısa mikrovilluslar içerirler.

Spiral Limbus: Spiral limbus osseöz spiral laminanın medial bölümünün üzerinde uzanan spiral vaskülarize konnektif doku uzantısıdır. Reissner membranı en medial kenarına yapışır. Lateral kenarı, iç sulkus hücreleri tarafından oluşturulan bir kanal üzerine uzanan “Huschke dişleri” denen kama şeklindeki bir çıkıntı oluşturur. Spiral limbusun konnektif doku matriksi; fibroblast benzeri hücreler, vasküler elemanlar, özellikle tip II kollajen içeren ekstraselüler filamanlar içerir.

Tektoryal Membran: Fibröz materyalden oluşan , endolenf tarafından hidrate edildiği düşünülen, spiral limbus, iç sulkus ve Corti organı üzerinde uzanan ekstraselüler matrikstir (Iurato 1960). Tip II kollajen tektoryal membranın ana proteini gibi görünmektedir ancak tektoryal membran daha az miktarlarda diğer kollajenleri ve tektorin denen glikoproteini

de içerir (tip V ve IX). Tektoryal membranın Corti organına bakan yüzü “*Hardesty membranı*” denen, ince ve pek iyi tanımlanmamış bir bölümdür. Hardesty membranı dış tüylü hücrelerin üzerinde uzanır.

Osseöz Spiral Lamina: Modiolustan uzanarak baziler membranın medialine yapışan kemik çıkıntıdır. Corti oranına giden ve çıkan sinir lifleri için bir kanal oluşturur. Spiral lamina koklear tabanda geniştir ve apekse doğru daralır. Lateral kenarında kemik incedir ve “*habenula perforata*” denilen kanallarca delinir. Burada sinir lifleri myelinlerini kaybeder ve Corti organına girer. Spiral lamina da spiral limbus, iç sulkus ve hücreleri için strüktürel bir taban oluşturur. İç tüylü hücreler de osseöz spiral laminanın en lateralinde bulunur (Cummings 2010).

2.2.3. İç Kulağın Vaskülarizasyonu

Anterior inferior serebellar arterden dallanan labirentin arter, VIII. Kranial sinirle birlikte internal akustik kanala girer. Ana koklear arter ve anterior vestibüler arter ise labirentin arterden dallanır. Ana koklear arterin verdiği spiral modiolar arter dalı scala vestibuli, spiral ganglion ve spiral limbusu besler. Kokleanın venöz drenajı ise, lateral duvarın, spiral limbusun ve spiral ganglionun venüllerinin birleşmesiyle oluşan spiral modiolar vene olur.

2.2.4. Koklear İnervasyon

Otonom, aferent ve eferent olmak üzere üç tip sinir lifi tarafından inerve edilir. Otonom sinir lifleri Corti organında izlenmemiştir ancak kan damarları modiulus ve spiral laminanın sinir lifleri ile ilişkilidir (Spoendlin 1988).

Corti Organı: Aferent sinir liflerinin yaklaşık %90’ ı iç tüylü hücrelerle, %10’ u ise dış tüylü hücrelerle sinaps yaparlar. Eferent sinir lifleri direkt olarak iç tüylü hücre gövdesi ile sinaps yapmaz, hücre gövdesi yakınındaki aferent sinir liflerinde sonlanır. Eferent sinapslardaki nörotransmitterin asetilkolin olduğu düşünülmektedir (Fex 1986). Myelinli aferent ve eferent sinir lifleri Corti organına radial olarak seyrederek, osseöz spiral lamina boyunca ilerler. Tüm sinir lifleri spiral laminanın lateralinde habenula perforatadan geçerken myelin kılıflarını kaybederek Corti organına girerler. Corti organına giren lifler myelinsiz olduğu için iç tüylü hücre aferentleri direkt hücre gövdesine gider. Dış tüylü hücre aferentleri Corti tünelinin karşısından geçer. Sonra Deiters hücrelerinin arasından geçerek koklear tabana doğru spiral olarak seyrederek. Daha sonra lifler kollateraller

oluşturarak tüylü hücreleri inerve eder. Eferent sinir lifleri spiral olarak Rosenthal kanalında ilerler ve bu kanal içinde “*intraganglionik spiral demet*” adını alır.

İntraganglionik spiral demetten çıkan radial sinir lifleri Corti organını inerve eder. İç tüylü hücreleri inerve eden eferent sinir lifleri ise tüylü hücre tabanının yanında “*iç spiral demet*” adı verilen bir yapı oluştururlar. Bu lifler iç tüylü hücrelerin aferent sinir lifleriyle “*en passant*” sinapsını oluştururlar.

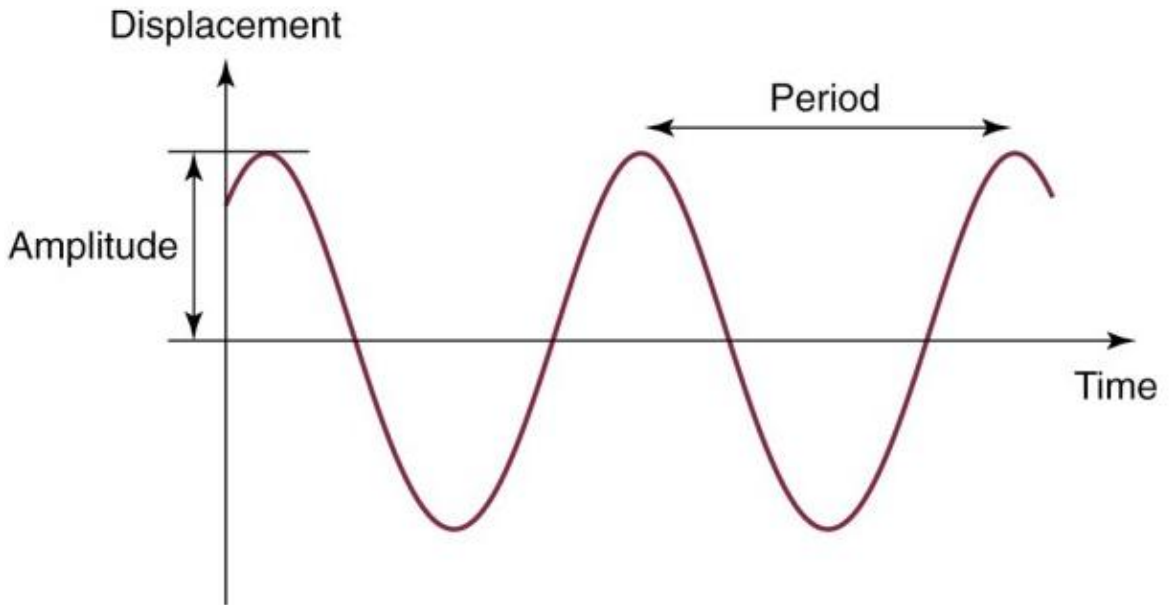
Spiral Ganglion: Spiral ganglionda iç ve dış tüylü hücreleri inerve eden nöron hücre gövdeleri bulunur. Bu ganglionda aferent bipolar hücre gövdelerinin myelinize sinir lifleri, en passant eferent sinir lifleri ve otonom sinir lifleri bulunur. Spiral ganglionda tip I ve tip II olmak üzere iki çeşit aferent hücre gövdesi bulunur. Spiral ganglion nöronlarının yaklaşık %90’ ı tip I ve %10’ u tip II hücrelerden oluşur. Tip I hücre gövdeleri bipolar şekildedir. Büyük küre şeklinde nükleusları, belirgin endoplazmik retikulumları veya Nissl substansı ile ayırt edilebilirler. Tip I hücreler iç tüylü hücreleri inerve ederler. Tip II hücre gövdeleri psödounipolar şekildedir. Bazı türlerde küçük boyutlu, ekzantrik lobüle nükleusa ve daha filamentöz bir sitoplazmaya sahiptir. Myelin kılıfları myelinsiz olarak kabul edilebilecek kadar incedir. Tip II hücreler dış tüylü hücreleri inerve ederler (Cummings 2010).

2.3. İşitme Fizyolojisi

Ses, fizyolojik ya da fiziksel bir terim olarak tanımlanabilir. Fizyolojik bir duyu olarak ses, işitme eylemi veya işitsel bir deneyimdir. Fiziksel olarak ses ise moleküllerin seri bir yer değişimidir ve hava gibi elastik ortamlarda yayılır. Ses herhangi bir elastik ortamda yayılabilirse de bizim için önemli olan ses dalgalarının havada yayılımıdır (Martin 2012).

Kokleayı uyararak beyinde ses duyumu oluşturabilen fizik etkenlere “ses enerjisi-akustik enerji” denir. Ses enerjisi bir enerji kaynağından üretilen, katı, sıvı veya gaz ortamda yayılan bir titreşim dalgasıdır. Ses boşlukta iletilmez, en iyi gaz ortamda iletilir. Ses dalgasının sabit bir yüksekliği (amplitüd) ve bir frekansı vardır. Bu dalgaya “sinüs dalgası” adı verilir (Şekil 2.5). Bu, siklus halinde çıkan sese “saf ses” adı verilir. Frekans bir saniyede oluşan siklusların sayısıdır ve birimi Hertz (Hz)’ dir. Frekans arttıkça ses tizleşir, düştükçe ise pesleşir. İnsan kulağı 20-20,000 Hz arası frekansları işitir. Frekansı 20 Hz’ den düşük olan seslere “subsonik sesler”; 20,000 Hz’ den yüksek olan seslere “ultrasonik sesler” adı verilir.

Ses dalgalarının kulak aracılığıyla beyindeki işitsel merkeze iletilmesi ve bu merkezlerdeki işleme sonucu ortaya çıkan anlama işitme adı verilir. İşitmenin gerçekleşmesi için ses dalgalarının dış ve orta kulaktan Corti organına iletilmesi gerekir. Buna “*conduction*” adı verilir. Corti organında ses enerjisinin elektriksel impulslara dönüşümüne ise “*transdüksiyon*” adı verilir. İç ve dış tüylü hücrelerdeki elektriksel impulslar, kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde enerji frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanmış olur. Buna “*neural coding*” denir. Tek tek gelen bu impulsların serebral kortekste işlenerek yorumlanmasına ise “*cognition*” veya “*association*” denir (Akyıldız 2002).



Şekil 2.5: Basit harmonik hareket. Basit harmonik hareket “0” noktası etrafına eşit amplitüdde dalgalanan periyodik bir harekettir. Amplitüd (genlik) sıfır noktasından tek yönde maksimum yer değiştirme miktarıdır. Basit harmonik hareketin frekansı ise saniyedeki siklus sayısıdır ve birimi Hertz (Hz)’ dir. Periyod ise frekansla ters orantılıdır ($1/f$) ve tek bir siklusun süresini ifade etmektedir (Cummings 2010).

2.3.1. İç Kulak Fizyolojisi

İç kulakta sesin algılanması ile ilgili çeşitli teoriler mevcuttur. Bunlar; Helmholtz, Rutherford, Volley ve von Bekesy’ nin teorileridir. Günümüzde en fazla kabul edilen görüş von Bekesy’ nin “Travelling wave” yani ilerleyen dalga teorisidir.

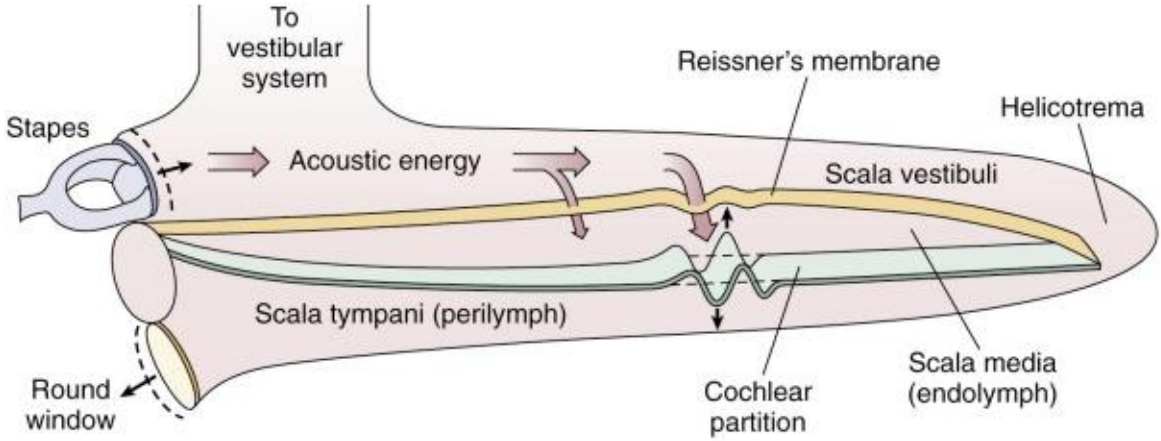
Helmutz' un Place Teorisi: Baziler membran üzerinde her bir frekansa spesifik alanlar vardır. Bu alanlar kendisi için belirlenmiş frekansta maksimum titreşir. Koklea bazalindeki transvers lifler yüksek frekanslarda, apekteki transvers lifler ise daha uzun oldukları için alçak frekanslarda titreşir.

Rutherford' un Telefon Teorisi: Baziler membran frekanstan bağımsızdır. Baziler membran bir bütün olarak titreşirken, işitme sınırı her bir frekans için değişik oranlarda deşarj olur. Koklea burada bir telefon diyagramı gibi davranır ve sesler kokleada değil kortekste ayırt edilir. Sınır liflerinin saniyedeki maksimum deşarjı 1000/sn olduğu için bu teori 1000 Hz üzeri frekanslarda geçerli değildir.

Volley Teorisi: Her iki teorinin karışımından oluşur.

Von Bekesy' nin Travelling Wave Teorisi: Stapes ve perilenf hareketi ile iletilen dalga baziler membranı tabandan apekse doğru hareket ettirir. Bu dalgada amplitüd giderek artar ve maksimum amplitüde ulaşıldıktan sonra birden söner. Titreşimler hem enine hem boyuna yayılırlar. Dalga kendi frekansına en uygun baziler membran bölgesinde maksimum amplitüde ulaşır. Titreşim scala vestibulide ilerlerken perilenfin karşı koyuculuğu ile her frekanstaki titreşim için özel bir baziler membran bölgesi uyarılır. Böylece koklea kanalı scala timpaniye doğru itilir (Şekil 2.6). Ayrıca orta kulaktan yuvarlak pencere aracılığıyla iletilen titreşimler de bu harekete kısmen karşı koyar. Yuvarlak pencerenin esneklik özelliği de farklı olduğu için scala vestibuli ve scala timpani arasındaki dalgalanma hareketi Corti organını uyarır.

Baziler membran titreşirken, üzerindeki silyalı hücreler tektoriyal membrana temas ederler ve kokleanın uyarılan kısmında ses dalgaları elektrokimyasal enerjiye dönüşür. Bu impulslar VIII. Sinir ile merkeze iletilir. Bundan sonra ise işitmenin “*association*” fazı başlar.



Şekil 2.6: Sesin kokleadaki yayılımının şematik gösterimi (Cummings 2010).

2.3.2. Koklear Potansiyeller

İstirahat Potansiyeli: İstirahat konumundaki bir hücrede -80 mV, endolenfte ise $+80$ mV elektriksel potansiyel ölçülmüştür.

Koklear Mikrofonikler: Yuvarlak pencereden elektrodlar aracılığı ile ölçülür. Verilen bir stimülasyona bağlı tüylü hücrelerin uyarılması sonucu oluşurlar. Stimülasyonla cevap arasında latent periyod yoktur, adaptasyon ve yorgunluk göstermezler.

Aksiyon potansiyelleri: İç kulağa iletilen ses dalgası işitme sinir liflerinde aksiyon potansiyeli oluşumunu sağlar. Belli frekanslarda belli nöron grupları uyarılır.

Summasyon Potansiyeli: İç tüylü hücrelerden kaynaklanırlar ve yüksek şiddetli uyarılarla belirgin hale gelirler (Paparella 1973).

2.4. Ototoksisite

Bir ilacın ya da kimyasal bir ajanın, işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak disfonksiyonuna neden olabilme yatkınlığına ototoksisite denir. İç kulak geçici veya kalıcı olarak hasar görebilir (Cummings 2010). İlaç ototoksisitesinin en erken örnekleri arsenik, salisilatlar ve kinin kullanımı ile görülmüştür. Herhangi bir ilacın ototoksik olarak kabul edilmesi için $20-8000$ Hz frekansları arasında, bilateral, en az 10 dB sensörinöral tip kayba neden olması gerekmektedir (Brock 2012).

Ototoksisiteye yol açan temel ilaç grupları aminoglikozidler, makrolidler, loop diüretikleri, cisplatin ve salisilatlardır. İşitme kaybının fizyopatolojisi hakkında devam eden bazı araştırmalar, bazı bireylerin aminoglikozidler başta olmak üzere çeşitli ilaçların ototoksik etkilerine karşı genetik olarak yatkınlığı veya hassasiyeti olabileceğini göstermektedir (Bailey&Johnson 2011).

2.4.1. Cisplatin Ototoksisitesi

1970' li yıllarda kemoterapötik olarak kullanılmaya başlayan cis-diaminedichloroplatinium (cisplatin) ovaryum, serviks, testis, mesane, akciğer, baş ve boyun kanserleri gibi değişik bölgelerin malign epitelyal tümörlerinde tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılan, güçlü bir antineoplastik ajandır. İçerdiği platinyum atomlarının pürin bazlarının N7 pozisyonundaki DNA ile kovalent bağ kurması sonucu etkisini gösterir. Tümör hücrelerinde apoptozisi başlatır ve daha sonra yüksek konsantrasyonlara ulaştığında ise tümör nekrozunu indükler (Wang 2005). En önemli yan etkileri; bulantı, kusma, nörotoksisite, ototoksisite ve nefrotoksisitedir.

2.4.1.1. Farmakokinetik

Cisplatinin farmakokinetiği bifazik temizlenme paterni izler. Bir saatlik 70 mg/m² dozunda intravenöz infüzyonunu takiben hastalardaki plazma yarı ömrü 23 ve 67 saatlerdir; uygulanan dozun %17' si ilk 24 saatte birincil olarak glomerüler filtrasyonla idrara atılır. Cisplatin büyük miktarlarda serum proteinlerine bağlanır. Bu bağlı formu kanser hücreleri için inaktiftir. Serumdaki serbest cisplatinin yarı ömrü total platinden çok düşüktür, bunların yarı ömürleri sırasıyla 8 dakika ve 40-45 saattir. Karaciğer, uygulanmasını takip eden bir saat içinde cisplatin toksik olmayan metabolitleri haline çevirir. Karaciğer hücrelerinin sitozolleri cisplatinin glutatyon ve sisteine bağlanma işleminin yapıldığı yerdir. Cisplatinin böbreğin korteksi ve dış medullasındaki hücrelere girmesiyle nefrotoksisitesi başlar (Cummings 2010).

2.4.1.2. Histopatoloji

Strauss (1983)' un yaptığı bir çalışmada, cisplatin kullanımı sonrası işitme kaybı gelişen bir hastanın kokleasının birinci turunda dış tüylü hücrelerde, spiral ganglionda ve koklear sinirde dejenerasyon gösterilmiştir. Vestibüler ganglion ve vestibüler sinir normal izlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada da radyoterapi ile birlikte ya da olmaksızın

cisplatin alan hastalarda iç ve dış tüylü hücreler ile spiral ganglion hücrelerinde azalma ortaya konmuş ve stria vascularis atrofik izlenmiştir (Hoistad 1998).

Hasara en duyarlı hücreler kokleanın bazal turunda yer alan dış tüylü hücrelerdir. Doz alımı devam ettikçe daha apikaldeki hücreler de etkilenir. Daha sonra sırasıyla dış tüylü hücrelerde parietal membranda dilatasyon, kutiküler plakta yumuşama, vakuol formasyonu ve tüylü hücrelerin apikalinde lizozom benzeri yapıların artışı görülür. Dış ve iç tüylü hücre stereosilyalarında füzyon izlenebilir. Yüksek doz cisplatin kullanımına bağlı stria vascularis hasarı izlenebilir. Hatzopoulos (2001)' a göre DPOAE giriş/çıkış protokolleri tüylü hücre hasarının erken ortaya konması için en duyarlı yöntemdir.

Cisplatin ototoksisitesinde üzerinde durulan mekanizma süperoksit anyon ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen molekülleri ve nitroz oksit gibi reaktif nitrojen ürünlerinin hücresel lipidler, proteinler ve DNA ile reaksiyona girerek hücresel hasara neden olmasıdır. Ratlarda cisplatin ototoksisitesi sonrası glutatyonda ve antioksidan enzimlerde azalma olduğu gösterilmiştir. Cisplatinin kokleada serbest oksijen ürünlerini artırdığı da elektron paramanyetik rezonans spektrofotometri ve floresan boyalar ile gösterilmiştir. Cisplatin maruziyetini takiben iç kulakta artmış hidrojen peroksit saptanmıştır. Cisplatin ototoksisitesinin primer hedef hücrelerinin bazal tur dış tüylü hücreleri olmasının nedeni glutasyon depolarının bu hücrelerde, iç tüylü hücreler ve apikal dış tüylü hücrelere göre daha düşük olması olabilir. Süperoksit anyon, nitrik oksit ve diğer reaktif oksijen metabolitleri p53' ü aktive ederler. Bu aktivasyonla caspase yolağı ve sitokrom c aktivasyonu olur. Böylece planlanmış hücre ölümü (apoptozis) gerçekleşir (Cummings 2010).

2.4.1.3. Klinik Bulgular

Cisplatine bağlı işitme kaybı; ilaç dozu, yaş, diğer ototoksik ilaçlara maruz kalma, gürültüye maruziyet, düşük serum albümini, anemi, beslenme, radyoterapi gibi pek çok faktörle ilişkilidir. Çocuklarda risk daha fazladır. Bilateral, simetrik ve genellikle kalıcı işitme kaybı izlenir. İlk başvuru semptomları genellikle subjektif işitme kaybı, kulak ağrısı ve tinnitustur. Öncelikle yüksek frekanslar etkilense de 100 mg/m²' yi bulan dozlara çıkılırsa orta frekanslar da etkilenir. Bokemeyer (1998)' in yaptığı bir çalışmada 400 mg/m² kümülatif dozdan fazla cisplatin kullanan hastaların % 50' sinde kalıcı sensörinöral işitme kaybı gelişmiştir. Cisplatin kemoterapisi alan hastalarda vestibüler sistemde yapılan

çalışmalarda, özellikle daha önceden vestibüler sorunları olan hastalarda vestibülotoksik etki görölmüştür.

2.4.1.4. Korunma

Çocuklarda ototoksisitenin erken tespiti, konuşma frekanslarındaki bozulmayı minimize edebilir. Cisplatin veya karboplatin ile tedavi edilen çocuklarda konvansiyonel odyometriye göre yüksek frekans odyometri, işitme kaybının erken teşhisinde daha sensitiftir (Knight 2007). Beş yaşından büyük çocuklarda bu prosedür uygun iken, beş yaşından küçüklerde ise DPOAE, konvansiyonel odyogramlara göre daha sensitiftir.

Mevcut veriler cisplatin ototoksisitesini önlenmek için herhangi bir ajanın rutin kullanımını desteklememektedir. “Amifostine” in cisplatin ototoksisitesine karşı kullanımı ile ilgili çalışmalar olsa da American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2008 kararlarında amifostinin cisplatin ototoksisitesine karşı rutin kullanımı için verilerin yetersiz olduğunu belirtmiştir. Hayvan modelleri E vitamininin potansiyel koruyucu etkileri üzerinde durmaktadır. N-asetilsistein ve sodyum tiyosülfatin platinum bileşiklerinin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisi ile ilgili yapılan hayvan ve insan çalışmaları vardır (Doolittle 2001, Dickey 2005). İntratimpanik deksametazon uygulamasının yararlı etkileri olabileceği de gösterilmiştir (Marshak 2014).

Bu sonuçlar umut verici olsa da, otoprotektif ajanların gelişiminde önemli bir engel de ototoksisitenin değerlendirilmesi konusunda üzerinde görüş birliğine varılmış kesin kriterlerin olmamasıdır (Chang 2010, Brock 2012).

2.4.2. Aminoglikozid Ototoksisitesi

İlk olarak antitüberküloz tedavi için geliştirilen bu ilaçlar antiinfeksiyöz ajanların önemli bir sınıfıdır. İlk olarak streptomisin ve dihidrostreptomisin geliştirilmiştir. Öncül klinik çalışmalarda böbrekler ve iç kulağa toksik etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu grubun diğer üyeleri kanamisin, gentamisin, tobramisin, amikasin, netilmisin, sisomnin, paromomisin ve neomisinidir. Toksikite, maruziyetten günler veya haftalar sonra gelişir. İşitsel toksisite insidansları %20, vestibüler toksisite insidansları ise yaklaşık %15’ tir.

2.4.2.1. Farmakokinetik

Oral absorpsiyonları zayıf olan bu ilaçların ağızdan verilen dozunun yaklaşık % 3' ü gastrointestinal yoldan emilir. Genellikle parenteral yolla kullanılır. Doku konsantrasyonları aynı andaki serum konsantrasyonlarının yaklaşık olarak üçte biridir. Kan-beyin bariyerinden geçişleri zayıf olduğu için menenjit tedavisinde intratekal yoldan verilir. Primer olarak böbreklerden glomerüler filtrasyonla atılırlar. Bu nedenle böbrek yetmezliği gibi bozulmuş renal fonksiyon durumlarında ototoksisite riski artar (Cummings 2010). Beaubien (1989)' in yaptığı bir hayvan çalışmasına göre, ototoksisite ile aminoglikozidlerin plazma seviyeleri arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Bu hayvan modelinde toplam doz veya eğrinin altında kalan alanın amikasinin ototoksisitesi için daha değerli bir prediktör olduğu saptanmıştır.

2.4.2.2. Histopatoloji

Ototoksik hasarın birincil hedefi koklear ve vestibüler tüylü hücrelerdir. Bazal turun dış tüylü hücreleri ilk etkilenir, iç tüylü hücreler hasara daha dayanıklıdır. Bu durum iç tüylü hücrelerde ve apikal yerleşimli dış tüylü hücrelerde daha fazla antioksidan ve glutatyon bulunmasına bağlanabilir (Sha 2001). Hinojosa (2001)' ya göre, bazı hastalarda dış tüylü hücre harabiyeti olmaksızın spiral ganglion hasarı olabilir.

Aminoglikozid ototoksisitesinin patogenezi henüz net olarak aydınlatılmış değildir. Yüksek serum konsantrasyonları bir sebep olabilir. Basile (1996)' e göre, koklear tüylü hücreler ile nöral aferentleri arasındaki sinapslarda bulunan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri ile ilişkili olabilir. Aminoglikozidler poliaminleri taklit ederek bu reseptörler üzerinden eksitotoksik hasara neden olabilirler. Hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda NMDA reseptör antagonistlerinin işitme kaybını azaltması bu hipotezi desteklemektedir. Reseptör düzeyindeki bu gibi fonksiyonel değişiklikler yanında aminoglikozidler tabii ki hedef inervasyon kaybı ve spiral ganglion nöronlarında dejenerasyon gibi yapısal değişikliklere de neden olabilirler (Ernfors 1996).

Bir başka hipotez ise aminoglikozidlerin iç kulağı hasara uğratan reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna neden olabileceğidir. Aminoglikozid ototoksisitesinden korunmada antioksidan ajanların etkinliği ile ilgili yapılan hayvan çalışmaları ve in vitro çalışmalar ise bu hipotezi desteklemektedir (Sinswat 2000, Wu 2002).

Aminoglikozidlerin ototoksisitesine genetik yatkınlık olabileceği üzerinde de durulmaktadır. Ototoksisite duyarlılığı olan bir grup ailede küçük 12S ribozomal RNA geninde nokta mutasyonlar tespit edilmiştir (Prezant 1993).

