

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNE BAĞLI GELİŞEN  
İŞİTME KAYIPLARINDA ETANERCEPT BİLEŞİĞİNİN  
PROFİLAKTİK OLARAK KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Sinem Daşlı

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

2015

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNE BAĞLI GELİŞEN  
İŞİTME KAYIPLARINDA ETANERCEPT BİLEŞİĞİNİN  
PROFİLAKTİK OLARAK KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Sinem Daşlı

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Murat Topdağ

Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Mete İşeri

Etik Kurul Onayı: Karar No: KOÜ HADYEK 7/2-2014 Proje No: 2

2015

## ÖNSÖZ

Hayatımın son üç yılı benim için çok zorlu bir dönemdi. Bir yandan iyi bir eş, bir yandan iyi bir anne, bir yandan da başarılı bir cerrah olmak istiyordum. Asistanlık dönemimde ikiz bebeklerimin olması hem Allah'ın bir mucizesi hem de benim en büyük imtihanım oldu. Çoğu zaman aile hayatım ve iş hayatım arasında sıkışıp kaldım. Sürekli orta noktayı bulmaya çalıştım fakat hiçbir zaman iki taraf da mükemmel olmadı. Elimden geldiğince bu zorlu dönemi kimseyi kırmadan atlatmaya çalıştım. Bana bu dönemde elinden geldiğince yardımcı olan Kocaeli Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Mete İşeri'ye, tez hocam Yrd. Doç. Dr. Murat Topdağ'a sabırlarından ve desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum. Ayrıca eğitim hayatımda emeği geçen Prof. Dr. Ömer Aydın, Prof. Dr. Gürkan Keskin ve Doç. Dr. Murat Öztürk hocama ayrıca asistanlık sürem içerisinde aramızdan ayrılan eski anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Ahmet Almaç hocama teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Ayrıca bu zorlu dönemde bana en çok destek olan kişi eşim Tolga Daşlı'ya sabırla beni beklediği ve çocuklarımızı hiçbir zaman yalnız bırakmadığı benim yokluğumu onlara hissettirmediği için sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum. Bizi hiçbir zaman yalnız bırakmayan akademik hayatımı her zaman destekleyen hayatımızı kolaylaştırmaya çalışan, bizi yetiştirdikleri yetmiyormuş gibi çocuklarım üzerinde büyük emeği olan anneme, babama, kayınvalideme ve kayınpederime varlıkları için çok teşekkür ediyorum. Herşeyden en çok sıkıldığım bunaldığım pes ettiğim anda bana yaşama sevinci veren hayatımın anlamı canım kızlarım Şeyma ve Şevval'e bana dünyanın en güzel duygusu anneliği yaşattıkları için sonsuz teşekkür ediyorum.

Dr. Sinem Daşlı

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
1. SİMGELER VE KISALTMALAR	III
2. TABLOLAR	IV
3. ŞEKİLLER	V
4. AMAÇ VE KAPSAM	1
5. GENEL BİLGİLER	2
5.1.Kulak Embriyolojisi	2
5.2.Kulak Anatomisi	5
5.3.İşitme Fizyolojisi	14
5.4.Sıçan kulağı Anatomisi	19
5.5.Sisplatin ototoksisitesi	21
5.6.Otoakustik Emisyonlar	28
5.7.Etanercept	31
6. GEREÇ VE YÖNTEM	35
6.1.Hayvan Çalışmaları	35
6.2.Distortion Product ile Otoakustik Emisyon Ölçüm Metodu	36
6.3.İstatistiksel Analiz	38
7. BULGULAR	39
8. TARTIŞMA	45
9. SONUÇ	53
10. ÖZET	54
11. ABSTRACT	55
12. KAYNAKLAR	56

## 1.SİMGELER VE KISALTMALAR

- TNF $\alpha$**  : Tümör nekroz faktör alfa
- DPOAE**: Distorsion product otoakustik emisyon
- Db**: desibel
- NADP**: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
- NOX3**: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz 3
- EGCG**: Epigallacatechin gallate
- STAT-1**: Signal transducer and activator of transcription
- TPP**: Thiamin pirofosfat
- NMDA**: N-metil-D-aspartat
- SiRNA**: Short interfering ribonükleik asit
- ALA**: Alfa lipoik asit
- DMSO**: dimetil sulfoksit
- Nrf2**: NF-E2 bağımlı faktör
- SOR**: serbest oksijen radikalleri
- TNFR**: Tümör nekroz faktör reseptörü
- SOD**: Superoksit dismutaz
- IL-1 $\beta$** : İnterlökin 1 beta
- İNOS**: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
- NF $\kappa$ B**: Nükleer faktör kappa B
- TRAIL**: TNF related apoptosis inducing ligand
- MAPK**: mitojen activated protein kinaz
- GAP 43**: growth-associated protein 43

## 2. GRAFİK VE TABLOLAR

### Tablo Adı

### Sayfa No

**Grafik 1.** Etanercept grubunun DP-gram değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile kıyaslandığında 4921Hz ve 7460Hz dışında günler arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ( $p>0,05$ ).....41

**Grafik 2.** Kontrol grubunun DP-