2.4.2.3. Klinik Bulgular

Genellikle ilk olarak yüksek frekans işitme kaybı yaptığı için subklinik olarak saptanabilir. Devam eden ilaç kullanımı sonucu konuşma frekansları tutularak iletişim kabiliyeti etkilenebilir. Vestibüler ototoksisitenin başlangıcı öngörülemmez ve ototoksisite ilacın kümülatif dozu ile ilişkisizdir. Hastalar hareketle ciddi bir şekilde artan ve tam istirahat dönemlerinde azalan denge bozukluğu ve ataksi fark edilinceye kadar asemptomatiktir. Semptomlar imbalanstan yarımsız yürüyemeyecek duruma kadar değişiklik gösterir. Ağır hastalarda osilopsi de izlenebilir. Başlangıçtan sonraki iki haftada klinikte iyileşme olabileceği gibi tam düzelme nadir görülür.

Başka bir ototoksik ilacın aminoglikozidle birlikte kullanımı ototoksisitenin ağırlığını artırır. Etakrinik asidin üremili hastalarda aminoglikozid ototoksisitesini artırdığı rapor edilmiştir (Mathog 1969). Furosemidin pnömoni tedavisi için sadece beş doz gentamisin alan bir hastada ağır sensörinöral işitme kaybı yarattığı rapor edilmiştir (Bates 2002). Mitokondriyal RNA mutasyonu ototoksisite riskini dramatik olarak artıran çok önemli bir faktördür. Bu mutasyonla hasta tek doz aminoglikozide karşı bile duyarlı olabilir. Bu mutasyon maternal kalıtımla aktarılır, Çin, Arap, İsrail, Japon ve Kuzey Amerika ailelerinde saptanmıştır. Bu mutasyona bağlı ototoksisite sadece işitsel sistemde izlenir, vestibüler sistemde izlenmez (Cummings 2010).

2.4.2.4. Korunma

Geleneksel olarak, aminoglikozid ototoksisitesini önlemeye yönelik geliştirilen bir takım stratejiler nefrotoksisiteye yönelik önlemler gibidir. Bunlar günde tek doz kullanım ve serum ilaç konsantrasyonlarının takibidir. Yapılan bazı çalışmalarda bunlara rağmen ototoksisite izlenmiştir (Munckhof 1996, Black 2004). Başka bir yaklaşım ise aminoglikozid tedavisi boyunca odyometrik takip yapmaktır. Ancak işitme kaybı antibiyotik tedavisinin sona ermesinden sonra da ortaya çıkabilir (Aran 1995, Black 2004). Aminoglikozid kullanımından önce hastalarda genetik tarama yapılması ototoksisiteden korunmada değerli bir seçenek olacaktır (Bitner-Glindzicz 2009, Vandebona 2009). Ancak

klirik olarak fayda sağlayabilecek, hızlı sonuç veren bir tarama testi yoktur. Hasta ve aile öyküsü, aminoglikozid ototoksisitesini önlemede çok yardımcıdır. Hasta ve aile öyküsü ototoksisiteyi dşndrenlerde, gram-negatif bakterileri kapsayan alternatif antibiyotik kullanımı da başka bir seçenektir.

Oksidatif stresin ototoksisiteye neden olabileceği hipotezinden hareketle N-asetilsisteinin ototoksisiteye karşı koruyucu rolü üzerinde yapılmış çeşitli çalışmalar vardır (Feldman 2007, Tokgoz 2011). Diyaliz görmeyen hastalarda aspirinin koruyucu etkisinin olduğuna dair yapılmış çalışmalar mevcuttur (Sha 2006, Chen 2007, Rybak 2007). Daha az ototoksik aminoglikozid türü kullanmak da ototoksisiteden korunmada önemli bir seçenektir. Huth (2015)' un yaptığı bir hayvan çalışmasında yeni bir aminoglikozid türünün (N1MS) Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, ve genişlemiş spektrumlu ̢-laktamlara karşı çok etkili olduğu ve bunun yanında tüylü hücre kaybını engellediği ve işitmeyi koruduğu izlenmiştir.

2.4.3. Akustik Travma

Gürültü, işitmeyi olumsuz yönde etkileme potansiyeli olan, aşırı yüksek şiddette ses anlamına gelir. Maruz kalınan ses seviyesine bağlı olarak kokleada geri dönüşümlü veya kalıcı hasar meydana gelir. Geri dönüşümlü kayba, geçici eşik kayması (temporary threshold shift - TTS) adı verilir. Orta şiddette sese maruziyet sonrası gelişir. Genellikle yüksek frekansları etkiler ve iyileşmesi dakikalar içinde olabileceği gibi saatler ve günler de sürebilir. Gürültüye maruz kaldıktan sonra, TTS eğer yeniden aşırı sese maruz kalınmadan önce iyileşmezse, kalıcı eşik kayması (permenant threshold shift – PTS) meydana gelebilir. Akustik aşırı uyarıma bağlı PTS iki tipe ayrılır. Akustik travma olarak isimlendirilen tipi tek, çok şiddetli kısa süreli bir sese maruz kalındığında oluşur. Diğer tipi ise genellikle gürültüye bağlı işitme kaybı olarak isimlendirilir, düşük şiddetteki seslere kronik maruziyete bağlı oluşur.

2.4.3.1. Histopatoloji

Akustik travmada hasarın görüldüğü bölge işitme sisteminin son organının mekanik duyu reseptörleri seviyesidir. Yani akustik travma Corti organının i ve dış tüylü hücrelerine zarar verir. Erken evrelerinde dış tüylü hücreler etkilenir. Çok yoğun maruziyet olduğunda destek hücre elemanları da etkilenebilir. Akustik travmada; sensöriyal hücrelerin

dejenerasyonu, baziler membranının ciddi hareketinden kaynaklanan mekanik yaralanma, aktive olan hücrelerin metabolik yorgunluğu, iskemiye neden olan aktivite ile oluşan vasküler daralma, sensöriyal ve destek hücrelerin organizasyonunda bozulmaya bağlı kokleanın normal kimyasal cevaplarının kesintiye uğraması sonucu iyonik zehirlenme gibi birçok mekanizma ileri sürülmüştür (Wang 2002). Schneider (2002)' e göre tüylü hücreler 48 saatlik bir dilimde apikalden bazale kadar ultrastruktürlerini yenileyebilme yeteneğine sahiptir. Gürültüye maruz kalma devam ederse kendini tamir etme mekanizmasını aşacak kadar ciddi hasar oluşur ve direkt mekanik ayrılma, koklear kanalın yapısal çatısındaki küçük parçalanmalardan endolenf ve perilenfin toksik karışımına neden olarak tüylü hücre ve sinir liflerinin kaybını içeren sekonder etkilere yol açar (Cummings 2010).

2.4.3.2. Klinik Bulgular

Gürültüye bağlı işitme kaybı tanısında mesleki ve mesleki olmayan zararlı gürültü maruziyeti ve süresi hikayede mutlaka sorgulanmalıdır. Diğer sensörinöral işitme kaybı nedenleri ekarte edilmelidir. Fizik muayenede dış ve orta kulak hastalıkları ayrıca akustik tümörü düşündürülen kranyal sinir ve denge bozukluklarının saptanması mümkündür.

Erken olgularda saf ses odyogramda 3, 4 veya 6 kHz' de genellikle bir çentik saptanır. Saf ses ortalaması asimetrisi 15 dB' i aşmışsa başka bir neden ya da asimetrik maruziyet düşünülür. Laboratuvar ve görüntüleme testlerinin gürültüye bağlı işitme kaybı tanısında faydası yoktur (Bailey&Johnson 2011).

2.4.3.3. Korunma

Akut akustik travmada vazodilatasyon ve hemorajik etkileri esas alan tedaviler savunulmaktadır. Bu vakaların çoğunda spontan iyileşme görülebilir. Ayrıca hayvanlarda antioksidan ve diğer ilaçların aşırı gürültüye maruz kalındığında yararlı olduğunu gösteren çalışmalar dışında, insanda herhangi bir tedavinin yararlı olduğunu kanıtlayan iyi yapılmış kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır (Kopke 2002).

2.5. Memantin

Glutamat santral sinir sisteminin primer eksitatör aminoasididir. Glutamatın dört tip reseptörü vardır. *N-metil-D-aspartat (NMDA)*, *alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asid (AMPA)*, *kainate* ve *metabotropik glutamat* reseptörleri (Monaghan 1983). Metabotropik glutamat reseptörleri doğrudan iyon kanalı bağımlı

değildir. NMDA reseptörleri fizyolojik olarak en aktif olanıdır. NMDA reseptörleri tarafından aktive edilen kanallar voltaj bağımlı ve kalsiyuma geçirgendir ve bunların aktivasyonu nöron depolarizasyonu ile sonuçlanır (Mayer 1984). Düzensiz glutamat salınımı ile bir nöronun tekrarlayan depolarizasyonu intraselüler kalsiyum birikimi ile sonuçlanır. Hipoksi-iskemi gibi durumlarda hücre membranı boyunca sinaptik glutamat geri pompalanamadığı için, aşırı glutamat birikimi ve NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması sonucu intraselüler kalsiyum ölümcül seviyelere yükselebilir ve bu meydana gelen olaylar zinciri apoptozisi indükleyebilir(Ankarcrona 1995).

Glutamat reseptörlerinin overstimülasyonu ile eksitotoksik ve nöronal hücre ölümü Alzheimer hastalığının patogenezinde katkıda bulunmaktadır. *Eksitotoksik hücre hasarı* glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile çeşitli şekillerde hücre ölümü olarak görülür. Memantin orta-ciddi Alzheimer tip demansın ve hafif-orta vasküler demansın tedavisinde kullanılan N-metil-D-aspartat tip glutamat reseptörlerinin unkompetitif antagonistidir ve bu reseptörler santral sinir sisteminin bir çok yerinde bulunur. Normal fizyolojik şartlar altında NMDA reseptör iyon kanalları depolarizasyondan sonra magnezyum iyonları tarafından bloke edilir. Patolojik veya aşırı reseptör aktivasyonu (Alzheimer hastalığında meydana geldiği varsayılmaktadır) magnezyum girişini ve böylece iyon kanalı blokajını engelleyerek aşırı kalsiyum girişine neden olur. Memantin magnezyumun bağlandığı iyon kanalının iç tarafına bağlanır (daha uzun süreli bağlanır) ve bu fonksiyonu memantine sadece aşırı uyarım koşullarında efektif bir reseptör blokörü olma özelliği kazandırır. Memantin normal nörotransmisyonu etkilemez (Lipton 2004, Kavijaran 2007).

Ülkemizde etken maddesi memantin hidroklorür olan 10 mg' lık tablet formları ve 10 mg/kg oral damla formları mevcuttur. Çalışmamızda memantin hidroklorür oral damla formu kullanılmıştır ve deney hayvanlarına gastrik gavaj yöntemi ile uygulanmıştır.

2.6. Vitamin A ve İzoretinoin

A vitamini retinoik asitler olarak bilinen yağda çözünür bileşiklerin bir alt sınıfıdır. Bu sınıf dört izoprenoid birimini içerir. Vitamin A' nın ise iki ana formu vardır. Provitamin A karotenoidleri (β -karoten ve diğerleri) ve şekillendirilmiş A vitamini. Provitamin A karotenoidleri bitkilerde bulunurlar. Provitamin A' nın birçok formu vardır ancak β -karoten memeliler tarafından A vitaminine çevrilebilen tek formudur. Şekillendirilmiş A vitaminleri; *retinol*, *retinal*, *retinoik asit* ve *retinil ester*' lerdir ve vitamin A' nın en aktif

formları bunlardır. Hayvan kaynaklı gıdalarda ve besin takviyelerinde bulunan A vitamini de bu formdadır. Bazı gıda takviyeleri ise şekillendirilmiş A vitamini ve β -karoten' in kombinasyonunu içerir.

Vitamin A' nın metabolizması da tipine bağlıdır. Provitamin A' nın aktif vitamin A' ya dönüşümü oldukça iyi düzenlenmiş bir süreç olduğu için bitkisel kaynaklı vitamin A alımının toksisite oluşturma olasılığı çok düşüktür. Şekillendirilmiş A vitaminlerinin daha etkin emiliminden dolayı hayvansal vitamin A aşırı alımında toksisite daha olasıdır. Provitamin A absorpsiyonu öncesi *retinal'* e parçalanmalıdır. Bu basamak vitamin A seviyeleri ile feedback regülasyona tâbidir. Şekillendirilmiş vitamin A ince bağırsak lümeninde *retinol'* e hidrolize olur. Bu basamak ise feedback regülasyona tâbi değildir.

Retinoik asit ve karotenoidlerin çok çeşitli terapötik kullanımları vardır. Kızamıkta komplikasyonlar ve mortalitenin önlenmesinde kullanılır. Dermatolojide cildin çok çeşitli hiperkeratotik ve hiperproliferatif hastalıklarının tedavisinde kullanılır. İzotretinoin, A vitamininin sentetik oksidatif bir metabolitidir ve cildin çeşitli hastalıklarının tedavisi için topikal ve sistemik olarak kullanılmaktadır (Orfanos 1997). Karotenoidler antioksidan olduğu için kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde faydalı olabileceği öne sürülse de β -karotenin kardiyovasküler ve akciğer kanserine bağlı mortaliteyi artırdığı yönünde görüşler de vardır (Leo 1999). *All-trans-retinoik-asit* bir sentetik oksidatif A vitamindir. Akut promyelositik lösemi tedavisinde kullanılmaktadır. Yüksek dozlarda uzun süreli kullanımı toksisiteye bağlı mortaliteye neden olduğu için daha çok kısa süreli kullanım tercih edilmektedir (Chomienne 1996). *All-trans-retinoik-asitin* hayvan deneylerinde kemoterapi kaynaklı nöropatiyi azalttığı öne sürülmüştür ancak kanıt düzeyi yüksek çalışmalara ihtiyaç vardır (Arrieta 2011). A vitamini derivelerinin antioksidan etkileri nedeniyle kullanıldığı çeşitli hastalıklar olsa da henüz ototoksiteden korunma amaçlı kullanımı ile ilgili çalışma yoktur.

Sentetik oksidatif bir A vitamini derivesi olan izotretinoin sebace glandların hacmini küçültmesi ve sebum salgısını azaltması nedeniyle akne tedavisi için, hücre proliferasyonunu azaltması ve diferansiyasyonu artırması nedeniyle nöroblastom tedavisi için ruhsat almıştır. Ülkemizde izotretinoinin soya yağı içinde çözülmüş 10 mg ve 20 mg' lik kapsül formları mevcuttur. Ayrıca topikal kullanım için de çeşitli preparatlar vardır.

Çalışmamızda 10 mg'lık kapsül formları, karanlık ortamda soya yağı ile dilüe edilerek deney hayvanlarına gastrik gavaj yöntemi ile uygulanmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş-Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi olarak yapılmıştır. Çalışmamız için Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni alınmıştır (Karar Tarihi: 28.02.2015; Karar Sayısı: 2015-007). Çalışma sırasında *Helsinki Nihai Senedi*' ndeki deneysel hayvan çalışmaları ile ilgili hususların tümüne bağlı kalınmıştır.

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi' inde ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, sağlıklı, 70 adet erişkin dişi ve erkek Wistar Albino türü rat üzerinde gerçekleştirildi. Deney Hayvanları Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi' inde sıcaklığı 22 ± 2 °C' de, nemi %45-65 oranında korunan ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsünde, serbest yemek ve su alabildikleri bir ortamda tutuldu. Deney hayvanları Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV (kontrol grubu) olarak 4 ana gruba ayrıldı. Ayrıca Grup I, II ve III kendi içinde A, B ve C olmak üzere üçer adet alt gruba ayrılarak çalışma yapıldı.

Grup I: Cisplatin ototoksitesitesi grubu olarak belirlendi. Rastgele seçim metoduna göre belirlenen 21 deney hayvanı yine rastgele seçim metodu ile 7' şerli üç alt gruba ayrıldı (Grup IA, Grup IB, Grup IC). Grup IA' ya 10 mg/kg cisplatin (Cisplatin, Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş., İstanbul, Türkiye) intraperitoneal (i.p.) tek doz olarak Grup IB ve IC ile aynı zamanda verildi. Grup IB' ye 5 mg/kg memantin (Almenta, Generica İlaç San. Ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) gastrik gavaj yöntemi ile gūnaşırı 7 gün verildi. Ardından 10 mg/kg cisplatin tek doz (i.p.) verildikten sonra 5 mg/kg memantin gastrik gavaj ile gūnaşırı 7 gün daha verildi. Grup IC' ye 7,5 mg/kg izotretinoin (Aknetrent, Recordati İlaç San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün verildi. Ardından 10 mg/kg cisplatin tekdoz (i.p.) verildikten sonra 7,5 mg/kg izotretinoin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün daha verildi.

Grup II: Amikasin ototoksitesitesi grubu olarak belirlendi. Rastgele seçim metoduna göre belirlenen 21 deney hayvanı yine rastgele seçim metodu ile 7' şerli üç alt gruba ayrıldı (Grup IIA, Grup IIB, Grup IIC). Grup IIA' ya 600 mg/kg/gün (Bayindir 2013, Aksoy

2014) amikasin intramuskuler (i.m.) 14 gün verildi. Grup IIB' ye 5 mg/kg memantin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün verildi. Ardından 600 mg/kg/gün amikasin (i.m.) 14 gün ve sonrasında 5 mg/kg memantin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün verildi. Grup IIC' ye 7,5 mg/kg izotretinoin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün, ardından 600 mg/kg/gün amikasin (i.m.) 14 gün ve sonrasında 7,5 mg/kg izotretinoin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün daha verildi. Grup II' deki 21 adet ratın 20' si amikasin uygulamasını takip eden değişik günlerde ex oldu. Bu, amikasinin dozu ile ilişkilendirildi. Literatür bilgileri ışığında ve Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu izni ile amikasin dozu 200 mg/kg/gün (Berkiten 2012) olarak değiştirilerek, çalışmamıza uygun olarak yeniden temin edilen 21 adet rata yukarıdaki işlemler tekrarlandı ve deney hayvanı kaybı olmadı.

Grup III: Akustik travma grubu olarak belirlendi. Rastgele seçim metoduna göre belirlenen 21 deney hayvanı yine rastgele seçim metodu ile 7' şerli üç alt gruba ayrıldı (Grup IIIA, Grup IIIB, Grup IIIC). Grup IIIA' ya 12 kHz 110 dB, 24 saat darbant gürültü verildi. Grup IIIB' ye 5 mg/kg memantin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün verildi. Ardından 12 kHz 110 dB darbant gürültü 24 saat ve 5 mg/kg memantin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün daha verildi. Grup IIIC' ye 7,5 mg/kg izotretinoin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün, ardından 12 kHz 110 dB 24 saat darbant gürültü ve 7,5 mg/kg izotretinoin gastrik gavajla gūnaşırı 7 gün daha verildi.

Grup IV: Kontrol grubu olarak belirlendi. Rastgele seçim metoduyla 7 deney hayvanı belirlendi. Herhangi bir ilaç uygulanmadı.

3.2. Anestezi

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) ve beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri (BIUP) testleri öncesinde ratlara 7,5 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer İlaç, Leverkusen, Germany) (i.m.) ve 40 mg/kg tiyopental sodyum (Pental, İ.E. Ulagay, İstanbul, Türkiye) (i.m.) verilerek anestezi sağlandı. Ketamin HCl de bir NMDA reseptör blokörü olduğu için anestezi için tiyopental sodyum tercih edildi. Deneyin sonlandırılmasında da yine aynı şekilde anestezi uygulanarak servikal dislokasyon metoduyla sakrifikasyon işlemine geçildi.

3.3. DPOAE Testi Uygulanması

Çalışmamızda emisyonların ölçümünde DPOAE testi kullanıldı (Resim 3.1). Tüm ratlara DPOAE ve BİUP testleri öncesi otomikroskopik muayene (Carl Zeiss Surgical GmbH-Strasse 22) yapıldı. Buşon varlığında temizliği yapıldı ve çalışmaya sadece dış kulak yolu ve kulak zarı normal olan ratlar dahil edildi. Emisyon ölçümleri Otodynamics Echoport ILO292 USB II cihazı ile yenidoğan probu kullanılarak yapıldı. Tüm ratların her iki kulağına çalışmanın başlangıcında ve çalışmanın sonunda 3 günlük gözlem sonrası DPOAE testi uygulandı. f_2 ve f_1 frekansları oranı (f_2/f_1) 1.22 olacak şekilde tutuldu. Uyarın şiddeti f_1 frekansı için L1 ve f_2 frekansı için L2 olarak alındı ve L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1=65dB SPL, L2=55dB SPL) düzeyinde tutuldu. DPOAE'lar, $2f_1-f_2$ frekansında ölçüldü. DPOAE amplitüdlerinin gürültü eşiğinin 3 dB üstündeki değerler anlamlı kabul edildi. f_1 ve f_2 'nin geometrik ortalamalarında 1000, 1400, 2000, 2800, 4000, 6000 ve 8000 Hz'deki sinyal-gürültü oranları (SNR) kaydedildi. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde, SNR oranları DPOAE amplitüdlere göre daha güvenli olduğu için SNR oranları kullanıldı.

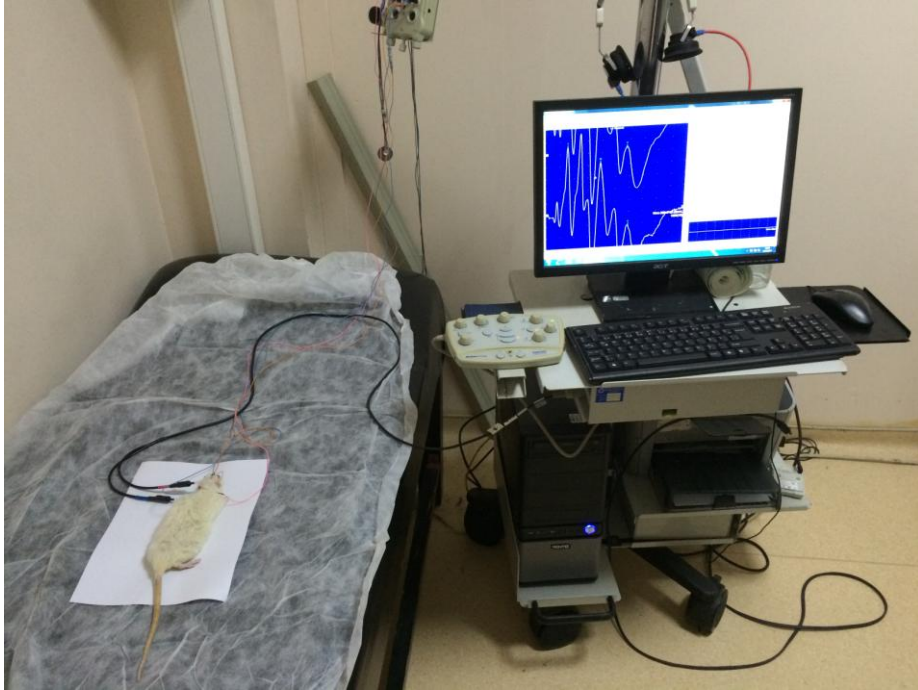


Resim 3.1: DPOAE probunun rat kulağına yerleştirilmesi

3.4. BİUP Testi Uygulanması

Çalışmamızda işitme eşiklerinin belirlenmesinde Beyinsapı İşitsel Uyarılmış Potansiyelleri (BİUP) Testi uygulandı (Resim 3.2). Tüm ratların çalışma öncesi otomikroskopik muayenesi yapılarak dış kulak yolu ve kulak zarı normal olanlar çalışmaya dahil edildi. Tüm ratlara iki taraflı, çalışma öncesinde ve çalışma sonrası 3 günlük gözlem sonrasında BİUP ölçümü yapıldı. BİUP ölçümleri Medelec Synergy ABR Cihazı ile yapıldı. BİUP ölçümleri için 13 mm ciltaltı iğne elektrotlar (Electrode Disposable Subdermal, 13 mm, 1.5 M, 12 color Natus/019-453900), kanal içi kulaklık (Reusable Tip300 Insert Phones, Natus/041-704000) ve prematür yenidoğan kulak problemleri (Eartips for use with Intra Auricular Headset and Ear Phone Type: Premature Natus/51023) kullanıldı. Negatif elektrot test edilen tarafın mastoidine, pozitif elektrot altına, toprak elektrot karşı tarafın mastoidine ciltaltı yerleştirildi. Elektrotların uygunluğu impedansmetre ile kontrol edildi.

Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyellerinin ölçümünde 11.00 rate click uyarı verildi, 10 msn ölçüm zamanı, 100-1500 Hz filtreleme rarefaction polarite kullanıldı. 1500 click uyarının ortalaması alındı. 70 dB nHL ses şiddetiyle teste başlandı, alınan yanıtlara göre 10 dB veya 5 dB azaltılarak test tamamlandı. İşitme eşiğinin belirlenmesinde tüm dalgaların kaybolduğu dB nHL şiddeti referans olarak alındı.



Resim 3.2: BİUP Testi Uygulanması

3.5. Cerrahi

Çalışmamızda yer alan 70 adet rata son BIUP ve DPOAE testlerinden sonra anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile ötanazi uygulandı. Tüm ratların bilateral kokleaları çıkarıldı. Boyun orta hattan başlayan, her iki aurikula üst sınırına kadar uzanan cilt ve ciltaltı insizyonu yapıldı. Bu aşamadan sonra işleme cerrahi mikroskop ile devam edildi. Dış kulak yolu ve timpanik membran mikroskop altında görüldü. Buradan orta kulağa girilerek promontoryum tespit edildi. Promontoryumun etrafından koklea oksipital ve sfenoid kemikten ve çevre kas dokulardan diseke edilerek çıkarıldı. Koklea etrafındaki temporal kemiğe ait kemik parçalar mümkün olduğunca kokleya zarar vermeden alligator forceps ile temizlendi. Çıkarılan parçalar %2' lik gluteraldehit solüsyonunda +4 C° de tespit edilerek aynı gün histoloji ve embriyoloji bölümüne teslim edildi.

3.6. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İnceleme Yöntemi

Alınan doku parçaları %2' lik gluteraldehitte 1 gece +4 C° de tespit edildikten sonra EDTA solüsyonu ile dekalsifiye edildi, ikinci fiksasyon %1' lik osmiyum tetroksit içinde 60 dakika bekletilerek yapıldı. Sonrasında dokular rutin elektron mikroskop takibine alınıp plastiğe gömülüp 2 gün etüvde polimerize olması beklendi. Plastik bloklardan yarı ince kesitler alındı. Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında elde edilen bulgular da çalışmaya dahil edildi. Yarı ince kesitlerden istenilen bölge bulunduktan sonra trimlendi ve ince kesitler alındı. Alınan ince kesitler kurşun sitrat ve uranil asetat ile boyandıktan sonra TEM ile inceleme yapıldı ve görüntüler alındı. Çalışmamızda Karaer (2015)' in radyasyon hasarına karşı melatoninin iç kulak üzerindeki koruyucu etkisini araştıran çalışmasında, iç kulak hasarının derecesi için kullanılan sınıflama modifiye edilerek kullanılmıştır.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS for Windows Version 16.0 programında yapılmıştır. Kolmogorov-Smirnov Testi ile tüm gruplardaki sayısal değerlerin normal dağılım gösterdiği izlendi. Tüm ratların sağ-sol kulakları arasında anlamlı fark olmadığı Kruskal-Wallis Testi ile gösterildi. İşlem öncesi ve sonrası tüm frekanslar için SNR ortalamaları ve BIUP eşik ortalamaları Paired T-Testi ile analiz edildi. Gruplar arasında, tüm frekanslarda SNR ortalamaları farkı ve BIUP eşik ortalamaları farkı Oneway ANOVA Testi ile

karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırmalarda ise Post Hoc Testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık kriteri olarak $P < 0,05$ değeri kullanıldı.



4. BULGULAR

Çalışmayı oluşturan tüm gruplara ait DPOAE, BİUP ve elektron mikroskopik inceleme sonuçları aşağıda sunulmuştur.

4.1. DPOAE Bulguları

Çalışmaya dahil edilen tüm ratlara çalışma öncesinde ve çalışmadan sonra (3 günlük gözlem sonrası) 1 kHz, 1,4 kHz, 2 kHz, 2,8 kHz, 4 kHz, 6 kHz ve 8 kHz frekanslarda DPOAE testi uygulanmıştır. Ölçümler 10 grupta yer alan 7' şer ratın hepsine bilateral olarak yapılmış ve örneklemin belirlenmesinde denek sayısı değil kulak sayısı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için SNR oranları kullanılmıştır.

4.1.1. Grup I

Grup I' in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.1' de özetlenmiştir.

Grup I' in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları arasındaki fark ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.2' de özetlenmiştir. Bütün gruplarda ve tüm frekanslarda işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamalarına bakıldığında, işlem öncesinde yüksek olduğu izlenmiştir ($p < 0,05$).

İşlem öncesi SNR ortalamaları farkı gruplar arasında karşılaştırıldı. IA-IB grupları arasında 6 ve 8 kHz' de fark olduğu, diğer frekanslarda anlamlı fark olmadığı izlendi. 6 ve 8 kHz' de Grup IA' da SNR ortalamasının daha yüksek olduğu izlendi. IA-IC grupları arasında 1 ve 1,4 kHz' de anlamlı fark olmadığı, diğer frekanslarda ise SNR ortalamalarının Grup IA' da Grup IC' ye göre daha yüksek olduğu izlendi (Tablo 4.3).

İşlem sonrası SNR ortalamalarında Grup IA-IB arasında 1 kHz, 1,4 kHz, 2,8 kHz' de fark olmadığı; 4 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de ise Grup IB' de SNR ortalamalarının daha yüksek olduğu izlendi ($p < 0,05$). Grup IA-IC arasında SNR ortalamalarının 6 ve 8 kHz' de Grup IC' de yüksek olduğu, 1 kHz, 1,4 kHz, 2,8 kHz ve 4 kHz' de ise aralarında fark olmadığı izlendi (Tablo 4.4).

Grup1 (SNR)		1khz önce	1khz sonra	1,4khz önce	1,4khz sonra	2khz önce	2khz sonra	2,8khz önce	2,8khz sonra	4khz önce	4khz sonra	6khz önce	6khz sonra	8khz önce	8khz sonra
A	Ortalama	5,264	1,507	7,386	4,2	10,79	7,943	14,38	8,429	19,9	6,279	20,44	-2,46	23,06	7,107
	Std. S.	3,174	4,331	2,084	2,891	6,954	5,123	9,67	7,679	7,627	8,938	7,938	11,98	8,304	5,065
B	Ortalama	8,386	2,9	5,193	1,929	10,36	4,321	11,04	7,943	15,96	12,34	13,15	9,579	14,68	12,22
	Std. S.	1,621	2,23	3,2	3,543	2,521	2,808	2,56	2,056	3,178	3,738	4,407	3,674	3,559	3,455
C	Ortalama	7,136	3,336	4,443	1,943	4,336	2,864	6,264	4,2	9,136	7,036	15,35	12,71	17,01	15,44
	Std. S.	3,494	1,929	4,721	3,85	1,623	1,978	1,265	2,122	2,129	3,422	2,954	5,666	5,754	5,873

Tablo 4.1. Grup I' in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.

Grup IA	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	3,75714	4,71556	0,011
1,4khz önce - 1,4khz sonra	3,18571	3,23939	<0,01
2khz önce - 2khz sonra	2,84286	3,70628	0,013
2,8khz önce - 2,8khz sonra	5,95	5,35361	<0,01
4khz önce - 4khz sonra	13,62143	3,91116	<0,01
6khz önce - 6khz sonra	22,89286	10,1421	<0,01
8khz önce - 8khz sonra	15,95	5,58952	<0,01
Grup IB	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	5,48571	1,70242	<0,01
1,4khz önce - 1,4khz sonra	3,26429	2,87124	<0,01
2khz önce - 2khz sonra	6,04286	1,29241	<0,01
2,8khz ilk - 2,8khz son	3,1	1,64644	<0,01
4khz ilk - 4khz son	3,62143	3,65749	<0,01
6khz ilk - 6khz son	3,57143	1,76567	<0,01
8khz ilk - 8khz son	2,45714	1,46745	<0,01
Grup IC	Ortalama	Std. S.	P
1khz ilk - 1khz son	3,8	2,33765	<0,01
1,4khz ilk - 1,4khz son	2,5	1,25146	<0,01
2khz ilk - 2khz son	1,47143	1,13911	<0,01
2,8khz ilk - 2,8khz son	2,06429	1,3241	<0,01
4khz ilk - 4khz son	2,1	2,0899	<0,01
6khz ilk - 6khz son	2,63571	3,5675	0,016
8khz ilk - 8khz son	1,57143	2,36787	0,027

Tablo 4.2. Grup I' in ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalama farkları ve standart sapmaları.

SNR (önce)	Grup I	Grup I	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	A	B	-3,12143	1,08911	0,018	-5,7748	-0,468
		C	-1,87143	1,08911	0,211	-4,5248	0,782
	B	A	3,12143	1,08911	0,018	0,468	5,7748
		C	1,25	1,08911	0,491	-1,4034	3,9034
	C	A	1,87143	1,08911	0,211	-0,782	4,5248
		B	-1,25	1,08911	0,491	-3,9034	1,4034
1,4khz	A	B	2,19286	1,32502	0,235	-1,0353	5,421
		C	2,94286	1,32502	0,08	-0,2853	6,171
	B	A	-2,19286	1,32502	0,235	-5,421	1,0353
		C	0,75	1,32502	0,839	-2,4782	3,9782
	C	A	-2,94286	1,32502	0,08	-6,171	0,2853
		B	-0,75	1,32502	0,839	-3,9782	2,4782
2khz	A	B	,42143	1,65253	0,965	-3,6046	4,4475
		C	6,45	1,65253	<0,01	2,4239	10,4761
	B	A	-,42143	1,65253	0,965	-4,4475	3,6046
		C	6,02857	1,65253	<0,01	2,0025	10,0546
	C	A	-6,45	1,65253	<0,01	-10,4761	-2,4239
		B	-6,02857	1,65253	<0,01	-10,0546	-2,0025
2,8khz	A	B	3,33571	2,20021	0,295	-2,0247	8,6961
		C	8,11429	2,20021	<0,01	2,7539	13,4747
	B	A	-3,33571	2,20021	0,295	-8,6961	2,0247
		C	4,77857	2,20021	0,089	-0,5818	10,139
	C	A	-8,11429	2,20021	<0,01	-13,4747	-2,7539
		B	-4,77857	2,20021	0,089	-10,139	0,5818
4khz	A	B	3,94286	1,86196	0,099	-0,5935	8,4792
		C	10,76429	1,86196	<0,01	6,228	15,3006
	B	A	-3,94286	1,86196	0,099	-8,4792	0,5935
		C	6,82143	1,86196	<0,01	2,2851	11,3577
	C	A	-10,7643	1,86196	<0,01	-15,3006	-6,228
		B	-6,82143	1,86196	<0,01	-11,3577	-2,2851
6khz	A	B	7,28571	2,0835	<0,01	2,2097	12,3618
		C	5,08571	2,0835	0,049	0,0097	10,1618
	B	A	-7,28571	2,0835	<0,01	-12,3618	-2,2097
		C	-2,2	2,0835	0,547	-7,276	2,876
	C	A	-5,08571	2,0835	0,049	-10,1618	-0,0097
		B	2,2	2,0835	0,547	-2,876	7,276
8khz	A	B	8,37857*	2,33734	<0,01	2,6841	14,0731
		C	6,05	2,33734	0,035	0,3555	11,7445
	B	A	-8,37857	2,33734	<0,01	-14,0731	-2,6841
		C	-2,32857	2,33734	0,584	-8,0231	3,3659
	C	A	-6,05	2,33734	0,035	-11,7445	-0,3555
		B	2,32857	2,33734	0,584	-3,3659	8,0231

Tablo 4.3. Grup IA-IB-IC' nin işlem öncesi SNR ortalama farkları.

SNR (sonra)	Grup I	Grup I	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	A	B	-1,39286	1,14342	0,45	-4,1786	1,3929
		C	-1,82857	1,14342	0,258	-4,6143	0,9571
	B	A	1,39286	1,14342	0,45	-1,3929	4,1786
		C	-0,43571	1,14342	0,923	-3,2214	2,35
	C	A	1,82857	1,14342	0,258	-0,9571	4,6143
		B	0,43571	1,14342	0,923	-2,35	3,2214
1,4khz	A	B	2,27143	1,30449	0,203	-0,9067	5,4496
		C	2,25714	1,30449	0,207	-0,921	5,4353
	B	A	-2,27143	1,30449	0,203	-5,4496	0,9067
		C	-0,01429	1,30449	1	-3,1924	3,1639
	C	A	-2,25714	1,30449	0,207	-5,4353	0,921
		B	0,01429	1,30449	1	-3,1639	3,1924
2khz	A	B	3,62143	1,34591	0,028	0,3424	6,9005
		C	5,07857	1,34591	<0,01	1,7995	8,3576
	B	A	-3,62143	1,34591	0,028	-6,9005	-0,3424
		C	1,45714	1,34591	0,53	-1,8219	4,7362
	C	A	-5,07857	1,34591	<0,01	-8,3576	-1,7995
		B	-1,45714	1,34591	0,53	-4,7362	1,8219
2,8khz	A	B	0,48571	1,79536	0,96	-3,8883	4,8598
		C	4,22857	1,79536	0,06	-0,1455	8,6026
	B	A	-0,48571	1,79536	0,96	-4,8598	3,8883
		C	3,74286	1,79536	0,106	-0,6312	8,1169
	C	A	-4,22857	1,79536	0,06	-8,6026	0,1455
		B	-3,74286	1,79536	0,106	-8,1169	0,6312
4khz	A	B	-6,05714	2,24209	0,027	-11,5196	-0,5947
		C	-0,75714	2,24209	0,939	-6,2196	4,7053
	B	A	6,05714	2,24209	0,027	0,5947	11,5196
		C	5,3	2,24209	0,059	-0,1624	10,7624
	C	A	0,75714	2,24209	0,939	-4,7053	6,2196
		B	-5,3	2,24209	0,059	-10,7624	0,1624
6khz	A	B	-12,0357	3,00042	<0,01	-19,3457	-4,7258
		C	-15,1714	3,00042	<0,01	-22,4814	-7,8615
	B	A	12,03571	3,00042	<0,01	4,7258	19,3457
		C	-3,13571	3,00042	0,553	-10,4457	4,1742
	C	A	15,17143	3,00042	<0,01	7,8615	22,4814
		B	3,13571	3,00042	0,553	-4,1742	10,4457
8khz	A	B	-5,11429	1,85271	0,023	-9,6281	-0,6005
		C	-8,32857	1,85271	<0,01	-12,8424	-3,8148
	B	A	5,11429	1,85271	0,023	0,6005	9,6281
		C	-3,21429	1,85271	0,205	-7,7281	1,2995
	C	A	8,32857	1,85271	<0,01	3,8148	12,8424
		B	3,21429	1,85271	0,205	-1,2995	7,7281

Tablo 4.4. Grup IA-IB-IC' nin işlem sonrası SNR ortalama farkları.

4.1.2. Grup II

Grup II' nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.5' te özetlenmiştir.

Grup II' nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları arasındaki fark ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.6' de özetlenmiştir. Bütün gruplarda ve tüm frekanslarda işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamalarına bakıldığında, Grup IIA ve IIC' de işlem öncesinde yüksek olduğu izlenmiştir ($p < 0,05$). Grup IIB' de 2 kHz ve 8 kHz' de işlem öncesi ve sonrası arasında SNR ortalamaları açısından fark olmadığı izlendi ($p > 0,05$).

İşlem öncesi SNR ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldı. IIA-IIB grupları arasında 1 kHz, 1,4 kHz, 2,8 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de fark olmadığı ($p > 0,05$), 2 ve 4 kHz' de ise Grup IIB' de daha yüksek olduğu izlendi ($p < 0,05$). IIA-IIC grupları arasında 1,4 kHz, 2 kHz, 4 kHz ve 6 kHz' de Grup IIC' de SNR ortalamalarının daha yüksek olduğu izlendi, 1 kHz, 2,8 kHz ve 8 kHz' de ise anlamlı fark izlenmedi (Tablo 4.7).

İşlem sonrası SNR ortalamalarının Grup IIA-IIB arasında 1 kHz, 2 kHz, 2,8 kHz, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz' de Grup IIB' de yüksek olduğu, 1,4 kHz' de ise fark olmadığı izlendi. Grup IIA-IIC arasında SNR ortalamalarında hiçbir frekansta istatistiksel anlamlı fark izlenmedi (Tablo 4.8).

Grup II (SNR)		1khz önce	1khz sonra	1,4khz önce	1,4khz sonra	2khz önce	2khz sonra	2,8khz önce	2,8khz sonra	4khz önce	4khz sonra	6khz önce	6khz sonra	8khz önce	8khz sonra
A	Ortalama	3,1786	-0,15	4	0,0929	5,1929	1,3857	9,9929	1,5357	10,1429	0,2714	13,8	3,7	16,6857	8,15
	Std. S.	2,27162	2,13964	2,61328	4,13995	1,63494	4,07051	5,23001	4,27202	5,1032	8,49592	5,11468	8,72309	6,92052	4,92197
B	Ortalama	4,2071	2,8714	5,5143	2,8357	9,4071	7,9643	12,2571	8,7	17,3357	13,6	16,75	13,9929	20,8857	19,05
	Std. S.	1,58185	3,00447	1,40814	2,35751	2,35779	3,90574	4,74937	5,49685	6,62311	7,22517	6,4915	6,04909	10,31391	10,95008
C	Ortalama	5,4357	-0,3286	6,4286	1,3	9,7071	3,9929	14,6714	6,4643	18,1214	6,7143	20,5071	3,1429	23,6857	3,0214
	Std. S.	4,31841	4,2127	3,3086	3,17417	5,34206	4,20137	7,02593	7,66878	7,2188	7,93608	6,86042	7,10923	9,17755	6,40459

Tablo 4.5. Grup II' nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.

Grup IIA	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	3,32857	3,66447	<0,01
1,4khz önce - 1,4khz sonra	3,90714	2,1528	<0,01
2khz önce - 2khz sonra	3,80714	3,54693	<0,01
2,8khz önce - 2,8khz sonra	8,45714	4,87659	<0,01
4khz önce - 4khz sonra	9,87143	7,75226	<0,01
6khz önce - 6khz sonra	10,1	6,77915	<0,01
8khz önce - 8khz sonra	8,53571	6,1475	<0,01
Grup IIB	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	1,33571	2,13455	0,036
1,4khz önce - 1,4khz sonra	2,67857	2,5706	<0,01
2khz önce - 2khz sonra	1,44286	2,78946	0,075
2,8khz önce - 2,8khz sonra	3,55714	2,82699	<0,01
4khz önce - 4khz sonra	3,73571	2,60757	<0,01
6khz önce - 6khz sonra	2,75714	2,09678	<0,01
8khz önce - 8khz sonra	1,83571	3,72489	0,088
Grup IIC	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	5,76429	4,45017	<0,01
1,4khz önce - 1,4khz sonra	5,12857	3,26742	<0,01
2khz önce - 2khz sonra	5,71429	7,90101	0,018
2,8khz önce - 2,8khz sonra	8,20714	6,22025	<0,01
4khz önce - 4khz sonra	11,40714	4,89607	<0,01
6khz önce - 6khz sonra	17,36429	10,44418	<0,01
8khz önce - 8khz sonra	20,66429	10,76594	<0,01

Tablo 4.6. Grup II' nin ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalama farkları ve standart sapmaları.

SNR (önce)	Grup II	Grup II	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	A	B	-1,02857	1,11934	0,632	-3,7556	1,6985
		C	-2,25714	1,11934	0,122	-4,9842	0,4699
	B	A	1,02857	1,11934	0,632	-1,6985	3,7556
		C	-1,22857	1,11934	0,521	-3,9556	1,4985
	C	A	2,25714	1,11934	0,122	-0,4699	4,9842
		B	1,22857	1,11934	0,521	-1,4985	3,9556
1,4khz	A	B	-1,51429	0,97	0,274	-3,8775	0,8489
		C	-2,42857	0,97	0,043	-4,7918	-0,0654
	B	A	1,51429	0,97	0,274	-0,8489	3,8775
		C	-0,91429	0,97	0,617	-3,2775	1,4489
	C	A	2,42857	0,97	0,043	0,0654	4,7918
		B	0,91429	0,97	0,617	-1,4489	3,2775
2khz	A	B	-4,21429	1,32323	<0,01	-7,4381	-0,9905
		C	-4,51429	1,32323	<0,01	-7,7381	-1,2905
	B	A	4,21429	1,32323	<0,01	0,9905	7,4381
		C	-0,3	1,32323	0,972	-3,5238	2,9238
	C	A	4,51429	1,32323	<0,01	1,2905	7,7381
		B	0,3	1,32323	0,972	-2,9238	3,5238
2,8khz	A	B	-2,26429	2,17423	0,556	-7,5614	3,0328
		C	-4,67857	2,17423	0,093	-9,9757	0,6185
	B	A	2,26429	2,17423	0,556	-3,0328	7,5614
		C	-2,41429	2,17423	0,514	-7,7114	2,8828
	C	A	4,67857	2,17423	0,093	-0,6185	9,9757
		B	2,41429	2,17423	0,514	-2,8828	7,7114
4khz	A	B	-7,19286	2,41049	0,013	-13,0655	-1,3202
		C	-7,97857	2,41049	<0,01	-13,8513	-2,1059
	B	A	7,19286	2,41049	0,013	1,3202	13,0655
		C	-0,78571	2,41049	0,943	-6,6584	5,087
	C	A	7,97857	2,41049	<0,01	2,1059	13,8513
		B	0,78571	2,41049	0,943	-5,087	6,6584
6khz	A	B	-2,95	2,34384	0,427	-8,6603	2,7603
		C	-6,70714	2,34384	0,018	-12,4174	-0,9968
	B	A	2,95	2,34384	0,427	-2,7603	8,6603
		C	-3,75714	2,34384	0,256	-9,4674	1,9532
	C	A	6,70714	2,34384	0,018	0,9968	12,4174
		B	3,75714	2,34384	0,256	-1,9532	9,4674
8khz	A	B	-4,2	3,37002	0,434	-12,4104	4,0104
		C	-7	3,37002	0,108	-15,2104	1,2104
	B	A	4,2	3,37002	0,434	-4,0104	12,4104
		C	-2,8	3,37002	0,686	-11,0104	5,4104
	C	A	7	3,37002	0,108	-1,2104	15,2104
		B	2,8	3,37002	0,686	-5,4104	11,0104

Tablo 4.7. Grup IIA-IIB-IIC' nin işlem öncesi SNR ortalama farkları.

SNR (sonra)	Grup II	Grup II	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	A	B	-3,02143	1,22186	0,046	-5,9983	-0,0446
		C	0,17857	1,22186	0,988	-2,7983	3,1554
	B	A	3,02143	1,22186	0,046	0,0446	5,9983
		C	3,20000	1,22186	0,033	0,2232	6,1768
	C	A	-0,17857	1,22186	0,988	-3,1554	2,7983
		B	-3,20000	1,22186	0,033	-6,1768	-0,2232
1,4khz	A	B	-2,74286	1,24924	0,085	-5,7864	0,3007
		C	-1,20714	1,24924	0,602	-4,2507	1,8364
	B	A	2,74286	1,24924	0,085	-0,3007	5,7864
		C	1,53571	1,24924	0,443	-1,5078	4,5792
	C	A	1,20714	1,24924	0,602	-1,8364	4,2507
		B	-1,53571	1,24924	0,443	-4,5792	1,5078
2khz	A	B	-6,57857	1,53492	<0,01	-10,3181	-2,839
		C	-2,60714	1,53492	0,219	-6,3467	1,1324
	B	A	6,57857	1,53492	<0,01	2,839	10,3181
		C	3,97143	1,53492	0,035	0,2319	7,711
	C	A	2,60714	1,53492	0,219	-1,1324	6,3467
		B	-3,97143	1,53492	0,035	-7,711	-0,2319
2,8khz	A	B	-7,16429	2,26017	<0,01	-12,6708	-1,6578
		C	-4,92857	2,26017	0,087	-10,435	0,5779
	B	A	7,16429	2,26017	<0,01	1,6578	12,6708
		C	2,23571	2,26017	0,588	-3,2708	7,7422
	C	A	4,92857	2,26017	0,087	-0,5779	10,435
		B	-2,23571	2,26017	0,588	-7,7422	3,2708
4khz	A	B	-13,3285	2,987	<0,01	-20,6058	-6,0513
		C	-6,44286	2,987	0,092	-13,7201	0,8344
	B	A	13,32857	2,987	<0,01	6,0513	20,6058
		C	6,88571	2,987	0,067	-0,3915	14,163
	C	A	6,44286	2,987	0,092	-0,8344	13,7201
		B	-6,88571	2,987	0,067	-14,163	0,3915
6khz	A	B	-10,2929	2,78794	<0,01	-17,0851	-3,5006
		C	0,55714	2,78794	0,978	-6,2351	7,3494
	B	A	10,29286	2,78794	<0,01	3,5006	17,0851
		C	10,85	2,78794	<0,01	4,0577	17,6423
	C	A	-0,55714	2,78794	0,978	-7,3494	6,2351
		B	-10,85	2,78794	<0,01	-17,6423	-4,0577
8khz	A	B	-10,9000	2,96928	<0,01	-18,1341	-3,6659
		C	5,12857	2,96928	0,208	-2,1055	12,3626
	B	A	10,90000	2,96928	<0,01	3,6659	18,1341
		C	16,02857	2,96928	<0,01	8,7945	23,2626
	C	A	-5,12857	2,96928	0,208	-12,3626	2,1055
		B	-16,0285	2,96928	<0,01	-23,2626	-8,7945

Tablo 4.8. Grup IIA-IIB-IIC' nin işlem sonrası SNR ortalama farkları.

4.1.3. Grup III

Grup III' ün akustik travma öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.9' da özetlenmiştir.

Grup III' ün akustik travma öncesi ve sonrası SNR ortalamaları arasındaki fark ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.10' da özetlenmiştir. Bütün gruplarda ve tüm frekanslarda işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamalarına bakıldığında, Grup IIIA' da 2,8 kHz, 4, 6, 8 kHz' de akustik travma sonrası anlamlı derecede düşük olduğu izlendi ($p<0,01$). 1 kHz, 1,4 kHz ve 2 kHz' de ise akustik travma öncesi ve sonrası anlamlı fark görülmedi. Grup IIIB' de SNR ortalamalarının 2,8 ve 6 kHz' de akustik travma sonrası düşük olduğu ($p<0,05$) izlenirken diğer frekanslarda anlamlı fark izlenmedi. Grup IIIC' de SNR ortalamalarında akustik travma öncesi ve sonrası arasında hiçbir frekansta istatistiksel anlamlı fark yoktu.

İşlem öncesi SNR ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldı. IIIA-IIIB grupları arasında hiçbir frekansta anlamlı fark olmadığı izlendi. IIIA-IIIC grupları arasında da hiçbir frekansta anlamlı fark olmadığı izlendi (Tablo 4.11).

İşlem sonrası SNR ortalamalarının Grup IIIA-IIIB arasında 2,8 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de Grup IIIB' de yüksek olduğu ($p<0,05$), diğer frekanslarda ise anlamlı fark olmadığı izlendi. Grup IIIA-IIIC arasında SNR ortalamaları, 2 kHz, 2,8 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de Grup IIIC' de daha yüksek izlendi ($p<0,05$). Diğer frekanslarda ise anlamlı fark görülmedi (Tablo 4.12).

Tablo 4.9. Grup III' ün ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.

GrupIII (SNR)		1khz önce	1khz sonra	1,4khz önce	1,4khz sonra	2khz önce	2khz sonra	2,8khz önce	2,8khz sonra	4khz önce	4khz sonra	6khz önce	6khz sonra	8khz önce	8khz sonra
A	Ortalama	3,6286	4,3929	4,8357	4,8786	5,2	4,4071	11,8857	3,6571	15,9214	13	22,9929	6,9714	22,8571	6,6857
	Std. S.	3,41026	1,84034	3,85898	3,797	4,12982	3,85795	4,80958	3,85281	8,12708	6,58775	8,32868	9,70523	8,98663	6,47645
B	Ortalama	2,8571	3,9	4,2429	3,2714	6,5786	5,4857	11,4714	8,8929	18,2571	16,2	18,2571	15,1571	20,7286	18,6214
	Std. S.	2,27384	1,76679	3,91284	4,45653	3,08674	3,11148	3,99508	4,17086	7,68702	9,22146	8,00939	9,51207	8,63004	11,62161
C	Ortalama	3,6571	3,3071	4,35	3,0071	6,7214	7,8357	12,4429	12,6357	15,3857	17,0571	19,6143	17,8857	21,6071	24,3357
	Std. S.	2,72756	2,63102	3,86478	2,99242	3,93117	3,66598	4,65663	4,61112	10,6788	9,99536	6,22314	5,64458	7,08058	8,98234

Grup IIIA	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	-0,76429	2,42665	0,26
1,4khz önce - 1,4khz sonra	-0,04286	3,48706	0,964
2khz önce - 2khz sonra	0,79286	3,22573	0,374
2,8khz önce - 2,8khz sonra	8,22857	3,95405	<0,01
4khz önce - 4khz sonra	2,92143	3,70596	0,011
6khz önce - 6khz sonra	16,02143	9,98916	<0,01
8khz önce - 8khz sonra	16,17143	11,99362	<0,01
Grup IIIB	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	-1,04286	1,92582	0,064
1,4khz önce - 1,4khz sonra	0,97143	2,77085	0,212
2khz önce - 2khz sonra	1,09286	3,22811	0,227
2,8khz önce - 2,8khz sonra	2,57857	3,80004	0,025
4khz önce - 4khz sonra	2,05714	3,71995	0,059
6khz önce - 6khz sonra	3,1	4,62817	0,026
8khz önce - 8khz sonra	2,10714	4,86549	0,129
Grup IIIC	Ortalama	Std. S.	P
1khz önce - 1khz sonra	0,35	3,44423	0,71
1,4khz önce - 1,4khz sonra	1,34286	3,70877	0,199
2khz önce - 2khz sonra	-1,11429	3,28771	0,227
2,8khz önce - 2,8khz sonra	-0,19286	6,91748	0,919
4khz önce - 4khz sonra	-1,67143	7,20688	0,401
6khz önce - 6khz sonra	1,72857	6,66927	0,35
8khz önce - 8khz sonra	-2,72857	6,04692	0,115

Tablo 4.10. Grup III' ün ilaç uygulaması öncesi ve sonrası SNR ortalama farkları ve standart sapmaları.

SNR (önce)	Grup III	Grup III	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	A	B	0,77143	1,07437	0,754	-1,8461	3,3889
		C	-0,02857	1,07437	1	-2,6461	2,5889
	B	A	-0,77143	1,07437	0,754	-3,3889	1,8461
		C	-0,8	1,07437	0,739	-3,4175	1,8175
	C	A	0,02857	1,07437	1	-2,5889	2,6461
		B	0,8	1,07437	0,739	-1,8175	3,4175
1,4khz	A	B	0,59286	1,4661	0,914	-2,979	4,1647
		C	0,48571	1,4661	0,941	-3,0862	4,0576
	B	A	-0,59286	1,4661	0,914	-4,1647	2,979
		C	-0,10714	1,4661	0,997	-3,679	3,4647
	C	A	-0,48571	1,4661	0,941	-4,0576	3,0862
		B	0,10714	1,4661	0,997	-3,4647	3,679
2khz	A	B	-1,37857	1,41484	0,597	-4,8256	2,0684
		C	-1,52143	1,41484	0,535	-4,9684	1,9256
	B	A	1,37857	1,41484	0,597	-2,0684	4,8256
		C	-0,14286	1,41484	0,994	-3,5899	3,3041
	C	A	1,52143	1,41484	0,535	-1,9256	4,9684
		B	0,14286	1,41484	0,994	-3,3041	3,5899
2,8khz	A	B	0,41429	1,70122	0,968	-3,7304	4,559
		C	-0,55714	1,70122	0,943	-4,7018	3,5875
	B	A	-0,41429	1,70122	0,968	-4,559	3,7304
		C	-0,97143	1,70122	0,836	-5,1161	3,1733
	C	A	0,55714	1,70122	0,943	-3,5875	4,7018
		B	0,97143	1,70122	0,836	-3,1733	5,1161
4khz	A	B	-2,33571	3,37481	0,769	-10,5578	5,8864
		C	0,53571	3,37481	0,986	-7,6864	8,7578
	B	A	2,33571	3,37481	0,769	-5,8864	10,5578
		C	2,87143	3,37481	0,674	-5,3507	11,0935
	C	A	-0,53571	3,37481	0,986	-8,7578	7,6864
		B	-2,87143	3,37481	0,674	-11,0935	5,3507
6khz	A	B	4,73571	2,86394	0,236	-2,2417	11,7131
		C	3,37857	2,86394	0,472	-3,5989	10,356
	B	A	-4,73571	2,86394	0,236	-11,7131	2,2417
		C	-1,35714	2,86394	0,884	-8,3346	5,6203
	C	A	-3,37857	2,86394	0,472	-10,356	3,5989
		B	1,35714	2,86394	0,884	-5,6203	8,3346
8khz	A	B	2,12857	3,12724	0,776	-5,4903	9,7475
		C	1,25	3,12724	0,916	-6,3689	8,8689
	B	A	-2,12857	3,12724	0,776	-9,7475	5,4903
		C	-0,87857	3,12724	0,957	-8,4975	6,7403
	C	A	-1,25	3,12724	0,916	-8,8689	6,3689
		B	0,87857	3,12724	0,957	-6,7403	8,4975

Tablo 4.11. Grup IIIA-III B-III C' nin işlem öncesi SNR ortalama farkları.

SNR (sonra)	Grup III	Grup III	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	A	B	0,49286	0,79972	0,812	-1,4555	2,4412
		C	1,08571	0,79972	0,373	-0,8627	3,0341
	B	A	-0,49286	0,79972	0,812	-2,4412	1,4555
		C	0,59286	0,79972	0,741	-1,3555	2,5412
	C	A	-1,08571	0,79972	0,373	-3,0341	0,8627
		B	-0,59286	0,79972	0,741	-2,5412	1,3555
1,4khz	A	B	1,60714	1,43481	0,508	-1,8885	5,1028
		C	1,87143	1,43481	0,401	-1,6242	5,3671
	B	A	-1,60714	1,43481	0,508	-5,1028	1,8885
		C	0,26429	1,43481	0,981	-3,2314	3,7599
	C	A	-1,87143	1,43481	0,401	-5,3671	1,6242
		B	-0,26429	1,43481	0,981	-3,7599	3,2314
2khz	A	B	-1,07857	1,34527	0,704	-4,3561	2,1989
		C	-3,42857	1,34527	0,039	-6,7061	-0,1511
	B	A	1,07857	1,34527	0,704	-2,1989	4,3561
		C	-2,35	1,34527	0,201	-5,6275	0,9275
	C	A	3,42857	1,34527	0,039	0,1511	6,7061
		B	2,35	1,34527	0,201	-0,9275	5,6275
2,8khz	A	B	-5,23571	1,59617	<0,01	-9,1245	-1,347
		C	-8,97857	1,59617	<0,01	-12,8673	-5,0898
	B	A	5,23571	1,59617	<0,01	1,347	9,1245
		C	-3,74286	1,59617	0,061	-7,6316	0,1459
	C	A	8,97857	1,59617	<0,01	5,0898	12,8673
		B	3,74286	1,59617	0,061	-0,1459	7,6316
4khz	A	B	-3,2	3,29748	0,6	-11,2337	4,8337
		C	-4,05714	3,29748	0,443	-12,0908	3,9765
	B	A	3,2	3,29748	0,6	-4,8337	11,2337
		C	-0,85714	3,29748	0,963	-8,8908	7,1765
	C	A	4,05714	3,29748	0,443	-3,9765	12,0908
		B	0,85714	3,29748	0,963	-7,1765	8,8908
6khz	A	B	-8,18571	3,21108	0,039	-16,0089	-0,3625
		C	-10,9143	3,21108	<0,01	-18,7375	-3,0911
	B	A	8,18571	3,21108	0,039	0,3625	16,0089
		C	-2,72857	3,21108	0,675	-10,5518	5,0946
	C	A	10,91429	3,21108	<0,01	3,0911	18,7375
		B	2,72857	3,21108	0,675	-5,0946	10,5518
8khz	A	B	-11,9357	3,50298	<0,01	-20,4701	-3,4014
		C	-17,65	3,50298	<0,01	-26,1843	-9,1157
	B	A	11,93571	3,50298	<0,01	3,4014	20,4701
		C	-5,71429	3,50298	0,245	-14,2486	2,8201
	C	A	17,65	3,50298	<0,01	9,1157	26,1843
		B	5,71429	3,50298	0,245	-2,8201	14,2486

Tablo 4.12. Grup IIIA-III B-III C' nin işlem sonrası SNR ortalama farkları.

4.1.4. Grup IV (Kontrol Grubu)

Grup IV' ün işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları her frekans için tablo 4.13' te özetlenmiştir.

Kontrol grubu ile Grup IA, Grup IIA ve Grup IIIA' nın işlem öncesi SNR ortalamaları karşılaştırıldı. Sadece Grup IA ile kontrol grubu arasında 1,4 kHz' de fark olduğu izlendi. Grup IA' da SNR ortalamasının 1,4 kHz' de kontrol grubunda daha yüksek olduğu görüldü. Diğer frekanslarda Grup IA, IIA ve IIIA ile kontrol grubu arasında SNR ortalamaları açısından işlem öncesinde istatistiksel anlamlı fark görülmedi (Tablo 4.14).



Tablo 4.13. Grup IV' ün işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamaları ve standart sapmaları.

GrupIV (SNR)	1khz önce	1khz sonra	1,4khz önce	1,4khz sonra	2khz önce	2khz sonra	2,8khz önce	2,8khz sonra	4khz önce	4khz sonra	6khz önce	6khz sonra	8khz önce	8khz sonra
Ortalama	3,8929	4,4429	3,7643	4,5571	6,6643	5,8571	10,8143	10,0643	16,2286	17,3357	18,0714	19,0714	16,9071	15,2214
Std. S.	3,20444	5,471	2,96145	3,11737	5,19091	5,11239	4,5978	6,42323	6,15947	5,49638	7,75871	6,33494	5,23677	5,56295

SNR (önce)	Grup IV (Kontrol)	Grup A	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	Kontrol	G1	-1,37143	1,15158	0,635	-4,4278	1,685
		G2	0,71429	1,15158	0,925	-2,3421	3,7707
		G3	0,26429	1,15158	0,996	-2,7921	3,3207
1,4khz	Kontrol	G1	-3,62143	1,11535	0,011	-6,5817	-0,6612
		G2	-0,23571	1,11535	0,997	-3,196	2,7245
		G3	-1,07143	1,11535	0,772	-4,0317	1,8888
2khz	Kontrol	G1	-4,12143	1,84228	0,127	-9,011	0,7682
		G2	1,47143	1,84228	0,855	-3,4182	6,361
		G3	1,46429	1,84228	0,856	-3,4253	6,3539
2,8khz	Kontrol	G1	-3,56429	2,42848	0,464	-10,0097	2,8811
		G2	0,82143	2,42848	0,987	-5,624	7,2668
		G3	-1,07143	2,42848	0,971	-7,5168	5,374
4khz	Kontrol	G1	-3,67143	2,59263	0,495	-10,5525	3,2097
		G2	6,08571	2,59263	0,101	-0,7954	12,9668
		G3	0,30714	2,59263	0,999	-6,5739	7,1882
6khz	Kontrol	G1	-2,36429	2,795	0,832	-9,7825	5,0539
		G2	4,27143	2,795	0,428	-3,1468	11,6896
		G3	-4,92143	2,795	0,304	-12,3396	2,4968
8khz	Kontrol	G1	-6,15	2,83492	0,145	-13,6742	1,3742
		G2	0,22143	2,83492	1	-7,3027	7,7456
		G3	-5,95	2,83492	0,167	-13,4742	1,5742

Tablo 4.14. Kontrol Grubu ile Grup IA, IIA ve Grup IIIA' nın işlem öncesi SNR ortalama farkları.

Kontrol grubu ile Grup IA, Grup IIA ve Grup IIIA' nın işlem sonrası SNR ortalamaları karşılaştırıldı. Grup IA' ya kıyasla 4, 6 ve 8 kHz' de SNR ortalamalarının işlem sonrası kontrol grubunda daha yüksek olduğu izlendi. Diğer frekanslarda ise istatistiksel anlamlı fark yoktu. Grup IIA' ya kıyasla kontrol grubunda tüm frekanslarda işlem sonrası SNR ortalamalarının istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü. Grup IIIA' ya kıyasla 2,8 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de SNR ortalamalarının işlem sonrası kontrol

grubunda daha yüksek olduğu izlendi. Diğer frekanslarda ise istatistiksel anlamlı fark yoktu (Tablo 4.15).

SNR (sonra)	Grup IV (Kontrol)	Grup A	SNR Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
1khz	Kontrol	G1	2,93571	1,42249	0,179	-0,8397	6,7111
		G2	4,59286	1,42249	0,011	0,8174	8,3683
		G3	0,05	1,42249	1	-3,7254	3,8254
1,4khz	Kontrol	G1	0,35714	1,33137	0,993	-3,1764	3,8907
		G2	4,46429	1,33137	<0,01	0,9307	7,9979
		G3	-0,32143	1,33137	0,995	-3,855	3,2122
2khz	Kontrol	G1	-2,08571	1,73032	0,626	-6,6781	2,5067
		G2	4,47143	1,73032	0,059	-0,121	9,0639
		G3	1,45	1,73032	0,836	-3,1424	6,0424
2,8khz	Kontrol	G1	1,63571	2,18202	0,876	-4,1556	7,427
		G2	8,52857	2,18202	<0,01	2,7373	14,3199
		G3	6,40714	2,18202	0,025	0,6158	12,1984
4khz	Kontrol	G1	11,05714	2,83897	<0,01	3,5222	18,592
		G2	17,06429	2,83897	<0,01	9,5294	24,5992
		G3	4,33571	2,83897	0,429	-3,1992	11,8706
6khz	Kontrol	G1	21,52857	3,555	<0,01	12,0933	30,9639
		G2	15,37143	3,555	<0,01	5,9361	24,8067
		G3	12,1	3,555	<0,01	2,6647	21,5353
8khz	Kontrol	G1	8,11429	2,09399	<0,01	2,5566	13,6719
		G2	7,07143	2,09399	<0,01	1,5138	12,6291
		G3	8,53571	2,09399	<0,01	2,9781	14,0934

Tablo 4.15. Kontrol Grubu ile Grup IA, IIA ve Grup IIIA' nın işlem sonrası SNR ortalama farkları.

4.2. BİUP Bulguları

Çalışmamızda işitme eşiklerinin belirlenmesi için tüm ratlara iki taraflı, çalışma öncesinde ve çalışma sonrası 3 günlük gözlemden sonra BİUP ölçümü yapıldı. Ölçümler 10 grupta yer alan 7' şer ratın hepsine bilateral olarak yapılmış ve örneklemin belirlenmesinde denek sayısı değil kulak sayısı kullanılmıştır. İşitme eşiğinin belirlenmesinde tüm dalgaların kaybolduğu dB nHL şiddeti referans olarak alındı.

4.2.1 Grup I

Grup I' in işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik değerleri ortalaması ve standart sapmaları tablo 4.16' da özetlenmiştir.

Grup I		BİUP önce (dB nHL)	BİUP sonra (dB nHL)
A	Ortalama	8,5714	51,4286
	Std. S.	3,05625	14,20029
B	Ortalama	10	24,285
	Std. S.	3,9223	9,9724
C	Ortalama	9,2857	30,3571
	Std. S.	2,67261	4,58437

Tablo 4.16. Grup I' in işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları ve standart sapmaları.

Grup I' in BİUP eşik değerlerinin işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları tablo 4.17' de özetlenmiştir. İşlem öncesi ve sonrası işitme eşik ortalamaları kıyaslandığında, bütün gruplarda eşik değerlerin işlem sonrası yükseldiği ve işitme eşiklerindeki bu yükselişin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlendi ($p < 0,01$). İşitme eşiklerindeki artışın en fazla olduğu grup, IA iken en az olduğu grup, IB' dir.

Grup		Ortalama	Std. S.	P
IA	BİUP önce – BİUPsonra	-42,8571	15,15488	<0,01
IB	BİUP önce – BİUPsonra	-14,2857	9,77775	<0,01
IC	BİUP önce – BİUPsonra	-21,0714	4,46291	<0,01

Tablo 4.17. Grup I' in BİUP eşik ortalamalarının işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları.

İşlem öncesi ve sonrası işitme eşik ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldı. IA-IB-IC grupları arasında işlem öncesi BİUP ortalamaları açısından anlamlı fark olmadığı izlendi. İşlem sonrası IA-IB grupları karşılaştırıldığında işitme eşiklerinin IA grubunda daha yüksek olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. İşlem sonrası IA-IC grupları karşılaştırıldığında işitme eşiklerinin grup IA' da yüksek olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlendi İşlem sonrası IB-IC arasında ise, işitme eşikleri açısından anlamlı fark yoktu (Tablo 4.18).

BİUP	Grup I	Grup I	BİUP farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
BİUP Önce	A	B	-1,42857	1,23188	0,484	-4,4298	1,5727
		C	-0,71429	1,23188	0,832	-3,7155	2,287
	B	A	1,42857	1,23188	0,484	-1,5727	4,4298
		C	0,71429	1,23188	0,832	-2,287	3,7155
	C	A	0,71429	1,23188	0,832	-2,287	3,7155
		B	-0,71429	1,23188	0,832	-3,7155	2,287
BİUP sonra	A	B	27,14286	3,91648	<0,01	17,6011	36,6846
		C	21,07143	3,91648	<0,01	11,5297	30,6132
	B	A	-27,1429	3,91648	<0,01	-36,6846	-17,6011
		C	-6,07143	3,91648	0,279	-15,6132	3,4703
	C	A	-21,0714	3,91648	<0,01	-30,6132	-11,5297
		B	6,07143	3,91648	0,279	-3,4703	15,6132

Tablo 4.18. Grup I' in işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik farkları.

4.2.2 Grup II

Grup II' nin işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik değerleri ortalaması ve standart sapmaları tablo 4.19' da özetlenmiştir.

Grup II		BİUP önce (dB nHL)	BİUP sonra (dB nHL)
A	Ortalama	7,5	48,5714
	Std. S.	2,59437	15,11858
B	Ortalama	9,2857	20,3571
	Std. S.	4,32219	9,49986
C	Ortalama	10,3571	50,7143
	Std. S.	4,58437	12,0666

Tablo 4.19. Grup II' nin işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları ve standart sapmaları.

Grup II' nin BİUP eşik değerlerinin işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları tablo 4.20' de özetlenmiştir. İşlem öncesi ve sonrası işitme eşik ortalamaları kıyaslandığında, bütün gruplarda eşik değerlerin işlem sonrası yükseldiğini ve işitme eşiklerindeki bu yükselişin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlendi ($p<0,01$). İşitme eşiklerindeki artışın en fazla olduğu grup, IIA iken en az olduğu grup, IIB' dir.

Grup		Ortalama	Std. S.	P
IIA	BİUP önce – BİUPsonra	-41,0714	16,66163	<0,01
IIB	BİUP önce – BİUPsonra	-11,0714	6,55702	<0,01
IIC	BİUP önce – BİUPsonra	-40,3571	14,20513	<0,01

Tablo 4.20. Grup II' nin BİUP eşik ortalamalarının işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları.

İşlem öncesi ve sonrası işitme eşik ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldı. IIA-IIB-IIC grupları arasında işlem öncesi BİUP ortalamaları açısından anlamlı fark olmadığı izlendi. İşlem sonrası IIA-IIB grupları karşılaştırıldığında işitme eşiklerinin IIA grubunda daha yüksek olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. İşlem sonrası IIA-IIC grupları arasında işitme eşikleri açısından anlamlı fark olmadığı görüldü. İşlem sonrası IIB-IIC arasında ise, IIC grubunda işitme eşiklerinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 4.21).

BİUP	Grup II	Grup II	BİUP farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
BİUP önce	A	B	-1,78571	1,4869	0,46	-5,4083	1,8368
		C	-2,85714	1,4869	0,146	-6,4797	0,7654
	B	A	1,78571	1,4869	0,46	-1,8368	5,4083
		C	-1,07143	1,4869	0,753	-4,694	2,5511
	C	A	2,85714	1,4869	0,146	-0,7654	6,4797
		B	1,07143	1,4869	0,753	-2,5511	4,694
BİUP sonra	A	B	28,21429	4,7027	<0,01	16,7571	39,6715
		C	-2,14286	4,7027	0,892	-13,6001	9,3144
	B	A	-28,2143	4,7027	<0,01	-39,6715	-16,7571
		C	-30,3571	4,7027	<0,01	-41,8144	-18,8999
	C	A	2,14286	4,7027	0,892	-9,3144	13,6001
		B	30,35714	4,7027	<0,01	18,8999	41,8144

Tablo 4.21. Grup II' nin işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik farkları.

4.2.3 Grup III

Grup III' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik değerleri ortalaması ve standart sapmaları tablo 4.22' de özetlenmiştir.

Grup III		BİUP önce (dB nHL)	BİUP sonra (dB nHL)
A	Ortalama	11,7857	19,6429
	Std. S.	4,20949	8,19575
B	Ortalama	9,6429	17,1429
	Std. S.	3,07864	4,68807
C	Ortalama	9,2857	14,6429
	Std. S.	4,32219	4,98624

Tablo 4.22. Grup III' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları ve standart sapmaları.

Grup III' ün BİUP eşik değerlerinin işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları tablo 4.23' te özetlenmiştir. İşlem öncesi ve sonrası işitme eşik ortalamaları kıyaslandığında, bütün gruplarda eşik değerlerin işlem sonrası yükseldiği ve işitme eşiklerindeki bu yükselişin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlendi ($p < 0,01$). İşitme eşiklerindeki artışın en fazla olduğu grup, IIIA iken en az olduğu grup, IIIC' dir.

Grup		Ortalama	Std. S.	P
IIIA	BİUP önce-BİUPsonra	-7,85714	9,74961	0,01
IIIB	BİUP önce-BİUPsonra	-7,5	4,27425	<0,01
IIIC	BİUP önce-BİUPsonra	-5,35714	4,98624	<0,01

Tablo 4.23. Grup III' ün BİUP eşik ortalamalarının işlem öncesi-sonrası farkları ve standart sapmaları.

İşlem öncesi ve sonrası işitme eşik ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldı. IIIA-IIIB-IIIC grupları arasında işlem öncesi BİUP ortalamaları açısından anlamlı fark olmadığı izlendi. İşlem sonrası da IIIA-IIIB-IIIC grupları arasında anlamlı fark yoktu. (Tablo 4.24).

BİUP	Grup III	Grup III	BİUP farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
BİUP önce	A	B	2,14286	1,47808	0,326	-1,4582	5,7439
		C	2,5	1,47808	0,221	-1,1011	6,1011
	B	A	-2,14286	1,47808	0,326	-5,7439	1,4582
		C	0,35714	1,47808	0,968	-3,2439	3,9582
	C	A	-2,5	1,47808	0,221	-6,1011	1,1011
		B	-0,35714	1,47808	0,968	-3,9582	3,2439
BİUP sonra	A	B	2,5	2,33004	0,536	-3,1767	8,1767
		C	5	2,33004	0,094	-0,6767	10,6767
	B	A	-2,5	2,33004	0,536	-8,1767	3,1767
		C	2,5	2,33004	0,536	-3,1767	8,1767
	C	A	-5	2,33004	0,094	-10,6767	0,6767
		B	-2,5	2,33004	0,536	-8,1767	3,1767

Tablo 4.24. Grup III' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik farkları.

4.2.4. Grup IV (Kontrol Grubu)

Grup IV' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik değerleri ortalaması ve standart sapmaları tablo 4.25' te özetlenmiştir.

Grup IV	BİUP önce (dB nHL)	BİUP sonra (dB nHL)
Ortalama	8,9286	8,6739
Std. S.	2,89467	4,00892

Tablo 4.25. Grup IV' ün işlem öncesi ve sonrası BİUP eşik değerleri ortalaması ve standart sapmaları.

Kontrol grubu ile Grup IA, Grup IIA ve Grup IIIA' nın işlem öncesi işitme eşik ortalamaları karşılaştırıldı ve gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi. İşlem sonrası işitme eşik ortalamaları kıyaslandığında kontrol grubuna kıyasla grup IA ve IIA' da daha yüksek olduğu görüldü. Kontrol grubu ve grup IIIA arasında ise işlem sonrası işitme eşikleri açısından anlamlı fark görülmedi (Tablo 4.26).

BİUP	Grup IV (Kontrol)	Grup A	BİUP Ortalama Farkı	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						En düşük	En yüksek
Önce	Kontrol	G1	0,35714	1,22723	0,991	-2,9	3,6143
		G2	1,42857	1,22723	0,652	-1,8286	4,6858
		G3	-2,85714	1,22723	0,105	-6,1143	0,4
Sonra	Kontrol	G1	-42,5	4,28228	<0,01	-53,8656	-31,1344
		G2	-39,6429	4,28228	<0,01	-51,0084	-28,2773
		G3	-10,7143	4,28228	0,071	-22,0799	0,6513

Tablo 4.26. Kontrol Grubu ile Grup IA, IIA ve IIIA' nın işlem öncesinde ve sonrasında BİUP eşik farkları.

4.3. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İnceleme Bulguları

Çalışmamızdaki tüm grupların koklear histolojik değerlendirme sonuçları yarı ince ve ince kesitlerle birlikte aşağıda verilmiştir. Çalışmamızda Karaer (2015)' in radyasyon hasarına karşı melatoninin iç kulak üzerindeki koruyucu etkisini araştıran çalışmasında, iç kulak hasarının derecesi için kullanılan skorumaya modifiye edilerek kullanılmıştır.

Buna göre her grupta 6' şar denekten elde edilen kesitler skorlamaya dahil edilmiştir. Bu skorlamaya göre;

0: dejenerasyon yok

1: zayıf dejenerasyon

2: orta dejenerasyon

3: kuvvetli dejenerasyon

4.3.1 Grup I

IA

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında korti organı, stria vaskularis ve koklear sinir yapıları incelendi. Korti organının iç ve dış tüy hücrelerinde sterosilya yapıları izlenemedi. Falangiyal ve dış tüy hücrelerini birbirine bağlayan apikal kütikular plak yapısı hasarlıydı. Falangiyal hücreler dış tüy hücrelerini desteklemiyordu. İnce yapı düzeyinde incelenen alanlarda destek hücrelerinde yoğun vakuolizasyon ve şişme ile yan yüz bağlantılarının ince yapı düzeyinde görülememesi dikkat çekti. Stria vaskularis epitel hücrelerinde yoğun vakuolizasyon mevcuttu. Koklear sinire ait akson kesitlerinde myelin lamellerinde ayrılmalar ve akson nöroflaman yapısında bozulma belirgin olarak gözlemlendi. Schwann hücre sitoplazmasında şişme mevcuttu. İnce yapı düzeyinde incelenen mitokondriyonda kristolizis mevcuttu. Bu grupta doku düzeyinde ödem ve nekrotik değişiklikler mevcuttu.

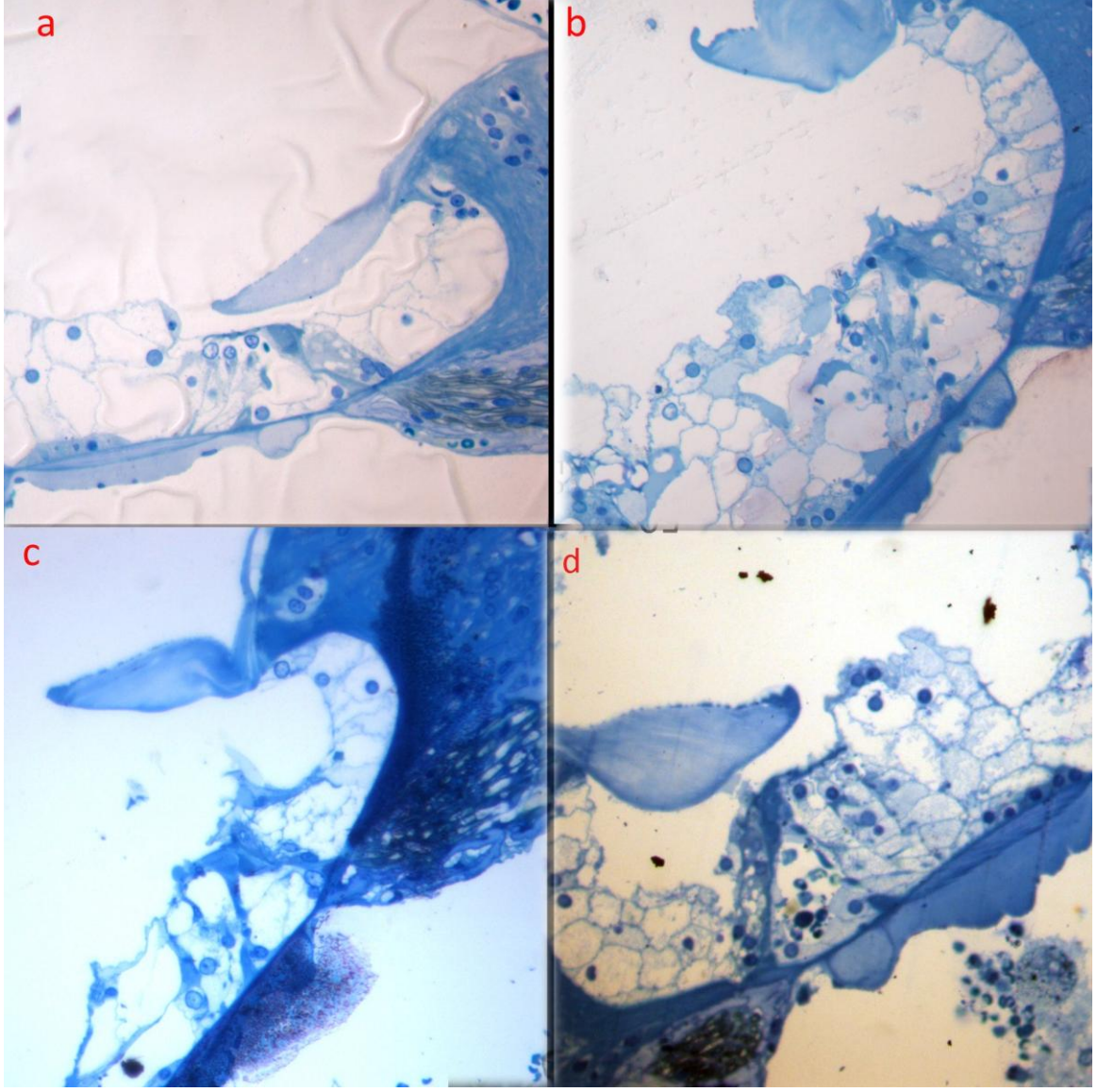
IB

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında iç ve dış tüy hücrelerinin hücre bütünlüğünü koruduğu ve falangiyal hücreler tarafından desteklendiği görüldü. Diğer destek hücrelerinde ödem ve vakuolizasyonun, IA grubuna göre daha az olduğu saptandı. İnce yapı düzeyindeki incelemede dış tüy hücrelerinde mitokondriilerin olağan yerleşimde olduğu ve normal kristal yapısını koruduğu gözlemlendi. tüy hücreleri apikal yüzünde sterosilyalar mevcuttu. Dış tüy ve falangiyal hücrelerin çekirdekleri ökromatik yapıdaydı. Perinükleer sisternaları normaldi. Stria vaskularis ince yapı düzeyinde bütünlüğünü

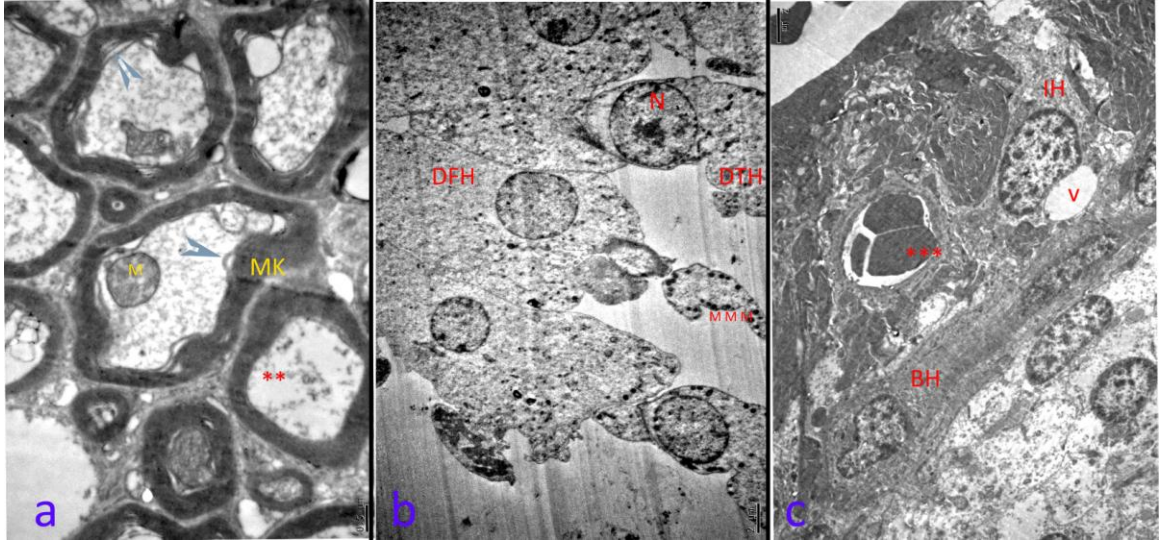
koruyordu. Epitel hücrelerinin çekirdek yapıları normaldi. Bunun yanında ödem ve hücre içi vakuolizasyon yer yer saptandı. Koklear sinire ait yapıların izleminde akson kesitlerinin nöroflaman yapısının IA grubuna göre korunmuş olduğu ancak sitoplazmada yer yer otofagozom benzeri yapılar olduğu saptandı.

IC

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında her dış tüy hücrelerini bir falangiyal hücre destelemekteydi. Apikal kütikular plak yapısı sağlıklıydı. İnce yapı düzeyindeki incelemede destek hücrelerinde vakuolizasyon saptandı. Destek hücrelerinde hücreler arası bağlantı birimleri seçilemedi. Falangiyal hücre ile dış tüy hücreleri arasındaki bağlantı birimleri sağlıklı görünümdeydi. Hücre içi mitokondri dağılımı normaldi. Mitokondriler sağlıklı krista yapısı ile izlendi. Sterosilyalar bazı kesitlerde izlendi. Stria vasküleriste epitel hücrelerinde vakuolizasyon, marginal hücrelerde scala medya' ya doğru sitoplazmik protrüzyonlar mevcuttu. Dejenerasyonun daha az görüldüğü kesitlerde, kapillerler, hücreler arası bağlantı birimleri sağlam olarak tespit edildi. Koklear sinire ait yapılarda dejeneratif bulguların azaldığı görüldü.



Resim 4.1. (a) Kontrol grubuna ait yarı ince kesitte korti organı. (b) IA grubuna ait korti organı. Dış tüy hücrelerinde sitoplazmik ve nükleer kondensasyon. Dış tüy hücrelerinin apikal kütiküler plakla bağlantısı kesilmiş. Destek hücrelerinde vakuolizasyon, şişme mevcut. (c) IB grubuna ait korti organı. Dış tüy hücreleri apikal kütiküler plak ile temas halinde. İç ve dış pılar hücreler iç tüneli sınırlamakta. Destek hücrelerinde şişme mevcut. (d) IC grubuna ait korti organında dış tüy hücreleri ve destek hücreleri görülüyor. Destek hücrelerinde vakuolizasyon belirgin. Dış tüy ve dış falangiyal hücrelerin yerleşimleri normal.



Resim 4.2. (a) IA grubuna ait elektron mikrografta koklear sinire ait myelinli akson kesitleri, myelin kılıf (**MK**), akson sitoplazması içinde mitokondri (**M**) görülüyor. Myelin kılıfta akson sitoplazmasına doğru lameller ayrılmalar (\rightarrow) ve sitoplazma içinde oluşan nöroflaman kaybı (*****) görülmektedir. (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat X20.000).

(b) IB grubuna ait elektron mikrografta dış tüy hücreleri (**DTH**) ve onları destekleyen dış falangiyal hücreler (**DFH**) görülüyor. Dış tüy hücrelerinde sağlıklı düzenlenime sahip mitokondriyonlar (**M**) ve hücrelerin ökromatik nükleusları (**N**) görülmektedir.

(c) IC grubuna ait elektron mikrografta stria vaskularis görülüyor. İntraepitelyal kapiller (*****), intermediate hücre (**İH**), bazal hücre (**BH**) görülmektedir. İntermediate hücre içinde vakuol (**V**) görülmektedir.

Uranil Asetat&Kurşun Sitrat (a) X20.000 (b) X5000 (c) X6000.

	Kontrol	IA	IB	IC
Spiral ganglionda ödem	0	2	1	1
Stria vasküleriste epitelyal dejenerasyon	1	2	1	1
Stria vasküleriste ödem	0	2	1	1
Korti Organında dejeneratif değişiklikler	1	3	2	2

Tablo 4.27. Grup I: Spiral ganglion, stria vaskülaris ve korti organındaki dejeneratif değişikliklerin skorlanması (**0:** dejenerasyon yok **1:** zayıf dejenerasyon **2:** orta dejenerasyon **3:** kuvvetli dejenerasyon).

4.3.2 Grup II

IIA

Yarı ince kesitlerin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında, iç ve dış tüy hücrelerinde hücre bütünlüğünün korunamadığı gözlemlendi. Dış tüy hücrelerinin apikal kütikular plak ile bağlantısı kesilmişti. Falangiyal hücrelerde vakuolizasyon ve şişme mevcuttu. İnce yapı düzeyindeki incelemede dış tüy hücrelerinin apoptoza gittiği ve nükleer apoptotik bulguların varlığı mevcuttu., sterosilya kaybı belirgindi. Destek hücrelerinin organel içeriğinde azalma, piknozis, sitoplazmada şişme ile yan yüz bağlantılarının ince yapı düzeyinde görülememesi dikkat çekti. Stria vaskülaris epitel hücrelerinde vakuolizasyon mevcuttu. Koklear sinire ait akson kesitlerinde myelin lamellerde ayrılmalar, akson içinde lokal mitokondri agregasyonları, mitokondriyal şişme gözlemlendi.

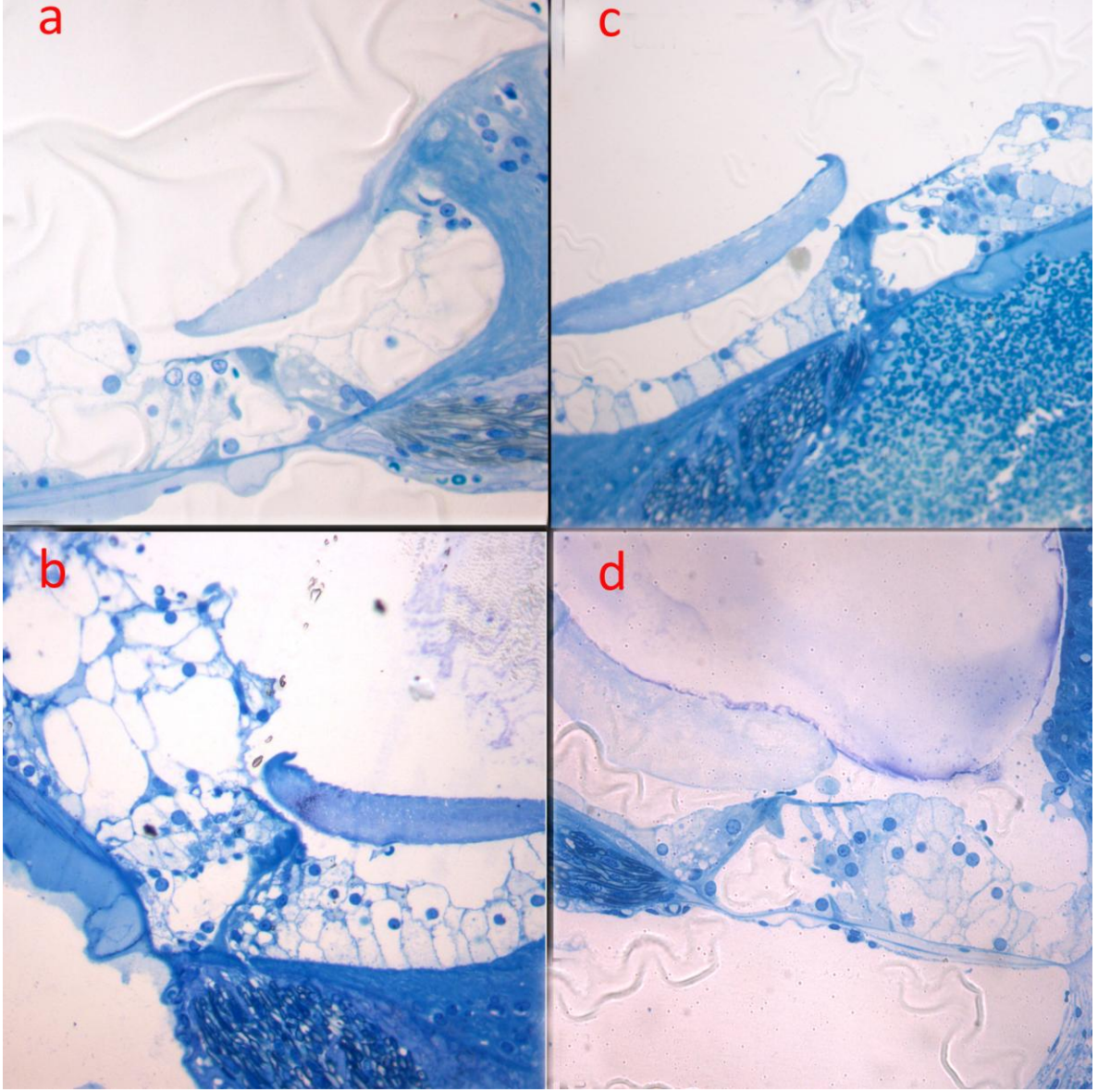
IIB

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında iç ve dış tüy hücrelerinde sitoplazmada vakuolizasyonlar mevcuttu. Destek hücrelerinde de şişme saptandı. Ancak ince kesit düzeyinde yapılan incelemelerde tüy hücrelerinin hücre bütünlüğünü koruduğu ve falangiyal hücreler tarafından desteklendiği görüldü. Apikal kütikular plak yapısı sağlamdı. Diğer destek hücrelerinde ödem ve vakuolizasyonun, IIA grubuna göre daha az olduğu saptandı. Stria vaskülaris ince yapı düzeyinde bütünlüğünü koruyordu. Epitel

hücrelerinin çekirdek yapıları normaldi. Bunun yanında ödem ve hücre içi vakuolizasyon yer yer saptandı. Kohlear sinire ait yapıların izleminde akson kesitlerinin nöroflaman yapısının IA grubuna göre korunmuş olduğu ancak sitoplazmada yer yer otofagozom benzeri yapılar olduğu saptandı.

IIC

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında iç ve dış tüy hücreleri sağlıklı yapıda izlendi. Falangiyal hücreler dış tüy hücrelerini destekliyordu. Apikal kütiküler plak sağlamdı. Sterosilyalar tüy hücrelerinin apikalinde izlendi. Stria vaskulariste epitel içi kapillerler gözlemlendi. İnce yapı düzeyindeki incelemede tüy hücrelerinin sağlıklı çekirdek yapısına sahip olduğu, mitokondrilerinin doğal yerleşiminde olduğu gözlemlendi. Mitokondrilerde kristolizis yoktu. Hücreler arası sıkı bağlantı birimleri mevcuttu. Stria vaskulariste hücre içi vakuolizasyonlar gözlemlendi. Üç tip epitel hücresi (marginal, intermediate, bazal hücre) çekirdekleri ökromatikti ve sağlıklı ince yapı özellikleri gösterdi. Koklear sinire ait aksonlarda myelin lamellerinde ayrılmanın devam ettiği gözlemlendi. Akson sitoplazmalarında nöroflamanlar mevcuttu.



Resim 4.3. (a) Kontrol grubuna ait yarı ince kesitte korti organı. (b) IIA grubuna ait korti organı. Dış tüy hücrelerinde sitoplazmik kondensasyon. Dış tüy hücrelerinin apikal kütikular plakla bağlantısı kesilmiş. Destek hücrelerinde vakuolizasyon, şişme. (c) IIB grubuna ait korti organı. Dış tüy hücreleri apikal kütikular plak ile temas halinde. Dış falanjiyal hücreler dış tüy hücrelerini destekliyor. (d) IIC grubuna ait korti organında dış tüy hücreleri ve destek hücreleri görülüyor, lokalizasyonları normal. Sitoplazma ve çekirdek dejenerasyonu minimal. Destek hücrelerinde vakuolizasyon belirgin.



Resim 4.4. (a) IIA grubuna ait elektron mikrografta apoptotik dış tüy hücreleri (DTH) görülmektedir.

(b) IIB grubuna ait elektron mikrografta dış tüy hücreleri (**DTH**) ve onları destekleyen dış falanjiyal hücre (**DFH**) görülüyor. Dış tüy hücrelerinde sağlıklı düzenlenime sahip mitokondriyonlar görülmektedir. (**AKP**) Apikal kütikular plak mevcut ve dış tüy hücreleri ile bağlantı halinde görülüyor.

(c) IIC grubuna ait elektron mikrografta dış tüy hücreleri (**DTH**) ve onları destekleyen dış falanjiyal hücre (**DFH**) görülüyor. Dış tüy hücrelerinde sağlıklı düzenlenime sahip mitokondriyonlar (**M**) ve hücrelerin ökromatik nükleusları (**N**) görülüyor. Hücreler arası bağlantı birimleri (*)

Uranil Asetat&Kurşun Sitrata (a) X8000 (b) X5000 (c) X8000.

	Kontrol	IIA	IIB	IIC
Spiral ganglionda ödem	0	2	1	1
Stria vasküleriste epitelial dejenerasyon	1	2	1	1
Stria vasküleriste ödem	0	2	1	2
Korti Organında dejeneratif değişiklikler	1	3	2	1

Tablo 4.28. Grup II: Spiral ganglion, stria vaskularis ve korti organındaki dejeneratif değişikliklerin skorlanması (**0:** dejenerasyon yok **1:** zayıf dejenerasyon **2:** orta dejenerasyon **3:** kuvvetli dejenerasyon).

4.3.3 Grup III

IIIA

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında iç ve dış tüy hücrelerinin hücresel bütünlüğünün bozulduğu gözlemlendi. İç tünel yapısı dış pılar hücrelerde oluşan şişme nedeniyle bozulmuştu. Falanjiyal hücrelerin ve dış tüy hücrelerinin tamamı gözlenemedi. İnce yapı düzeyindeki incelemede sterosilyalar gözlenmedi. Destek hücrelerinde şişme ve sitoplazma kaybı mevcuttu. Hücreler arası bağlantı birimleri

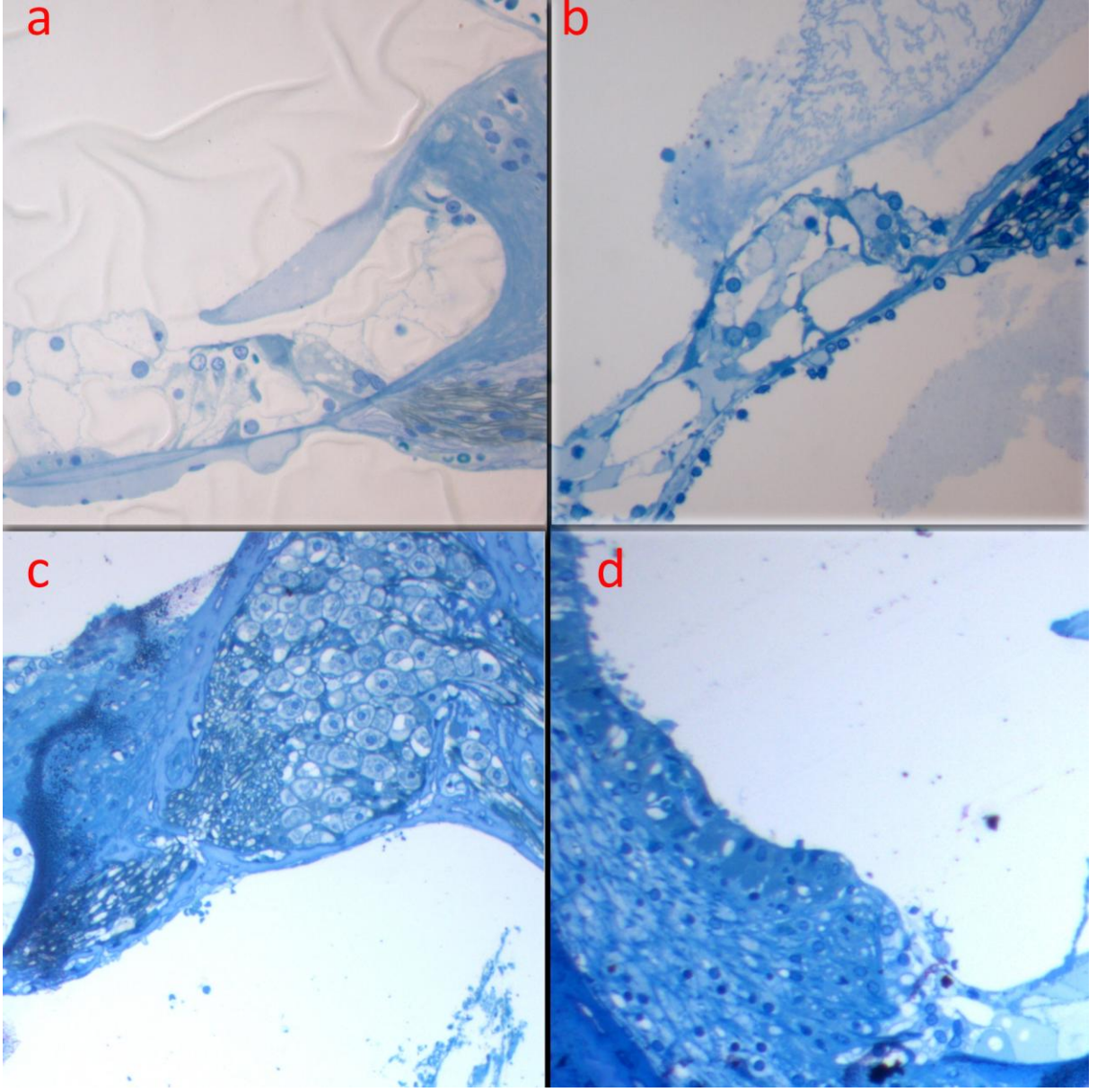
görülmedi. Bazı hücre çekirdeklerinde piknozis mevcuttu. Stria vaskülariste üç epitel hücresi de izlendi. Hücre içi vakuolizasyon mevcuttu. Koklear sinire ait aksonlarda myelin lamellerinde ayrılma, akson içi nöroflaman kaybı gözlemlendi. Schwann hücre sitoplazmasında vakuolizasyon mevcuttu.

IIIB

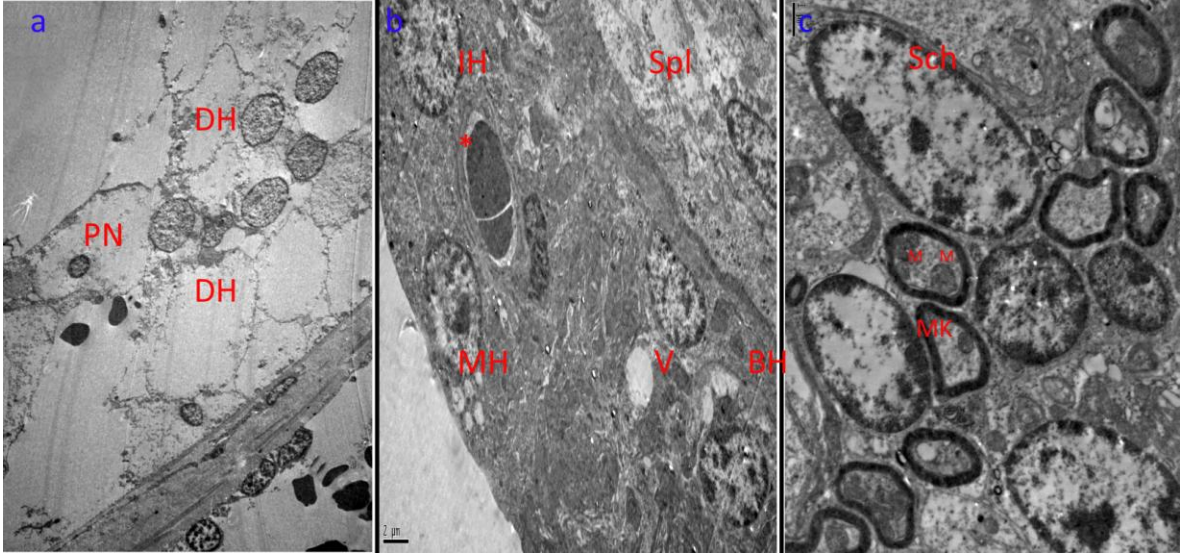
Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında tüy hücrelerinin falangiyal hücreler tarafından desteklendiği görüldü. Destek hücrelerinde ödem ve vakuolizasyon daha azdı. İnce yapı düzeyindeki incelemede dış tüy hücrelerinde mitokondrilerin olağan yerleşimde olduğu ve normal kristal yapısını koruduğu gözlemlendi. Tüy hücrelerinde sterosilyalar mevcuttu. Dış tüy ve falangiyal hücrelerin çekirdekleri ökromatik yapıdaydı. Stria vaskülaris ince yapı düzeyinde bütünlüğünü koruyordu. Epitel hücrelerinin çekirdek yapıları normaldi. Epitel içi kapillerlerin bazal membranları sağlıklı yapıdaydı. Epitel arası sıkı bağlantılar mevcuttu. Hücre içi vakuolizasyon yer yer saptandı. Koklear sinire ait yapıların izleminde akson kesitlerinin nöroflaman yapısı korunmuştu. Myelin kılıfta lameller ayrılma bazı kesitlerde mevcuttu.

IIIC

Yarı ince kesitin metilen mavisi – azur Z ile boyamasında iç ve dış tüy hücreleri izlendi. Falangiyal hücreler dış tüy hücrelerini destekliyordu. Stria vaskülariste epitel içi kapillerler gözlemlendi. İnce yapı düzeyindeki incelemede tüy hücrelerinin sağlıklı çekirdek yapısına sahip olduğu, mitokondrilerinin doğal yerleşiminde olduğu gözlemlendi. Bazı kesitlerde mitokondrilerde kristolizis mevcuttu. Hücreler arası sıkı bağlantı birimleri mevcuttu. Stria vaskülariste hücre içi vakuolizasyonlar gözlemlendi. Üç tip epitel hücresi (marginal, intermediate, bazal hücre) sitoplazmasında organel içeriği normal, çekirdekleri ökromatik olarak gözlemlendi. İntraepitelyal kapillerler mevcuttu. Bazal membran kalınlığı normaldi. Koklear sinire ait aksonlarda myelin lamellerinde ayrılmanın devam ettiği gözlemlendi. Akson sitoplazmalarında nöroflamanlar mevcuttu.



Resim 4.5. (a) Kontrol grubuna ait yarı ince kesitte korti organı. (b) IIIA grubuna ait korti organı. Dış tüy hücrelerinde sitoplazmik ve nükleer kondensasyon. Dış tüy hücrelerinin apikal kütikular plakla bağlantısı kesilmiş. Destek hücrelerinde vakuolizasyon, şişme mevcut. (c) IIIB grubuna ait spiral ganglion. Ganglion hücrelerinde vakuolizasyon mevcut. Nükleer kondensasyon mevcut. (d) IIIC grubuna ait yarı ince kesitte stria vaskularis. Bazal, intermediate, marginal hücreler mevcut. Epitel içi vakuoller görülmektedir. İntraepitelyal kapiller mevcut.



Resim 4.6. (a) IIIA grubuna ait elektron mikrografta korti organına ait destek hücreleri (DH) görülmekte. Destek hücrelerine ait piknotik nükleus (PN).

(b) IIIB grubuna ait elektron mikrografta stria vaskularis görülüyor. İntraepitelyal kapiller (*), marjinal hücre (MH), intermediate hücre (IH), bazal hücre (BH) görülmektedir. Hücre içinde vakuol (V), Spiral ligament (Spl), Nükleus (N).

(c) IIIC grubuna ait elektron mikrografta koklear sinire ait myelinli akson kesitleri, myelin kılıf (MK), akson sitoplazması içinde mitokondri (M) görülüyor. Schwann hücre çekirdeği (Sch).

Uranil Asetat&Kurşun Sitrat (a) X2000 (b) X6000 (c) X8000.

	Kontrol	III A	III B	III C
Spiral ganglionda ödem	0	2	1	1
Stria vasküleriste epitelyal dejenerasyon	1	2	1	1
Stria vasküleriste ödem	0	2	1	2
Korti Organında dejeneratif değişiklikler	1	3	2	1

Tablo 4.29. Grup III: Spiral ganglion, stria vaskülaris ve korti organındaki dejeneratif değişikliklerin skorlanması (**0:** dejenerasyon yok **1:** zayıf dejenerasyon **2:** orta dejenerasyon **3:** kuvvetli dejenerasyon).

5. TARTIŞMA

İç kulağı etkileyen bir çok ilaç ototoksik olarak sınıflanabilir. Bunlar kokleotoksik de olabilir, vestibülotoksik de olabilir. Bu ilaçlar potansiyel ototoksik etkilerinden bağımsız olarak ya iç kulak hasarının çok az olmasından dolayı veya alternatifleri olmadığı için güncel kullanımda tercih edilmektedirler. Tarihsel olarak, yüzyıllar boyunca koklear ve vestibüler ototoksisite hastalar tarafından tecrübe edilmiştir ve klinisyenler tarafından kaydedilmiştir. Ancak ototoksisitenin yaygın farkındalık kazanması 1940' lı yıllarda olmuştur. 1944 yılında ilk aminoglikozid olan streptomisin tüberküloza karşı başarılı bir ilaç olarak keşfedilmiştir (Schatz 1944). Kısa bir süre sonra ise vestibüler, işitsel defisitler ve böbrek problemleri tecrübe edilmiştir (Hinshaw 1945). Takip eden yıllarda doğal ve yarı sentetik birçok aminoglikozid türü geliştirilmişse de benzer yan etkiler hepsinde görülmüştür.

Aminoglikozid türleri arasında ototoksisitenin ciddiyeti değişiklik gösterir. Neomisin yüksek toksik olandır, gentamisin, kanamisin ve tobramisin daha az ototoksiktir, amikasin ve netilmisin ise en az ototoksik olanlarıdır. Ototoksik etkilerini vestibülotoksisite, kokleotoksisite veya her ikisi olarak da gösterebilirler. Cisplatin ise farklı olarak yalnızca kokleotoksiktir. Amikasin ve neomisin birincil olarak kokleayı etkilemektedirler, gentamisinin ise kokleotoksik etkisi olsa da vestibüler ablyasyon tedavisinde kullanılacak kadar ciddi vestibülotoksik etkisi vardır (Blakley 1997). Amikasinin kokleotoksik etkileri daha ön planda olduğu için ve çalışmamız koklea ve ototoksisite temelli bir çalışma olduğundan diğer ajanlarda daha çok görülebilecek vestibüler yan etkilerden kaçınmak amacıyla çalışmamızda amikasin tercih edilmiştir.

Aminoglikozidler tarafından oluşturulan işitme kaybı genellikle bilateral ve yüksek frekanslarda başlar, uzun süre kullanım sonrası alçak frekanslar da etkilenir. Vestibüler etki olarak denge kaybı görülür, vertigo da eşlik edebilir. Semptomlar tedavi başlangıcından günler ya da haftalar sonra ortaya çıkabilir, tedavi kesildikten sonra da ilerlemeye devam edebilir. Aminoglikozidlere bağlı işitme ve denge kaybı insidans tahminleri çalışmalar arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Genellikle aminoglikozidlerde kısa süreli tedavide, işitsel toksisite insidansı % 20, vestibüler toksisite insidansı % 15' tir (Fee 1980, Moore 1984, Lerner 1986).

Fausti (1992)' ye göre yüksek frekansları (>8 kHz) da içeren odyogramlarla daha büyük ototoksisite insidansları (% 47) ortaya çıkmaktadır. Kistik fibrozisli, tekrarlayan akciğer enfeksiyonlarına karşı profilaktik aminoglikozid tedavisi alan hastalarda yapılan geniş çapta bir kokleotoksisite çalışmasında insidans % 17 bulunmuştur (Mulheran 2001). Duggal (2007)' e göre tüberküloz tedavisi için aminoglikozid kullanan hastalarda ototoksisite doz ve zaman bağımlıdır. Tedavinin ilk aşamasında düşük düzeyde olsa da 6-12 aya kadar uzamış tedavide tüm hastalarda ölçülebilir bir işitme kaybı gelişmektedir.

Literatürde insan kulak anatomisi ile benzerlik gösterdiği için ototoksisite çalışmalarında çoğunlukla ratlar kullanılmıştır. Amikasin ototoksisitesi için değişik doz ve süreler tercih edilebilmektedir. Bayindir ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Wistar Albino cinsi ratlarda amikasin dozu 600 mg/kg/gün olarak belirlenmiş ve 14 gün boyunca günde tek doz halinde intramüsküler uygulanmıştır. Çalışmadaki 30 rattan 10 tanesi çeşitli sebeplerle ex olmuştur. Canlı kalan ratlarda amikasinine bağlı ototoksisite oluştuğu istatistiksel olarak kanıtlanmıştır (Bayindir 2013). Aksoy ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da Wistar Albino cinsi ratlarda aynı şekilde ve aynı dozda amikasinle ototoksisite oluşturulmuş ve herhangi bir denek kaybından söz edilmemiştir. Çalışmamızda Wistar Albino cinsi ratlara 600 mg/kg/gün amikasin intramüsküler 14 gün verildi. Tedavinin değişik günlerinde 21 adet rattan 20 tanesi ex oldu. Bu amikasin dozunun yüksek olmasına bağlandı ve yeniden temin edilen 21 adet rata Berkiten (2012)' e göre 200 mg/kg/gün intramüsküler 14 gün amikasin verildi. Deney hayvanı kaybımız olmazken sadece amikasin verilen grubun (Grup IIA) SNR ortalamalarının tüm frekanslarda işlem sonrası düşüş gösterdiği ve bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlendi. Kontrol grubu ile sadece amikasin verilen grup karşılaştırıldığında SNR ortalamaları arasında işlem öncesi istatistiksel anlamlı fark yok iken, işlem sonrası amikasin grubunda düşük olduğu izlendi. Amikasin grubunda BİUP eşik ortalamalarının işlem sonrasında işlem öncesine göre yükseldiği görüldü. Kontrol grubu ile amikasin grubu karşılaştırıldığında BİUP ortalamaları açısından işlem öncesinde istatistiksel anlamlı fark yok iken işlem sonrasında fark olduğu ve eşik değerlerin amikasin grubunda daha yüksek olduğu görüldü. Bu bulgulara göre çalışmamızda 200 mg/kg/gün i.m. 14 gün amikasin uygulamasıyla hiç rat kaybı olmazken istatistiksel olarak ototoksisite oluştuğu gösterilmiştir.

Etkili bir antibakteriyel ajan olarak aminoglikozidlerin keşfi ve yaygınlaşmasının aksine cisplatinin keşfi kazara olmuştur. 1845 yılında Peyrone tarafından sentezlenmiştir

ve “Peyrone tuzu” veya “Peyrone kloridi” olarak bilinir. Bu keşiften yaklaşık 70 yıl sonra Barnett Rosenberg, elektrik alanlarının bakteriyel büyüme üzerine etkilerini çalışırken platinyum bileşiklerinin hücre bölünmesini inhibe ettiğini bulmuştur (Rosenberg 1965). Daha sonra ise cisplatinin ileri evre ve diğer ilaçlara dirençli tümörlerde başarılı bir antitümör ajan olduğunu rat ve farelerde göstermiştir (Rosenberg 1969). Bununla birlikte kemoterapötik olarak kullanımı başlamış ve yıllar içinde de çok yaygın kullanılan bir ajan haline gelmiştir. Bugün cisplatin baş-boyun, akciğer, mesane, serviks, over, testis, gastrointestinal kanserlerde, malign gliomlarda ve melanom, mezotelyoma, prostat ve meme kanseri metastazlarında tek başına ve kombinasyon tedavisinde kullanılmaktadır (Boulikas 2004). Cisplatin, platin bazlı antineoplastik ajanlar içinde en ototoksik olandır ancak antitümöral etkinliği de karboplatin ve oxaliplatine göre 45 kat daha güçlüdür (Schacht 2012).

Cisplatinin önemli yan etkileri bulantı, kusma, nefrotoksisite, nörotoksisite ve ototoksisitedir. Cisplatin tedavisine bağlı genellikle bilateral, kalıcı, yüksek frekanslardan başlayıp tedavinin devamı ile birlikte düşük frekansları da etkileyen, tinnitusun da eşlik ettiği bir işitme kaybı oluşmaktadır. McKeage (1995)’ e göre cisplatin tedavisi alan hastaların % 75-100’ ünde işitme eşik seviyelerinde yükselme izlenmektedir.

Ototoksik yan etkiler tedavi dozu ve süresi ile yakından ilgilidir ve belirlenebilir bazı risk faktörlerinden etkilenmektedir. Diyet ve beslenme durumu hem cisplatin hem aminoglikozidler için ototoksisiteyi etkileyen bir risk faktörü olabilir (Garetz 1994). Ayrıca hipotalbüminemisi ve anemisi olan, cisplatin kullanan hastalarda daha ciddi işitme kaybı geliştiğini destekleyen çalışmalar da vardır (Blakley 1997). Cisplatine bağlı işitme kaybı için diğer risk faktörleri ise; böbrek yetmezliği, daha önceden mevcut olan işitme kaybı, gürültüye maruziyet, kraniyal radyasyon ve vincristin gibi diğer ototoksik ilaçlarla tedavidir (Bokemeyer 1998, Li 2004, Knight 2005, Chen 2006). Genç yaş da cisplatin ilişkili ototoksisiteyi artıran bir risk faktörü olarak görülmektedir. Bu, çocuklarda ve genç erişkinlerde organ fonksiyonlarındaki ve metabolizmadaki değişikliklere bağlanmaktadır (Laurell 1990, Li 2004). Cisplatine bağlı ototoksisitede verilen cisplatinin kümülatif dozu önemlidir. Ratlarda yapılan ototoksisite çalışmalarında tek doz şeklinde de iki veya üç doz şeklinde de uygulamalar yapılmıştır. Paksoy ve arkadaşlarının yaptıkları bir cisplatin ototoksisitesi çalışmasında Wistar Albino cinsi ratlara tek doz 20 mg/kg cisplatin intraperitoneal uygulanmış ve işitme eşiklerinde anlamlı artış izlenmiştir (Paksoy 2011).

Demir (2015)' e göre Wistar Albino cinsi ratlara 12 mg/kg cisplatin intraperitoneal tek doz uygulanmış ve işitme eşiklerinde anlamlı artış izlenmiştir. Bizim çalışmamızda minimum ilaç dozuyla ototoksik etki oluşturmak ve deney hayvanı kaybını düşürmek için 10 mg/kg tek doz cisplatin intraperitoneal uygulandı. Deney hayvanı kaybı olmadı. Sadece cisplatin verilen grubun (Grup IA) işlem öncesi ve sonrası SNR ortalamaları karşılaştırıldığında işlem sonrası tüm frekanslarda istatistiksel anlamlı derecede düşüş olduğu izlendi. İşlem sonrası kontrol grubunun (ilaçsız takip edilen grup) SNR ortalamaları sadece cisplatin verilen grupla karşılaştırıldığında 4, 6 ve 8 kHz' de cisplatin grubunda istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü. İşlem öncesi BİUP eşik ortalamaları açısından cisplatin verilen her üç grup (IA-IB-IC) ve kontrol grubu arasında fark yok iken, işlem sonrası sadece cisplatin alan grupta kontrol grubuna göre BİUP eşikleri istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Hem DPOAE hem BİUP sonuçlarımıza göre çalışmamızda cisplatin ile ototoksisite oluşturulmuştur. DPOAE bulgularımıza göre bu ototoksisitenin 4, 6 ve 8 kHz' de olduğu görülürken bu sonuç yüksek frekansları daha çok etkileyen cisplatin ototoksisitesi ile uyumlu görünmektedir.

Hem cisplatin hem de aminoglikozid ototoksisitesinde Corti organındaki patolojik değişiklikler benzerlik göstermektedir. Hasara en duyarlı olan yapı dış tüylü hücrelerdir ve hasar kokleanın bazalinden apekse doğru ilerler (Hawkins 1976, Schuknecht 1993). Bu da öncelikle yüksek frekansların etkilendiği ve maruziyetin devam etmesiyle alçak frekansların da etkilendiği bir işitme kaybına neden olur. Hücre ölümü ilk sıra dış tüylü hücrelerden başlar ve daha sonra ikinci ve üçüncü sıra etkilenir. İç tüylü hücreler hasara karşı çok dirençlidir ve genellikle dış tüylü hücrelerin tamamı hasara uğradıktan sonra iç tüylü hücrelerde hasar başlar.

Çalışmamızda cisplatin verilen grupta korti organındaki dejeneratif değişikliklerin skorlanmasında yalnızca cisplatin verilen grupta "*kuvvetli dejenerasyon*" izlenirken, cisplatin+memantin ve cisplatin+izotretinoin verilen gruplarda "*orta dejenerasyon*" izlenmiştir. Bu bulgularla hem memantin hem de izotretinoinin cisplatinin toksik etkilerine karşı dış tüylü, iç tüylü ve destek hücrelerinde hücre bütünlüğünün korunması yönünde etkilerinin olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda amikasin verilen grupta korti organındaki dejeneratif değişikliklerin skorlanmasında ise yalnızca amikasin verilen grupta "*kuvvetli dejenerasyon*",

amikasin+memantin verilen grupta “*orta dejenerasyon*”, amikasin+izotretinoin verilen grupta “*zayıf dejenerasyon*” izlenmiştir. Sonuç olarak hem memantin hem de izotretinoinin amikasinin toksik etkilerine karşı dış tüylü, iç tüylü ve destek hücrelerinde hücre bütünlüğünün korunması yönünde etkilerinin olduğu görülmektedir. Ayrıca izotretinoinin memantine göre daha fazla koruyucu etkisi olabileceği görülmektedir.

İlaçların hedefleri sadece tüylü hücreler değildir. Aminoglikozidlerin stria vasküleriste doku incilmesi yaptığı (Ruedi 1952) ve marginal hücre sayısında azalma yaptığı öne sürülmüştür (Hawkins 1973). Aminoglikozid tedavisi sonrası spiral ganglion hücrelerindeki dejenerasyon bazı yazarlar tarafından ganglionun inerve ettiği tüylü hücrelerin kaybına bağlanmıştır (Hawkins 1976, Johnsson 1981). Ancak hasarın paterni ve karmaşıklığından dolayı bazı çalışmalarda ise tüylü hücre hasarı olmadan da spiral ganglionun etkilenebileceği öne sürülmüştür (Hinojosa 1987, Sone 1998). Cisplatin tedavisi sonrası da hasar tüylü hücrelerden başlar. Stria vaskülaris ve spiral ganglionun da etkilendiği gösterilmiştir (Ravi 1995, Klis 2000, Tsukasaki 2000).

Çalışmamızda cisplatin verilen grupta yapılan skorlamada; spiral ganglionda ödem, stria vasküleriste epitelyal dejenerasyon ve stria vasküleriste ödem sadece cisplatin alan grupta “*orta*” düzeyde izlenirken, cisplatinle birlikte memantin veya izotretinoin alan gruplarda “*zayıf*” düzeyde izlenmiştir. Bu bulgular hem memantin hem de izotretinoinin stria vaskülaris ve spiral ganglionda cisplatinin toksik etkilerine karşı koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda amikasin verilen grupta yapılan skorlamada; spiral ganglionda ödem, stria vasküleriste epitelyal dejenerasyon ve stria vasküleriste ödem sadece amikasin alan grupta “*orta*” düzeyde izlenirken, amikasinle birlikte memantin veya izotretinoin alan gruplarda “*zayıf*” düzeyde izlenmiştir. Bu bulgular hem memantin hem de izotretinoinin stria vaskülaris ve spiral ganglionda amikasinin toksik etkilerine karşı koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir.

Cisplatin, glutatyon ve diğer sülfidril içeren molekülleri bağlayarak hücresel detoksifikasyon mekanizmalarında bozulmaya neden olur. Aminoglikozidler de benzer şekilde hücresel bileşenler ve metabolitlerle bir etkileşim içindedir. Örneğin aminoglikozidlerin önemli bir etkisi de kalsiyum ile kompetitif antagonizmaya girerek nöromüsküler blok yapmasıdır (Vital-Brazil 1957). Ototoksitenin patolojisiyle ilgili

birçok görüş tanımlansa da cisplatin ve aminoglikozidlerin ototoksik yan etkilerinin altında yatan ana sebebin reaktif oksijen radikalleri olduğu düşünülmektedir. Normal şartlarda tüm hücre tiplerinde reaktif oksijen radikalleri metabolik yan ürün olarak veya sinyalizasyon amacıyla bulunur. Bunların hücre üzerindeki oksidatif zararları intrinsik koruyucu mekanizmalarla (glutasyon gibi antioksidan moleküllerle veya katalaz, süperoksit dismutaz, peroksidaz gibi enzimlerle) engellenir. Koklear doku kültürlerinde cisplatinin reaktif oksijen ürünleri oluşturduğu gösterilmiştir (Clerici 1996, Kopke 1997). Cisplatin tedavisi sonrası kokleada *4-hidroksinonenal* ve *melondialdehit*' in tespiti lipid peroksidasyonu için önemli birer indikatör olarak kabul görmüştür (Lee 2004, Rybak 2000). Cisplatinin reaktif oksijen üretimine NADPH oksidaz enziminin bir izoformu olan NOX-3 ile neden olduğu ve cisplatin uygulaması sonrası rat kokleasında NOX-3 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Lokal siRNA uygulamasının NOX-3 yükselişini, tüylü hücre ölümünü ve işitme kaybını önlediğini öne süren çalışmalar vardır (Mukherjea 2006, Mukherjea 2010). Yapılan bir çalışmada allopürinolün cisplatine karşı az da olsa koruyucu etki göstermesi reaktif oksijen radikallerinin üretiminde ksantin oksidaz enziminin de sorumlu olabileceğini düşündürmüştür (Lynch 2005). Ravi (1995) ve Rybak (2000)' e göre reaktif oksijen radikallerinin artmasıyla koklear dokularda glutasyon, katalaz, süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz gibi antioksidanların seviyeleri düşmektedir.

Yapılan hücre kültürlerinde aminoglikozidlerin de reaktif oksijen radikallerini ve bunların ürünlerini artırdığı gösterilmiştir (Lautermann 1995, Clerici 1996, Hirose 1997). Priuska (1995)' ya göre gentamisin bir demir bağlayıcı olarak görev yapabilir ve redoks-aktif kompleksi oluşturarak moleküler oksijenin süperoksit radikallerine dönüşümüne neden olabilir. Ayrıca mitokondriyal disfonksiyonun da reaktif oksijen radikallerinin oluşumunda ve ototoksisitede etkili olabileceği iddia edilmektedir (Schacht 2012).

Aminoglikozidlere bağlı koklear hücre ölümünde hem nekroz hem de apoptozis izlenmiş, cisplatine bağlı hücre ölümünde ise sadece apoptozis izlenmiştir (Nakagawa 1998, Alam 2000, Watanabe 2003). Caspase aktivasyonunun cisplatin toksisitesinde önemli rol oynadığı öngörülmektedir. Liu (1998) ve Wang (2004)' in yaptıkları çalışmalar intrinsik apoptotik yolağın cisplatin tedavisi sonrası aktive olduğunu, caspase-3 ve caspase-9 inhibitörlerinin cisplatin maruziyeti sonrası hücre ölümünden etkili koruyucu etkisi olduğunu öne sürmektedir. Caspase inhibitörleri aminoglikozidlerde de denenmiş,

cisplatinde olduğu kadar etkili olmasa da hücre ölümüne karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Momiya 2006, Tabuchi 2007).

Genellikle ototoksik yan etkileri azaltmaya yönelik çalışmalar iki yaklaşımla yapılmaktadır; koruyucu yolakların aktivasyonu veya hücre ölümünün inhibisyonu. *Amifostine* bir hayvan çalışmasında cisplatine karşı koruyucu ajan olarak denenmiş ancak anlamlı bir faydası gösterilememiştir (Church 2004). Cisplatin ve amifostine kombinasyonu ile tedavi edilen germ hücreli tümörü olan çocuklarda anlamlı bir koruyucu etki gösterilememiştir (Marina 2005, Sastry 2005). *Cimetidine*' in cisplatin sonrası işitme eşik düzeylerini tamamen korurken, cisplatinin antitümöral etkinliğinde de bir değişiklik yapmadığı iddia edilmiştir (Ciarimboli 2010). Aminoglikozid ototoksitesinde antioksidan tedavinin daha pratik bir seçim olabileceği düşünölmekte, bu amaçla besin takviyeleri verilmesi tavsiye edilmektedir (Rybak 2005). Yapılan hayvan deneylerinde aminoglikozid ototoksitesine karşı birçok antioksidan tedavi ümit vadetmektedir ve antimikrobiyal etkinliğini de etkilememektedir. E vitamininin antioksidan olarak kullanıldığı ve faydasının gösterildiğı birçok çalışma olsa da yapılan klinik bir çalışmada etkisiz olduğu da gösterilmiştir (Kharkheli 2007). Şu ana kadar klinik olarak başarısı kanıtlanan iki tane ilaç vardır; *asetil salisilik asit* ve *N-asetilsistein*. Salisilatın koruyucu bir ajan olduğu hayvanlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiş (Sha 1999), akut enfeksiyonlar nedeniyle gentamisin kullanan hastalarda randomize, çift kör kontrollü bir çalışmada da test edilmiştir (Sha 2006). Bu çalışmada plasebo grubunda %13 oranında işitme kaybı gelişirken, asetil salisilik asit verilen grupta %3 oranında işitme kaybı gelişmiştir. Asetil salisilik asitin işitme kaybı riskini %75 azalttığı ifade edilmiştir.

Bakteriyemi nedeniyle gentamisin kullanan hemodializ hastalarında yapılan bir çalışmada N-asetilsisteinin işitme kaybı insidansını düşürdüğü bulunmuştur (Feldman 2007). *N-asetilsistein*, gastrointestinal problemler ve kanama riski olan hastalarda aspirine iyi bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Sodyum tiyosülfatın perilenfatik perfüzyonu ile yapılan bir çalışmada cisplatin ototoksitesine karşı başarılı sonuçlar gösterilse de uygulama zorluğu nedeniyle klinik kullanımı mümkün olmamıştır (Wang 2003).

D- ve L-metiyonin sülfür bağlayan antioksidanlar olduğu için platinyum şelatörü olarak kullanılabilirler. D-metiyoninin cisplatin ile tedavi edilmiş ratlarda kokleadaki

antioksidan enzimlerin seviyesindeki düşüşe karşı ve malondialdehid seviyesindeki artışa karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Campbell 2003).

Serbest radikal kovucu olarak görev yapan, cisplatine bağlı koklear hasara ve işitme kaybına karşı koruyucu etkinliği olan diğer ajanlar; alfa tokoferol, aminoguanidin, sodyum salisilat ve ebselen' dir (Lynch 2005, Rybak 2005). Kokleadaki antioksidan defans mekanizması adenzin reseptörleri aracılığıyla olabilir. Yapılan bir çalışmada adenzin A1 reseptör agonistlerinin cisplatinin yol açtığı işitme eşiklerindeki yükselişi önlediği BİUP sonuçları ile doğrulanmıştır. Ayrıca kokleadaki malondialdehit seviyesini azalttığı da gösterilmiştir (Ford 1997). Bir başka çalışmada ise adenzin A2 reseptör agonistlerinin cisplatin ototoksisitesini artırdığı gösterilmiştir (Whitworth 2004). Sodyum bütirat antikanser etkinliği de olan bir histon deasetilaz inhibitörüdür. Nöroprotektif etkisi olduğu düşünülmektedir. Drottar (2006)' a göre Gine domuzlarına cisplatin tedavisinden önce 7 gün boyunca ve sonra 5 gün boyunca verilen sodyum bütiratın, cisplatin ototoksisitesinden koruyucu etkinliği vardır.

Cisplatin ve aminoglikozid ototoksisitesi ile ilgili yapılan birçok çalışmada, reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumu ve bunların kokleadaki seviyelerinin yükselmesiyle nekroz ve apoptoz sürecinin başladığı üzerinde durulmuştur. Bu nedenle yapılan pek çok çalışmada çeşitli antioksidanlar cisplatin ve aminoglikozid ototoksisitesine karşı koruyucu etkinlik açısından değerlendirilmiştir. Karotenoidlerin antioksidan etkinliği olduğu ve bu amaçla bazı klinik durumlarda kullanıldığı bilinmektedir. Literatürde ise A vitamini ve karotenoidlerin ototoksisitede kullanımı ile ilgili çok az ve sınırlı çalışma mevcuttur. Çalışmamızda sentetik bir A vitamini derivativesi olan izotretinoinin ototoksisiteye karşı koruyucu etkinliğine bakılmıştır.

Cisplatin verilen grupla cisplatin+izotretinoin verilen grup SNR ortalamaları açısından karşılaştırıldığında 6 ve 8 kHz' de cisplatin+izotretinoin grubunda SNR ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu diğer frekanslarda istatistiksel anlamlı fark olmadığı görüldü. BİUP eşik ortalamaları açısından her iki grup arasında işlem öncesinde istatistiksel anlamlı fark yokken, işlem sonrasında sadece cisplatin alan grupta BİUP eşik ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi. BİUP ve DPOAE bulgularımıza göre cisplatin ototoksisitesine karşı izotretinoinin koruyucu etkisi vardır.

Amikasin verilen grupla amikasin+izotretinoin verilen grup SNR ortalamaları açısından karşılaştırıldığında işlem öncesinde 1 kHz, 2,8 kHz ve 8 kHz frekanslarda her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Diğer frekanslarda amikasin+izotretinoin grubunda daha yüksek olduğu için bu frekanslar (1,4 kHz-2kHz-4kHz-6kHz) değerlendirmeye alınmadı . İşlem sonrasında da 1 kHz, 2,8 kHz ve 8 kHz' de SNR ortalamaları bakımından her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmemiştir. DPOAE bulgularımıza göre izotretinoinin amikasin ototoksitesine karşı koruyucu etkisi gösterilememiştir. İşlem öncesinde BİUP eşik ortalamaları arasında fark yok iken işlem sonrasında da fark olmadığı görülmüştür. DPOAE bulgularımıza göre izotretinoinin amikasin ototoksitesine karşı koruyucu etkisi yoktur ancak bu, işlem öncesi her iki grupta SNR ortalamaları açısından homojen bir dağılım olmaması ile açıklanabilir. Fakat BİUP bulgularımıza göre de izotretinoinin amikasin ototoksitesine karşı koruyucu etkisi olmadığı görülmüştür.

Glutamat sinir sisteminin major nörotransmitterlerinden biridir ve nöronal ve glial iyonotropik ve metabotropik reseptörlerle etkisini göstermektedir. Öğrenme, hafıza ve plastisite gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda çok önemli rol oynar (Conn 2003). Eksitotoksik glutamat salınımı, aşırı glutamaterjik transmisyona ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonuna neden olmaktadır ve bu da santral sinir sisteminin çeşitli nörolojik hastalıklarında nöronal hasar ve hücre ölümünden sorumlu tutulmaktadır (Aarts 2003, Kwak 2006). Carozzi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada cisplatin, paclitaxel ve bortezomib ile oluşturulan üç farklı tip kemoterapi hayvan modelinde glutamat karboksipeptidaz inhibisyonu ile glutamat seviyelerinin düşürülmesi sonucu kemoterapiye bağlı periferik nöropatinin önlenebileceğini iddia etmişlerdir (Carozzi 2010). Yapılan bir hayvan çalışmasında cisplatine bağlı kusmanın NMDA reseptör antagonistleri (dekstrometorfan, memantin) ile önlenebileceği gösterilmiştir (Lehmann 1996). Bu bilgiler cisplatinin temel antitümöral etkinliğinde olmasa bile nöropati, bulantı ve kusma etkilerinde NMDA reseptörlerinin rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Bu durum bize cisplatin ototoksitesinde de NMDA reseptörleri yoluyla eksitotoksik hücre hasarı oluşabileceğini düşündürmektedir. Cisplatin ototoksitesinde ise henüz NMDA reseptör blokörlerinin etkinliği ile ilgili yapılmış bir çalışma yoktur. Cisplatin ve aminoglikozidlerin ototoksik yan etkileri genellikle reaktif oksijen metabolitlerinin kokleadaki artışına bağlansa da kesin kabul edilmiş bir hipotez henüz yoktur. Bundan hareketle çalışmamızda

bir NMDA reseptör blokörü olan memantin ototoksisiteye karşı koruyucu etkinliği araştırılmıştır.

Çalışmamızda cisplatin+memantin verilen grubun (Grup IB) işlem sonrası SNR ortalamaları sadece cisplatin verilen gruba (Grup IA) karşılaştırıldığında 4, 6 ve 8 kHz' de SNR ortalamalarının cisplatin+memantin verilen grupta istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi. Çalışmamızda sadece cisplatin verilen grupta ototoksisite sadece 4, 6 ve 8 kHz frekanslarında olduğu için memantin cisplatinin etkilediği frekansların hepsinde koruyucu etki yaptığı görülmektedir. Çalışmamızda BİUP eşik ortalamaları açısından işlem öncesi hiçbir grup arasında fark yok iken işlem sonrası cisplatin+memantin verilen grubun BİUP eşiklerinin cisplatin verilen gruba göre daha düşük olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. DPOAE ve BİUP sonuçlarımıza göre memantin cisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Aminoglikozidlerin NMDA reseptörlerinin poliamin bağlayan bölümünde agonist gibi etkinlik gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle aminoglikozid antibiyotiklerin koklear ve vestibüler tüylü hücre hasarı eksitotoksik süreçlere bağlanabilir. Bu hipotez tüylü hücreler, spiral ganglion ve vestibüler ganglion nöronları arasındaki sinapslarda NMDA bağımlı glutamaterjik nörotransmisyonun immünohistokimyasal ve elektrofizyolojik olarak gösterilmesiyle desteklenmiştir. Ardından NMDA reseptör antagonistlerinin aminoglikozidlere bağlı işitme kaybını azalttığı gösterilmiş ve bu insanlarda yapılan klinik çalışmalarla da doğrulanmıştır. NMDA reseptörlerinin eksitotoksik hasarla işitme kaybı yapması hipotezinden hareketle, streptomisin vestibüler tüylü hücreleri de aynı mekanizma ile etkilediği ve dizosilpin ile bu hasarın önlenebileceği ileri sürülmüştür (Basile 1999). Pavlidis (2013)' e göre amikasin bağımlı ototoksisite oluşturulan tavşanlarda koruyucu olarak memantin verilmesi DPOAE sonuçlarına göre işitmeyi korumaktadır.

Çalışmamızda amikasin+memantin verilen grubun işlem sonrası (Grup IIB) SNR ortalamaları 1,4 kHz frekansı hariç diğer tüm frekanslarda sadece amikasin verilen gruba (Grup IIA) göre istatistiksel anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Ancak 2 ve 4 kHz' de işlem öncesinde de SNR ortalamaları Grup IIB' de daha yüksek bulunduğu için bu frekanslar çalışma dışı bırakılmıştır. Sonuç olarak 1 kHz, 2,8 kHz, 6 ve 8 kHz' de amikasin ototoksisitesine karşı memantin koruyucu etkileri olduğu görülmüştür. BİUP eşik ortalamaları açısından işlem öncesinde her iki grup arasında fark yok iken işlem sonrasında

amikasin grubunun eşik değerleri amikasin+memantin grubuna göre yüksek bulunmuştur ve bu istatistiksel olarak anlamlıdır. BİUP ve DPOAE sonuçlarımıza göre memantin amikasin ototoksitesine karşı da koruyucu etkisi olduğu ve bu etkinin hem alçak frekanslarda hem de yüksek frekanslarda olabileceği görülmektedir.

Daha önce yapılan birçok çalışmada aminoglikozidlerin poliamin benzeri etki göstererek glutamat üzerinden ototoksiteye neden olabileceğinden bahsedilmektedir. Çalışmamızda hem cisplatin hem amikasin ototoksitesine karşı bir NMDA reseptör blokörü olan memantin koruyucu etkisi olduğu görülmektedir. Bu nedenle kokleada nörotransmisyonunda aktif bir rolü olan glutamatın bütün ototoksik süreçlerde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Çevresel ve mesleki nedenlerle gürültüye maruz kalma sonucu iç kulağın nöral yapılarının ve kokleanın hasar görmesiyle sensörinöral işitme kaybı gelişmesine “gürültüye bağlı işitme kaybı” denir. 85 dB ve üzeri sese uzun süreli maruziyet sonucu oluşan işitme kaybına “*kronik gürültüye bağlı işitme kaybı*” denirken, kısa süreli ve 100-150 dB sese maruziyetle oluşan işitme kaybına “*akut akustik travma*” denir (Choi 2011, Choi 2013, Choi 2014). Gürültüye maruziyetten hemen sonra işitme eşikleri en yüksek seviyede iken takip eden üç hafta içinde eşiklerde yavaş yavaş düşüş olur. Gürültüye maruz kalma şekline bağlı olarak işitme eşiklerinde tam düzelme de olabilir (Kujawa 2009, Choi 2011). 115 dB ve altındaki bir maruziyette metabolik hasarlar başlarken, 115-125 dB maruziyette mekanik hasarlar da başlar.

Gürültüye bağlı geçici işitme kaybında tüylü hücre ölümü görülmez, maruziyetten sonra 24 saat içinde koklear sinir terminal uçlarında şişme izlenir (Spoendlin 1971, Liberman 1982, Robertson 1983). Kujawa (2009)’ ya göre aferent terminal uçlardaki bu şişme iç ve dış tüylü hücrelerde oluşan bir çeşit “*glutamat eksitotoksitesi*” ni temsil etmektedir. Glutamat agonistleri ile gürültü olmadan işitme kaybı olduğu, glutamat antagonistleri ile de gürültüye bağlı işitme kaybından korunulabileceği, yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Pujol 1993, Sun 2001, Puel 2002, Ruel 2007). Ototoksitede genel olarak üzerinde durulan görüş reaktif oksijen radikallerinin süreci başlatması ve koklear veya nöronal hasara yol açmasıdır. Yapılan çalışmaların çoğu da antioksidanlarla bu hasarın önüne geçmeye çalışmaktadır. Akustik travmada da daha çok bu patofizyoloji üzerinde durulmaktadır. Koklea yüksek metabolik aktivitesi olan, çok iyi kanlanan

sensöriyel bir organdır. Gürültüye maruziyet koklear kan akımını düşürerek iskemi-reperfüzyon hasarı ve serbest radikal oluşumu ile hücre ölümüne neden olabilir (Henderson 2006, Kopke 2006, Choi 2011). Bu süreç tıpkı beynin inmeye verdiği cevaba benzer. Olası bir mekanizma; gürültüyle oluşan oksidatif stres kokleada, özellikle stria vasküleriste iskemi-reperfüzyon hasarına ve bu da iç ve dış tüylü hücrelerin aferent sinapslarında glutamat aşırı salınımına neden olabilir. Mitokondriyal hasar da reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin tüylü hücrelerde aşırı birikimine, glutasyon seviyesinin düşmesine, intraselüler kalsiyum artışına bağlanabilir (Choi 2015).

Literatürde akustik travma hayvan modellerinde gürültünün verilme süresi, şiddeti ve frekansıyla ilgili farklılıklar mevcuttur. Zheng (2015)' e göre 1 saat boyunca 16 kHz 115 dB yeterli iken, Yang (2015)' e göre 4 saat boyunca 120 dB SPL gürültü vermek gereklidir. Çalışmamızda akustik travmanın oluşturulmasında Sayın (2006)' a göre 12 kHz, 110 dB, 24 saat darbant gürültü verilmiştir. Sadece akustik travma verilen grubun (Grup IIIA) akustik travma öncesi ve sonrası SNR ortalamaları karşılaştırıldığında 2,8 kHz, 4 kHz, 6 ve 8 kHz' de akustik travma sonrası düşüş gösterdiği diğer frekanslarda istatistiksel anlamlı fark olmadığı izlenmiştir. Kontrol grubu ile akustik travma verilen grup karşılaştırıldığında her iki grup arasında SNR ortalamaları açısından işlem öncesi fark yok iken, işlem sonrası 2,8 kHz, 6 ve 8 kHz' de akustik travma verilen grupta daha düşük olduğu izlenmiştir. Akustik travma verilen grupta, akustik travma öncesi ve sonrası BİUP eşik ortalamaları karşılaştırıldığında, akustik travma sonrası yükseldiği ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Kontrol grubu ile akustik travma grubunun işlem sonrası BİUP eşik ortalamaları arasında ise istatistiksel anlamlı fark izlenmedi. Klik uyararla yapılan BİUP testi alçak frekansları gösterdiği için DPOAE sonuçları yüksek frekanslar için daha doğru sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda yüksek frekans (12 kHz) gürültü kullandığımız için işitme kaybı alçak frekansları hiç etkilememiş olabilir. Akustik travma daha çok yüksek frekansları etkileyen bir ototoksisitedir. Bu nedenlerle çalışmamızda akustik travma ototoksisitesinin değerlendirilmesinde DPOAE bulguları daha güvenilir olabilir. Sonuç olarak her ne kadar çalışmamızda akustik travmaya bağlı işitme kaybı, BİUP bulgularımıza göre çelişkili gibi görünse de; DPOAE bulgularımıza göre çalışmamızda yüksek frekanslarda akustik travmaya bağlı işitme kaybı oluşmuştur.

Glutamat eksitotoksisitesi hipotezinden hareketle çalışmamızda oluşturduğumuz akustik travma hayvan modelinde koruyucu olarak verilen memantin tedavisi ile işitme

kaybını engellemeyi amaçladık. Akustik travma verilen grupla akustik travma+memantin verilen grup karşılaştırıldığında SNR ortalamaları arasında işlem öncesi fark yok iken işlem sonrasında 2,8 kHz, 6 ve 8 kHz’ de akustik travma verilen grupta daha düşük olduğu izlendi. BİUP bulgularına göre sadece akustik travma verilen grupta işitme kaybı oluşmadığı için akustik travma verilen tüm gruplarda BİUP değerlendirmeye alınmadı. DPOAE bulgularına göre memantin akustik travmaya bağlı işitme kaybına karşı 2,8 kHz, 6 ve 8 kHz’ de koruyucu etkisi olduğu görülmektedir.

Genellikle gürültüye bağlı işitme kaybından korunma ya oksidatif stresi azaltmaya yönelik veya antioksidan savunma sistemini güçlendirmeye yönelik tedavilerle sağlanmaya çalışılmıştır. N-asetilsisteinin gürültüye bağlı işitme kaybında etkili olduğu, oksidatif stresi azalttığı, mitokondriyal hasarı, caspase aktivasyonunu, lipid peroksidasyonunu, hücre ölümünü ve inflamasyonu önlediği bilinmektedir (Kopke 2006, Choi 2008, Choi 2011). Asetil L-karnitin, demans, Parkinson hastalığı, nöropatik ağrı ve alkole bağlı oksidatif beyin hasarında kullanılan bir antioksidandır (Kopke 2002, Kopke 2005, Kopke 2007, Coleman 2007). Asetil L-karnitinin temel fonksiyonu reaktif oksijen radikallerine bağlı oksidatif mitokondriyal hasara karşı koruyucu etkisidir. Gürültüye maruziyetten 1 ve 4 saat sonrasında N-asetil sistein ve asetil L-karnitin ile işitme eşiklerinde anlamlı düşüş izlenmiştir (Coleman 2007). Serbest nitrojen ürünlerinin koklear hasara olan etkisi nedeniyle nitron bağımlı antioksidanlar da akustik travma modellerinde denenmektedir (Choi 2015). Yapılan bir çalışmada akustik travmada salisilat ve trolox’ un kombine kullanımı BİUP eşiklerini, reaktif oksijen/nitrojen ürünlerini düşürmüş, tüylü hücre ölümünü azaltmıştır (Yamashita 2005). Trolox alfa-tokoferolün suda çözünen bir analogudur ve peroksinitrit bağımlı tirozin ve guanin nitrozilasyonunun inhibitörüdür. Dhitavat (2005)’ a göre folat, vitamin E ve asetil L-karnitin kombine olarak gürültüye bağlı işitme kaybına karşı koruyucu olarak kullanımı her bir ajanın tek tek kullanımından daha etkilidir. Le Prell (2007)’ e göre vitamin A, C, E ve magnezyumun koruyucu olarak kullanımı gürültüye bağlı nörodejeneratif hücre ölümüne karşı koruyucudur. Le Prell (2007)’ e göre vitamin A reaktif oksijen ürünlerini temizleyici, vitamin C ise serbest radikal detoksifiye edici olarak görev yapmaktadır. Vitamin E’ nin ise lipid peroksidasyonunu önleyici rolü vardır. Bu çalışmalar antioksidan ilaçların gürültüye maruziyette kombine olarak kullanımının sinerjistik etkisinin olduğunu da göstermektedir. Antioksidan kullanımının gürültüye maruziyette başarılı olması nedeniyle bir antioksidan

olan izotretinoinin akustik travma hayvan modelinde koruyucu etkisini araştırdık. Akustik travma verilen gruba akustik travma+izotretinoin verilen grubun işlem öncesi SNR ortalamaları arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu. İşlem sonrasında ise 2 kHz, 2,8 kHz, 6 ve 8 kHz' de akustik travma+izotretinoin verilen grupta daha yüksek olduğu görüldü. DPOAE bulgularımıza göre izotretinoinin akustik travmaya bağlı işitme kaybına karşı 2 kHz, 2,8 kHz, 6 ve 8 kHz' de koruyucu etkisi olmuştur.

Gürültüye bağlı işitme kaybının tedavisi ve korunma için kullanılan farmakolojik girişimlerin başarısı tedavinin zamanlaması ve süresi ile ilişkilidir. Gürültüye maruziyetten kısa süre önce verilen antioksidanlar işitme eşiklerinde kalıcı düşüş sağlamakta ve tüylü hücreleri %50-75 oranına korumaktadır (Kopke 2000). Gürültüye maruziyetten sonra kullanılan antioksidanların da kalıcı eşik kaymalarında düzelmeyi sağladığı gösterilmiştir (Du 2011, Du 2012, Lu 2014). Buna karşın maruziyet sonrası kullanılan antioksidan ilaçların faydalı etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (Kopke 2000). Önceliğimiz kullandığımız koruyucu ilaçların etkinliğini tespit etmek olduğu için çalışmamızda memantin ve izotretinoini bütün gruplarda hem ilaca ve akustik travmaya maruziyet öncesi hem de sonrasında aynı süreyle ve dozda kullandık. Bu nedenle bu ilaçların maruziyet öncesi ve sonrası kullanımları arasında etkinlik açasından fark olup olmadığını karşılaştıracak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan bazı çalışmalarda gürültüye maruziyet sonrası 12 saat sonra başlanan koruyucu ilacın koklear hasarı önleme konusunda faydalı olmayacağı, koruyucu ilaç başlamak için optimal zamanın maruziyetten 1 ve 4 saat sonrası olduğu öne sürülmüştür (Kopke 2002). Çalışmamızda maruziyet öncesi de koruyucu ilaç verildiği için bu konuya dikkat edilmemiştir. Ayrıca Choi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada maruziyetten 24 saat sonra başlanan koruyucu antioksidan uygulamasında işitme eşiklerinde ve tüylü hücre kaybında maksimum düşüş 9 günlük tedavi süresi ile elde edilmiştir. Yamashita (2004)' ya göre serbest radikal oluşumu maruziyet sonrası 7-10 güne kadar devam ettiği için çalışmamızda da koruyucu ilaçlar maruziyet sonrası 7 güne kadar uygulanmıştır. Bununla birlikte en uygun zamanlama her ilacın kendi farmakokinetiğiyle ilgilidir.

Gürültüye maruziyet sonrası Corti organının anatomik ve fizyolojik hasarı görüldü. Reissner ve baziler membranda ayrılma, stereosilya kaybı, organel hasarı, iç ve dış tüylü hücrelerin hasarı, stria vaskularis ve spiral ganglion hücrelerinde hasar, dış tüylü hücrelerin

lateral duvarında destrüksiyon gibi mekanik hasarlar görülebilir (Henderson 2006, Kopke 2006, Le Prell 2007). Yapılan bazı çalışmalarda gürültüye maruziyet sonrası tüylü hücre kaybı dakikalar ve saatler içinde izlenirken, spiral ganglion hücrelerinde kayıp maruziyetten haftalar, aylar sonra bile izlenmemiştir. Gürültüye bağlı nöral dejenerasyonun daha çok gürültünün direkt etkisi ile değil de tüylü hücre kaybına sekonder geliştiği ve buna “*sekonder nöral dejenerasyon*” denebileceği öne sürülmüştür (Spoendlin 1971). Buna karşın gürültünün koklear yapılarda ve tüylü hücrelerde herhangi bir hasar yapmadığı, spiral ganglion hücrelerinde ve koklear sinir terminal uçlarında “primer nöral dejenerasyon” yaptığı da iddia edilmiştir (Kujawa 2006, Kujawa 2009). Son yapılan çalışmalarda gürültünün Corti organında mekanik bir hasar yapmadan işitme kaybı oluşturabileceği, sadece stereosilya hasarı yaparak da işitme kaybı oluşturabileceği gösterilmiştir (Bohne 2007). Gine domuzlarında, kedilerde ve farelerde yapılan çalışmalarda koklear sinir uçlarının aferent sinaptik terminallerinde yaygın ve şiddetli şişme ile primer nöral dejenerasyon gösterilmiştir (Lieberman 1979, Liberman 1982, Wang 2002).

Çalışmamızda akustik travma uygulanan grupta iç ve dış tüylü hücrelerin hücresel bütünlüğünün bozulduğu gözlemlendi. İnce yapı düzeyindeki incelemede stereosilyalar gözlenmedi. Destek hücrelerinde şişme ve sitoplazma kaybı mevcuttu. Stria vasküleriste üç epitel hücresi de izlendi. Hücre içi vakuolizasyon mevcuttu. Koklear sinire ait aksonlarda myelin lamellerinde ayrılma, akson içi nöroflaman kaybı gözlemlendi. Schwann hücre sitoplazmasında vakuolizasyon mevcuttu.

Yapılan skorlamada; spiral ganglionda ödem, stria vasküleriste epitelyal dejenerasyon ve stria vasküleriste ödemin sadece akustik travma uygulanan grupta “*orta*” düzeyde iken, koruyucu olarak memantin veya izotretinoin verilen gruplarda “*zayıf*” düzeyde olduğu izlendi. Korti organındaki dejeneratif değişikliklerin ise akustik travma uygulanan grupta “*kuvvetli*”, akustik travma+memantin grubunda “*orta*”, akustik travma+izotretinoin grubunda “*zayıf*” düzeyde olduğu izlendi. Sonuç olarak korti organı, stria vaskülaris ve spiral ganglionda akustik travmaya karşı hem memantin hem de izotretinoinin hücre bütünlüğünü koruyucu yönde etkileri olduğu gösterilmiştir.

Santral sinir sisteminde Alzheimer, inme ve diğer birçok dejeneratif hastalıkta eksitotoksitenin rolü olduğu bilinmektedir. Bu bilgidan hareketle kokleada iskemi, reaktif

oksijen metabolitleri gibi nedenlerle olduğunu düşündüğümüz pek çok hasarı başlatan faktör glutamat aşırı salınımı ve eksitotoksisite olabilir. Özellikle akustik travmanın erken dönemlerinde kokleada glutamat aşırı salınımını destekleyen çalışmalar, aminoglikozidlerin eksitotoksisitesini gösteren çalışmalar bu hipotezimizi desteklemektedir. Antioksidanlarla reaktif oksijen ürünlerinin hücrel etkilerini önlemeye çalışmak, yapılan birçok çalışmada üzerinde durulan temel konudur. Bu radikallerin aferent sinapslarda glutamata artırması ve eksitotoksisite yoluyla koklear ve nöronal hasara yol açması da üzerinde durmamız gereken bir konudur. İskemi-reperfüzyon hasarı ve reaktif oksijen metabolitleri birçok klinik durumun altında yatan patofizyoloji olabileceği gibi glutamat eksitotoksisitesi de özellikle santral sinir sistemi ve koklea söz konusu olduğunda patofizyolojide etkili olabilir veya temel patofizyoloji olabilir. Örneğin; cisplatin ototoksisitesi reaktif oksijen radikalleriyle oluşsa da glutamat aşırı salınımı da bu sürece aracılık ediyor olabilir. Çalışmamızda memantin üç farklı tip ototoksisite modeli üzerinde koruyucu etkilerinin, izotretinoinin ise cisplatin ototoksisitesi ve akustik travmada koruyucu etkilerinin hem işitsel beyinsapı cevapları, otoakustik emisyonlar hem de transmisyon elektron mikroskopi ile hücrel düzeyde gösterilmesi bu iki farklı hipotezi de destekler niteliktedir.

Cisplatin ototoksisitesinin patofizyolojisini glutamat eksitotoksisitesi hipotezi ile açıklamaya yönelik literatürde yapılmış çalışma yoktur. Yapılan bir çalışmada cisplatin ototoksisitesinin bir NMDA reseptör blokörü olan riluzol ile önlenebileceği gösterilse de bu riluzolün antioksidan etkinliğine bağlanmıştır (Bezgin 2013).

Diğer taraftan ani işitme kayıpları, presbiakuzi gibi sensörinöral işitme kaybına neden olan pek çok hastalıkta patofizyoloji henüz net olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Ani işitme kaybı ile ilgili değişik teoriler olsa da çoğunluğu idiyopatik ani sensörinöral işitme kaybı olarak bilinir. Vasküler veya viral teoride olayı başlatan sebep farklı olsa da kokleada önemli bir aferent nörotransmitter olan glutamatın stres, iskemi veya başka nedenle yükselebileceğini ve glutamat eksitotoksisitesinin patofizyolojide etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Alzheimer Hastalığında santral sinir sistemindeki glutamat eksitotoksisitesinin demansa neden olabileceği gibi, presbiakuzide de yine glutamat eksitotoksisitesi koklea, retrokoklear bölge ve santral işitme yolları üzerinde etkili olabilir. Bu konuda yapılacak çalışmalar ototoksisite ve daha geniş çapta sensörinöral işitme kaybının patofizyolojisi ile ilgili bize yeni bilgiler sunabilir.

Ayrıca halen ototoksisiteninin önlenmesi konusunda antioksidan tedaviler güncelliğini ve popülerliğini korumaktadır. Bu konuda çok çeşitli antioksidanlar üzerinde çalışılmış olsa da çalışmamızda koruyucu etkisini gösterdiğimiz izotretinoin konusunda yapılmış sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. İzotretinoin veya diğer A vitamini türevlerinin ototoksisiteye karşı koruyucu etkisi ile ilgili daha geniş çaplı çalışmalar ve klinik deneyimler gereklidir.

Koruyucu olarak verilen memantin ve izotretinoinin cisplatinin kemoterapötik ve amikasinin antiinfeksiyöz etkisini nasıl etkilediği bilinmemektedir. Bu çalışmamızın en önemli kısıtlılığıdır. Bu konuda ve memantin ve izotretinoinin uygulama zamanı konusunda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ

Çalışmamızda “ Memantin ve izotretinoinin ototoksisiteye karşı koruyucu etkisi” otoakustik emisyon ölçümleri, beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri ve transmisyon elektron mikroskopik inceleme sonuçlarıyla incelenmiştir;

1. Cisplatin uygulanan grupta tüm frekanslarda DPOAE SNR değerlerinin cisplatin sonrası düşük olduğu, BİUP eşik değerlerinde ise cisplatin sonrası artış olduğu görüldü. Transmisyon elektron mikroskopik incelemede de koklear morfolojik değişiklikler, stria vaskularis ve spiral ganglionda belirgin dejenerasyon izlendi. Bu veriler çalışmamızda cisplatine bağlı ototoksisite oluştuğunu göstermektedir.
2. Cisplatin+memantin verilen grupta DPOAE SNR değerlerinin 4 kHz, 6 kHz ve 8 kHz’ de ilaç sonrası sadece cisplatin verilen gruba göre daha yüksek olduğu, ilaç sonrası BİUP ortalamalarının ise sadece cisplatin verilen gruba göre cisplatin+memantin verilen grupta istatistiksel olarak daha düşük olduğu izlendi. Korti organı, spiral ganglion ve stria vaskularisteki dejeneratif değişikliklerin cisplatin grubunda *orta-kuvvetli* düzeyde iken, cisplatin+memantin grubunda *zayıf-orta* düzeyde olduğu görüldü.
3. Cisplatin+izotretinoin verilen grupta DPOAE SNR değerlerinin 6 kHz ve 8 kHz’ de ilaç sonrası sadece cisplatin verilen gruba göre daha yüksek olduğu, diğer frekanslarda ise fark olmadığı görüldü. İlaç sonrası BİUP ortalamalarının ise sadece cisplatin verilen gruba göre cisplatin+izotretinoin verilen grupta istatistiksel olarak daha düşük olduğu izlendi. Korti organı, spiral ganglion ve stria vaskularisteki dejeneratif değişikliklerin cisplatin grubunda *orta-kuvvetli* düzeyde iken, cisplatin+izotretinoin grubunda *zayıf-orta* düzeyde olduğu görüldü.
4. Amikasin uygulanan grupta tüm frekanslarda DPOAE SNR değerlerinin amikasin sonrası düşük olduğu, BİUP eşik değerlerinde ise amikasin sonrası artış olduğu görüldü. Transmisyon elektron mikroskopik incelemede de stria vaskularis ve spiral ganglionda “*orta düzeyde dejenerasyon*”, korti organında ise “*kuvvetli dejenerasyon*” izlendi. Bu veriler çalışmamızda amikasine bağlı ototoksisite oluştuğunu göstermektedir.

5. Amikasin+memantin verilen grupla sadece amikasin verilen grup arasında DPOAE SNR değerlerinde 1,4 kHz' de fark olmadığı diğer frekanslarda ise ilaç sonrası amikasin+memantin grubunda daha yüksek olduğu, ilaç sonrası BİUP ortalamalarının ise sadece amikasin verilen gruba göre amikasin+memantin verilen grupta istatistiksel olarak daha düşük olduğu izlendi. Korti organı, spiral ganglion ve stria vaskülaristeki dejeneratif değişikliklerin amikasin grubunda “*orta-kuvvetli*” düzeyde iken, amikasin+memantin grubunda *zayıf-orta* düzeyde olduğu görüldü.
6. Amikasin+izotretinoin verilen grupla amikasin verilen grubun karşılaştırılmasında DPOAE SNR değerlerinde ilaç sonrası hiçbir frekansta fark yoktu. İlaç sonrası BİUP ortalamalarında da gruplar arasında fark yoktu. Korti organı, spiral ganglion ve stria vaskülaristeki dejeneratif değişikliklerin amikasin grubunda *orta-kuvvetli* düzeyde iken, amikasin+izotretinoin grubunda *zayıf-orta* düzeyde olduğu görüldü. İzotretinoinin koklear morfolojik bulgulara göre amikasin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisi olabileceği düşünülse de bu DPOAE ve BİUP bulguları ile doğrulanamamıştır.
7. Akustik travma uygulanan grupta tüm frekanslarda DPOAE SNR değerlerinin 2,8 kHz, 4, 6, 8 kHz' de akustik travma sonrası anlamlı derecede düşük olduğu izlendi. BİUP eşik değerlerinde ise akustik travma sonrası anlamlı artış olmadığı görüldü. Transmisyon elektron mikroskopik incelemede stria vaskülaris ve spiral ganglionda “*orta düzeyde dejenerasyon*”, korti organında ise “*kuvvetli dejenerasyon*” izlendi. Bu veriler çalışmamızda BİUP bulguları ile doğrulanamasa da akustik travmaya bağlı işitme kaybı oluştuğunu göstermektedir.
8. Akustik travma+memantin verilen grupla sadece akustik travma verilen grup arasında DPOAE SNR değerleri 2,8 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de akustik travma+memantin grubunda daha yüksekti. Korti organı, spiral ganglion ve stria vaskülaristeki dejeneratif değişikliklerin akustik travma grubunda “*orta-kuvvetli*” düzeyde iken, akustik travma+memantin grubunda *zayıf-orta* düzeyde olduğu görüldü.
9. Akustik travma+izotretinoin verilen grupla akustik travma verilen grubun karşılaştırılmasında DPOAE SNR değerlerinin 2 kHz, 2,8 kHz, 6 kHz ve 8 kHz' de

ilaç sonrası akutik travma+izotretinoin grubunda yüksek olduğu izlendi. Korti organı, spiral ganglion ve stria vasküleristeki dejeneratif değişikliklerin akustik travma grubunda “*orta-kuvvetli*” düzeyde iken, akustik travma+izotretinoin grubunda “*zayıf-orta*” düzeyde olduğu görüldü.

Sonuç olarak memantinin cisplatin, amikasin ve akustik travma ototoksitesinde koruyucu etkisinin olduğu, izotretinoinin ise cisplatin ve akustik travma ototoksitesinde koruyucu etkisinin olduğu işitsel beyinsapı cevapları, otoakustik emisyonlar ve hücre düzeyinde transmisyon elektron mikroskopi ile gösterilmiştir. Memantin bu etkisinin glutamat eksitotoksitesi hipotezinden hareketle NMDA reseptör antagonizması ile olabileceğini, izotretinoinin ise cisplatin ve akustik travma ototoksitesinde antioksidan mekanizma ile koruyucu etkisi olabileceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR

Aarts MM, Tymianski M. Novel treatment of excitotoxicity: targeted disruption of intracellular signalling from glutamate receptors. *Biochem Pharmacol.* 2003; 66:877–886.

Aksoy F1, Dogan R2, Ozturan O1, Eren SB1. Protective effect of trimetazidine on amikacin

Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi. 2002; 87-113.

Alam SA, Ikeda K, Oshima T, Suzuki M, Kawase T, Kikuchi T, Takasaka T. Cisplatin-induced apoptotic cell death in Mongolian gerbil cochlea. *Hear Res.* 2000; 141:28–38.

Ankarcrona M, Dypbukt JM, Bonfoco E, et al. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron* 1995; 15:961.

Aran JM. Current perspectives on inner ear toxicity. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 112:133.

Arrieta Ó, Hernández-Pedro N, Fernández-González-Aragón MC, et al. Retinoic acid reduces chemotherapy-induced neuropathy in an animal model and patients with lung cancer. *Neurology* 2011; 77:987.

Bailey BJ&Johnson JT. Baş & Boyun Cerrahisi-Otolarengoloji. Dördüncü Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011.

Basile AS¹, Huang JM, Xie C, Webster D, Berlin C, Skolnick P. N-methyl-D-aspartate antagonists limit aminoglycoside antibiotic-induced hearing loss. *Nat Med.* 1996 Dec;2(12):1338-43.

Basile AS, Brichta AM, Haris BD, Morse D, Coling D, Skolnick P. Dizocilpine attenuates streptomycin-induced vestibulotoxicity in rats. *Neuroscience Letters.* 1999; 265:71-74.

Bates DE, Beaumont SJ, Baylis BW. Ototoxicity induced by gentamicin and furosemide. *Ann Pharmacother.* 2002 36: 446.

Bayindir T¹, Filiz A, Iraz M, Kaya S. Evaluation of the protective effect of Beta glucan on amikacin ototoxicity using distortion product otoacoustic emission measurements in rats. *Clin Exp Otorhinolaryngol.* 2013 Mar;6(1):1-6.

Berkiten G¹, Salturk Z, Topaloğlu I, Uğraş H. Protective effect of pentoxifylline on amikacin-induced ototoxicity in rats. *Am J Otolaryngol.* 2012 Nov-Dec;33(6):689-92.

- Bess FH, Humes LE. *Audiology The Fundamentals*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008.
- Bezgin SÜ. Riluzol Tedavisinin Sisplatine Bağlı Olarak Gelişen Ototoksisiteden Korunmadaki Rolü. [Uzmanlık Tezi] . Ankara: Gazi Üniversitesi; 2013.
- Bitner-Glindzicz M, Pembrey M, Duncan A, et al. Prevalence of mitochondrial 1555A-->G mutation in European children. *N Engl J Med* 2009; 360:640.
- Black FO, Pesznecker S, Stallings V. Permanent gentamicin vestibulotoxicity. *Otol Neurotol* 2004; 25:559.
- Blakley BW. Clinical forum: a review of intratympanic therapy. *Am J Otol*. 1997; 18:520–526. discussion 527–531.
- Bohne BA, Harding GW, Lee SC. Death pathways in noise-damaged outer hair cells. *Hear Res* 2007;223:61-70.
- Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT, Kollmannsberger C, Schmoll HJ, Kuczyk MA. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br J Cancer*. 1998; 77:1355–1362.
- Boulikas T, Vougiouka M. Recent clinical trials using cisplatin, carboplatin and their combination chemotherapy drugs (review). *Oncol Rep*. 2004; 11:559–595.
- Brock PR, Knight KR, Freyer DR, Campbell KCM, Steyger PS, Blakely BW. Platinum- induced ototoxicity in children: a consensus review on mechanisms, predispositions, and protection, Including a new international society of pediatric oncology Boston ototoxicity scale. *Journal of Clinical Oncology* 2012; 30: 2408- 2417.
- Campbell KC, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. The effect of D-methionine on cochlear oxidative state with and without cisplatin administration: mechanisms of otoprotection. *J. Am. Acad. Audiol*. 2003; 14:144–156.
- Carozzi VA1, Chiorazzi A, Canta A, Lapidus RG. Glutamate carboxypeptidase inhibition reduces the severity of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity in rat. *Neurotox Res*. 2010 May;17(4):380-91.
- Chang KW, Chinosornvatana N. Practical grading system for evaluating cisplatin ototoxicity in children. *J Clin Oncol* 2010; 28:1788.

- Chen WC, Jackson A, Budnick AS, Pfister DG, Kraus DH, Hunt MA. Sensorineural hearing loss in combined modality treatment of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer*. 2006; 106:820–829.
- Chen Y, Huang WG, Zha DJ, et al. Aspirin attenuates gentamicin ototoxicity: from the laboratory to the clinic. *Hear Res* 2007; 226:178.
- Choi CH, Chen K, Du X, Floyd RA, Kopke RD. Effects of delayed and extended antioxidant treatment on acute acoustic trauma. *Free Radic Res* 2011;45:1162-72.
- Choi CH. Mechanisms of noise-induced hearing loss and treatment. *Audiology* 2011;7:124-32.
- Choi CH. Hearing threshold shift and speech intelligibility index of personal hearing protective devices. *Audiology* 2013;9:74-9.
- Choi CH, Du X, Floyd RA, Kopke RD. Therapeutic effects of orally administered antioxidant drugs on acute noise-induced hearing loss. *Free Radic Res* 2014;48:264-72.
- Choi SH1, Choi CH1. Noise Induced Neural Degeneration and Therapeutic Effect of Antioxidant Drugs. *J Audiol Otol*. 2015 Dec;19(3):111-9.
- Chomienne C, Fenaux P, Degos L. Retinoid differentiation therapy in promyelocytic leukemia. *FASEB J* 1996; 10:1025.
- Church MW, Blakley BW, Burgio DL, Gupta AK. WR-2721 (Amifostine) ameliorates cisplatin-induced hearing loss but causes neurotoxicity in hamsters: dose-dependent effects. *J Assoc Res Otolaryngol*. 2004; 5:227–237.
- Ciarimboli G, Duester D, Knief A, Sperling M, Holtkamp M, Edemir B. Organic cation transporter 2 mediates cisplatin-induced oto- and nephrotoxicity and is a target for protective interventions. *Am J Pathol*. 2010; 176:1169–1180.
- Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, Butterfield DA. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hear Res*. 1996; 98:116–124.
- Coleman JK, Kopke RD, Liu J, Ge X, Harper EA, Jones GE, et al. Pharmacological rescue of noise induced hearing loss using N-acetylcysteine and acetyl-L-carnitine. *Hear Res* 2007;226:104-13.
- Conn PJ. Physiological roles and therapeutic potential of metabotropic glutamate receptors. *Ann NY Acad Sci*. 2003; 1003:12–21.

- Cummings CW, Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA. Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery. 5th ed. Chapter 128. Philadelphia: Mosby; 2010.
- Demir MG¹, Altıntoprak N, Aydın S, Kösemihal E, Başak K. Effect of Transtympanic Injection of Melatonin on Cisplatin-Induced Ototoxicity. *J Int Adv Otol.* 2015 Dec;11(3):202-6.
- Dhitavat S, Ortiz D, Rogers E, Rivera E, Shea TB. Folate, vitamin E, and acetyl-L-carnitine provide synergistic protection against oxidative stress resulting from exposure of human neuroblastoma cells to amyloid-beta. *Brain Res* 2005;1061:114-7.
- 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. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314:1052.
- Doolittle ND, Muldoon LL, Brummett RE, et al. Delayed sodium thiosulfate as an otoprotectant against carboplatin-induced hearing loss in patients with malignant brain tumors. *Clin Cancer Res* 2001; 7:493.
- Drottar M, Liberman MC, Ratan RR, Roberson DW. The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate protects against cisplatin-induced hearing loss in guinea pigs. *Laryngoscope.* 2006; 116:292–296.
- Du X, Choi CH, Chen K, Cheng W, Floyd RA, Kopke RD. Reduced formation of oxidative stress biomarkers and migration of mononuclear phagocytes in the cochleae of chinchilla after antioxidant treatment in acute acoustic trauma. *Int J Otolaryngol* 2011;2011:612690.
- Du X, Chen K, Choi CH, Li W, Cheng W, Stewart C. Selective degeneration of synapses in the dorsal cochlear nucleus of chinchilla following acoustic trauma and effects of antioxidant treatment. *Hear Res* 2012;283:1-13.
- Duggal P, Sarkar M. Audiologic monitoring of multi-drug resistant tuberculosis patients on aminoglycoside treatment with long term follow-up. *BMC Ear Nose Throat Disord.* 2007; 7:5.
- Ernfors P¹, Duan ML, ElShamy WM, Canlon B. Protection of auditory neurons from aminoglycoside toxicity by neurotrophin-3. *Nat Med.* 1996 Apr;2(4):463-7.
- Evans BN. Fatal contractions: ultrastructural and electromechanical changes in outer hair cells following transmembranous electrical stimulation. *Hear Res.* 1990; 45: 265.

- Fausti SA, Henry JA, Schaffer HI, Olson DJ, Frey RH, McDonald WJ. High-frequency audiometric monitoring for early detection of aminoglycoside ototoxicity. *J Infect Dis.* 1992; 165:1026–1032.
- Fee WE Jr. Aminoglycoside ototoxicity in the human. *Laryngoscope.* 1980; 90:1–19.
- Feldman L, Efrati S, Eviatar E, et al. Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. *Kidney Int* 2007; 72:359.
- Fex J, Altschuler RA. Neurotransmitter-related immunocytochemistry of the organ of Corti. *Hear Res.* 1986; 22: 249.
- Ford MS, Nie Z, Whitworth C, Rybak LP, Ramkumar V. Up-regulation of adenosine receptors in the chinchilla cochlea by cisplatin. *Hear. Res.* 1997; 111:143–152.
- Frenz DA, Van de Water TR, Galinovic-Schwartz V. Transforming growth factor beta: does it direct otic capsule formation. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1991 Apr;100(4 Pt 1):301-7.
- Garetz SL, Altschuler RA, Schacht J. Attenuation of gentamicin ototoxicity by glutathione in the guinea pig in vivo. *Hear Res.* 1994; 77:81–87.
- Hatzopoulos S¹, Di Stefano M, Campbell KC, Falgione D, Ricci D, Rosignoli M. Cisplatin ototoxicity in the Sprague Dawley rat evaluated by distortion product otoacoustic emissions. *Audiology.* 2001 Sep-Oct;40(5):253-64.
- Hawkins E Jr. Ototoxic mechanisms. A working hypothesis. *Audiology.* 1973; 12:383–393.
- Hawkins, JE. Drug ototoxicity. In: Keidel, WD.; Neff, WD., editors. *Sensory Physiology.* Vol. 5. Berlin: Springer Verlag; 1976. p. 707-748.
- Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 2006;27:1-19.
- Hinojosa R, Lerner SA. Cochlear neural degeneration without hair cell loss in two patients with aminoglycoside ototoxicity. *J Infect Dis.* 1987; 156:449–455.
- Hinojosa R, Nelson EG, Lerner Sa. Aminoglycoside ototoxicity: a human temporal bone study. *Laryngoscope.* 2001. 111: 1797.

- Hinshaw HC, Feldman L. Streptomycin in treatment of clinical tuberculosis: a preliminary report. *Proc Mayo Clinic*. 1945; 20:313–318.
- Hirose K, Hockenbery DM, Rubel EW. Reactive oxygen species in chick hair cells after gentamicin exposure in vitro. *Hear Res*. 1997; 104:1–14.
- Hoistad DL, Ondrey FG, Mutlu G. Histopathology of human temporal bone after cis-platinum-radiation or both. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998; 118: 825.
- Huth ME, Han KH, Sotoudeh K, et al. Designer aminoglycosides prevent cochlear hair cell loss and hearing loss. *J Clin Invest* 2015; 125:583.
- Iurato S. Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. I. The tectorial membrane, *Z Zellforsch*. 1960; 52: 105 induced ototoxicity in rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014 Apr;78(4):663-9.
- Sayın İ. Sıçanlarda Yeni Bir Akustik Travma Modeli. [Uzmanlık Tezi]. İstanbul: Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği; 2006.
- Johnsson LG, Hawkins JE Jr, Kingsley TC, Black FO, Matz GJ. Aminoglycoside-induced cochlear pathology in man. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1981; 383:1–19.
- Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduces cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 2004; 114:538.
- Karaer I, Simsek G, Gul M, Bahar L, Gürocak S, Parlakpınar H, Nuransoy A. Melatonin protects inner ear against radiation damage in rats..*Laryngoscope*. 2015 Oct;125(10):E345-9.
- Kavirajan H¹, Schneider LS. Efficacy and adverse effects of cholinesterase inhibitors and memantine in vascular dementia: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet Neurol*. 2007 Sep;6(9):782-92.
- Kerr TP and others. Cellular localization of Na⁺, K⁺- ATP ase in the mammalian cochlear duct: significance for cochlear fluid balance. *Am J Otolaryngol* 1982; 3: 332.
- Kharkheli E, Kevanishvili Z, Maglakelidze T, Davitashvili O, Schacht J. Does vitamin E prevent gentamicin-induced ototoxicity? *Georgian Med News*. 2007: 14–17.
- Kimura RS. Hairs of the cochlear sensory cells and their attachment to the tectorial membrane. *Acta Otolaryngol*. 1966; 61: 55.
- Klis SF, O’Leary SJ, Hamers FP, De Groot JC, Smoorenburg GF. Reversible cisplatin ototoxicity in the albino guinea pig. *Neuroreport*. 2000; 11:623–626.

- Knight KRG, Kraemer DF, Neuwelt EA. Ototoxicity in children receiving platinum chemotherapy: underestimating a commonly occurring toxicity that may influence academic and social development. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23:8588–8896.
- Knight KR, Kraemer DF, Winter C, Neuwelt EA. Early changes in auditory function as a result of platinum chemotherapy: use of extended high-frequency audiometry and evoked distortion product otoacoustic emissions. *J Clin Oncol* 2007; 25:1190.
- Kopke R, Bielefeld E, Liu J, Zheng J, Jackson R, Henderson D, et al. Prevention of impulse noise-induced hearing loss with antioxidants. *Acta Otolaryngol* 2005;125:235-43.
- Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D, Garcia P, Steinman H, Malgrange B, Ruben RJ, Rybak L, Van de Water TR. Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol.* 1997; 18:559–571.
- Kopke RD, Weisskopf PA, Boone JL, Jackson RL, Wester DC, Hoffer ME, et al. Reduction of noise-induced hearing loss using LNAC and salicylate in the chinchilla. *Hear Res* 2000;149:138-46.
- Kopke RD, Coleman JK, Liu J, Campbell KC, Riffenburgh RH. Candidate's thesis: enhancing intrinsic cochlear stress defenses to reduce noise-induced hearing loss. *Laryngoscope* 2002;112:1515-32.
- Kopke RD, Coleman JKM, Liu J, Jackson RL, Van De Water TR. Mechanisms of noise-induced hearing loss and otoprotective strategies. In: Van De Water TR, Staecker H, editors. *Otolaryngology: basic science and clinical review*. New York: Thieme;2006. p.395-408.
- Kopke RD, Jackson RL, Coleman JK, Liu J, Bielefeld EC, Balough BJ. NAC for noise: from the bench top to the clinic. *Hear Res* 2007; 226:114-25.
- Kujawa SG, Liberman MC. Acceleration of age-related hearing loss by early noise exposure: evidence of a misspent youth. *J Neurosci* 2006;26:2115-23.
- Kujawa SG, Liberman MC. Adding insult to injury: cochlear nerve degeneration after “temporary” noise-induced hearing loss. *J Neurosci* 2009;29:14077-85.
- Kwak S, Weiss JH. Calcium-permeable AMPA channels in neurodegenerative disease and ischemia. *Curr Opin Neurobiol.* 2006; 16(3):281–287.

- Laurell G, Jungnelius U. High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *Laryngoscope*. 1990; 100:724–734.
- Lautermann J, McLaren J, Schacht J. Glutathione protection against gentamicin ototoxicity depends on nutritional status. *Hear Res*. 1995; 86:15–24.
- Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma. *Free Radic Biol Med* 2007;42:1454-63.
- Le Prell CG, Yamashita D, Minami SB, Yamasoba T, Miller JM. Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. *Hear Res* 2007;226:22-43.
- Lee JE, Nakagawa T, Kim TS, Endo T, Shiga A, Iguchi F, Lee SH, Ito J. Role of reactive radicals in degeneration of the auditory system of mice following cisplatin treatment. *Acta Otolaryngol*. 2004; 124:1131–1135.
- Lehmann A1, Kärrberg L. Effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on cisplatin-induced emesis in the ferret. *Neuropharmacology*. 1996 Apr;35(4):475-81.
- Leo MA, Lieber CS. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:1071.
- Lerner SA, Schmitt BA, Seligsohn R, Matz GJ. Comparative study of ototoxicity and nephrotoxicity in patients randomly assigned to treatment with amikacin or gentamicin. *Am J Med*. 1986; 80:98– 104.
- Li Y, Womer RB, Silber JH. Predicting cisplatin ototoxicity in children: the influence of age and the cumulative dose. *Eur. J. Cancer*. 2004; 40:2445–2451.
- Liberman MC, Beil DG. Hair cell condition and auditory nerve response in normal and noise-damaged cochleas. *Acta Otolaryngol* 1979;88:161-76.
- Liberman MC, Mulroy MJ. Acute and chronic effects of acoustic trauma: cochlear pathology and auditory nerve pathophysiology. In: Hamernik RP, Henderson D, Salvi R, editors. *New perspectives on noise-induced hearing loss*. New York: Raven Press;1982. p.105-36.
- Lipton SA¹. Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults. *NeuroRx*. 2004 Jan;1(1):101-10.

- Liu W, Staecker H, Stupak H, Malgrange B, Lefebvre P, Van De Water TR. Caspase inhibitors prevent cisplatin-induced apoptosis of auditory sensory cells. *Neuroreport*. 1998; 9:2609–2614.
- Lu J, Li W, Du X, Ewert DL, West MB, Stewart C. Antioxidants reduce cellular and functional changes induced by intense noise in the inner ear and cochlear nucleus. *J Assoc Res Otolaryngol* 2014;15:353-72.
- Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Combined oral delivery of ebselen and allopurinol reduces multiple cisplatin toxicities in rat breast and ovarian cancer models while enhancing anti-tumor activity. *Anticancer Drugs*. 2005; 16:569–579.
- Marina N, Chang KW, Malogolowkin M, London WB, Frazier AL, Womer RB. Amifostine does not protect against the ototoxicity of high-dose cisplatin combined with etoposide and bleomycin in pediatric germ-cell tumors: a Children’s Oncology Group study. *Cancer*. 2005; 104:841–847.
- Marshak T, Steiner M, Kaminer M, et al. Prevention of Cisplatin-Induced Hearing Loss by Intratympanic Dexamethasone: A Randomized Controlled Study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2014; 150:983.
- Martin FN, Clark JG. *Introduction to Audiology*. 11th ed. New Jersey: Pearson Education; 2012.
- Mathog RH, Klein WJ Jr. Ototoxicity of ethacrynic acid and aminoglycoside antibiotics in uremia. *N Eng J Med*. 1969 280: 1223.
- Mayer ML, Westbrook GL, Guthrie PB. Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature* 1984; 309:261.
- McKeage MJ, Comparative adverse effects of platinum drugs. *Drug Safety*. 1995; 13, 228–244.
- Momiyama J, Hashimoto T, Matsubara A, Futai K, Namba A, Shinkawa H. Leupeptin, a calpain inhibitor, protects inner ear hair cells from aminoglycoside ototoxicity. *Tohoku J Exp Med*. 2006; 209:89–97.
- Monaghan DT, Holets VR, Toy DW, Cotman CW. Anatomical distributions of four pharmacologically distinct 3H-L-glutamate binding sites. *Nature* 1983; 306:176.
- Moore KL, Persaud TVN. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi Vol 2*. İstanbul: Nobel Tıp Yayınevleri; 2009: 431- 432.

- Moore RD, Smith CR, Lietman PS. Risk factors for the development of auditory toxicity in patients receiving aminoglycosides. *J Infect Dis.* 1984; 149:23–30.
- Mukherjea D, Whitworth CA, Nandish S, Dunaway GA, Rybak LP, Ramkumar V. Expression of the kidney injury molecule 1 in the rat cochlea and induction by cisplatin. *Neuroscience.* 2006; 139:733–740.
- Mukherjea D, Jajoo S, Kaur T, Sheehan KE, Ramkumar V, Rybak LP. Transtympanic administration of short interfering (si)RNA against cochlear specific NADPH oxidase isoform NOX3 abrogates cisplatin-induced hearing loss in the rat. *Antioxidants & Redox Signal.* 2010; 13:589–598.
- Mulheran M, Degg C, Burr S, Morgan DW, Stableforth DE. Occurrence and risk of cochleotoxicity in cystic fibrosis patients receiving repeated high-dose aminoglycoside therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45:2502–2509.
- Munckhof WJ, Grayson ML, Turnidge JD. A meta-analysis of studies on the safety and efficacy of aminoglycosides given either once daily or as divided doses. *J Antimicrob Chemother* 1996; 37:645.
- Nakagawa T, Yamane H, Takayama M, Sunami K, Nakai Y. Apoptosis of guinea pig cochlear hair cells following chronic aminoglycoside treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1998; 255:127– 131.
- Orfanos CE, Zouboulis CC, Almond-Roesler B, Geilen CC. Current use and future potential role of retinoids in dermatology. *Drugs* 1997; 53:358.
- Paksoy M¹, Ayduran E, Sanlı A, Eken M. The protective effects of intratympanic dexamethasone and vitamin E on cisplatin-induced ototoxicity are demonstrated in rats. *Med Oncol.* 2011 Jun;28(2):615-21.
- Paparella MM, Shumrick DA. *Otolaryngology.* Vol. 1. Philadelphia: Saunders; 1973.
- Pavlidis P1, Maurer J, Apostolidou E, Kekes G, Memantine's action against aminoglycoside-induced ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2014 Jun;271(6):1491-6.

- Prezant TR¹, Agopian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 1993 Jul;4(3):289-94.
- Priuska EM, Schacht J. Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochem Pharmacol.* 1995; 50:1749–1752.
- Puel JL, Ruel J, Guitton M, Pujol R. The inner hair cell afferent/efferent synapses revisited: a basis for new therapeutic strategies. *Adv Otorhinolaryngol* 2002;59:124–130.
- Pujol R, Puel JL, Gervais d'Aldin C, Eybalin M. Pathophysiology of the glutamatergic synapses in the cochlea. *Acta Otolaryngol* 1993;113:330–334.
- Ravi R, Somani SM, Rybak LP. Mechanism of cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Pharmacol Toxicol.* 1995; 76:386–394.
- Robertson D. Functional significance of dendritic swelling after loud sounds in the guinea pig cochlea. *Hearing Res* 1983;9:263–278.
- Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature.* 1965; 205:698–699.
- Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature.* 1969; 222:385–386.
- Ruedi L. Further observations concerning the toxic effects of streptomycin and quinine on the auditory organ of guinea pigs. *Laryngoscope.* 1952; 62:333–357.
- Ruel J, Wang J, Rebillard G, Eybalin M, Lloyd R, Pujol R, Puel JL. Physiology, pharmacology and plasticity at the inner hair cell synaptic complex. *Hear Res* 2007;227:19–27.
- Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Am J Otol.* 2000; 21:513–520.
- Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today.* 2005; 10:1313– 1321.
- Rybak LP, Ramkumar V. Ototoxicity. *Kidney Int* 2007; 72:931.

- Sastry J, Kellie SJ. Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine. *Pediatr Hematol Oncol*. 2005; 22:441–445.
- Schacht J¹, Talaska AE, Rybak LP. Cisplatin and aminoglycoside antibiotics: hearing loss and its prevention. *Anat Rec (Hoboken)*. 2012; Nov;295(11):1837-50.
- Schatz A, Bugie E, Waksman SA. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1944; 55:66–69.
- Schneider ME. Rapid renewal of auditory hair bundles. 2002; 418: 837-838.
- Schuknecht, HF. *Pathology of the Ear*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993.
- Sha SH, Schacht J. Salicylate attenuates gentamicin-induced ototoxicity. *Lab Invest*. 1999; 79:807–813.
- Sha SH, Taylor R, Forge A. Differential vulnerability of basal and apical hair cells based on intrinsic susceptibility to free radicals. *Hear Res*. 2001. 155:1.
- Sha SH, Qiu JH, Schacht J. Aspirin to prevent gentamicin-induced hearing loss. *N Engl J Med* 2006; 354:1856.
- Sinswat P¹, Wu WJ, Sha SH, Schacht J. Protection from ototoxicity of intraperitoneal gentamicin in guinea pig. *Kidney Int*. 2000 Dec;58(6):2525-32.
- Sone M, Schachern PA, Paparella MM. Loss of spiral ganglion cells as primary manifestation of aminoglycoside ototoxicity. *Hear Res*. 1998; 115:217–223.
- Spoendlin H. Primary structural changes in the organ of Corti after acoustic overstimulation. *Acta Otolaryngol* 1971;71:166-76.
- Spoendlin H. *Neural anatomy of the inner ear*. New York: Raven Pres; 1988.
- Strauss M. Cisplatin ototoxicity: clinical experience and temporal bone histopathology. *Laryngoscope*. 1983; 93: 1554
- Sun H, Hashino E, Ding DL, Salvi RJ. Reversible and irreversible damage to cochlear afferent neurons by kainic acid excitotoxicity. *Journal of Comparative Neurology* 2001;430:172–181.
- Tabuchi K, Pak K, Chavez E, Ryan AF. Role of inhibitor of apoptosis protein in gentamicin-induced cochlear hair cell damage. *Neuroscience*. 2007; 149:213–222.

- Tokgoz B, Ucar C, Kocyigit I, et al. Protective effect of N-acetylcysteine from drug-induced ototoxicity in uraemic patients with CAPD peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:4073.
- Tsukasaki N, Whitworth CA, Rybak LP. Acute changes in cochlear potentials due to cisplatin. *Hear Res.* 2000; 149:189–198.
- Vandebona H, Mitchell P, Manwaring N, et al. Prevalence of mitochondrial 1555A-->G mutation in adults of European descent. *N Engl J Med* 2009; 360:642.
- Vital-Brazil O, Corrado AP. The curariform action of streptomycin. *J Pharm Exp Ther.* 1957; 68:452– 459.
- Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320.
- Wang J, Faulconbridge RVL, Fetoni A, Guitton MJ, Pujol R, Puel JL. Local application of sodium thiosulfate prevents cisplatin-induced hearing loss in the guinea pig. *Neuropharmacology* 2003; 45:380–393.
- Wang J, Ladrech S, Pujol R, Brabet P, Van De Water TR, Puel JL. Caspase inhibitors, but not c-Jun NH2-terminal kinase inhibitor treatment, prevent cisplatin-induced hearing loss. *Cancer Res.* 2004; 64:9217–9224.
- Wang Y, Hirose K, Liberman MC. Dynamics of noise-induced cellular injury and repair in the mouse cochlea. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2002; 3: 248-268.
- Watanabe K, Inai S, Jinnouchi K, Baba S, Yagi T. Expression of caspase-activated deoxyribonuclease (CAD) and caspase 3 (CPP32) in the cochlea of cisplatin (CDDP)-treated guinea pigs. *Auris Nasus Larynx.* 2003; 30:219–225.
- Whitworth CA, Ramkumar V, Jones B, Tsukasaki N, Rybak LP. Protection against cisplatin ototoxicity by adenosine agonists. *Biochem. Pharmacol.* 2004; 67:1801–1807.
- Wu WJ¹, Sha SH, Schacht J. Recent advances in understanding aminoglycoside ototoxicity and its prevention. *Audiol Neurootol.* 2002 May-Jun;7(3):171-4.
- Yamashita D, Jiang HY, Schacht J, Miller JM. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res* 2004;1019:201-9.

Yamashita D, Jiang HY, Le Prell CG, Schacht J, Miller JM. Post-exposure treatment attenuates noise-induced hearing loss. *Neuroscience* 2005;134:633-42.

Yang D¹, Zhou H, Zhang J, Liu L. Increased endothelial progenitor cell circulation and VEGF production in a rat model of noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol.* 2015 Jun;135(6):622-8.

Zheng Y¹, Smithies H², Aitken P², Gliddon C², Stiles L², Darlington CL. Cell proliferation in the cochlear nucleus following acoustic trauma in rat. *Neuroscience.* 2015 Sep 10;303:524-34.

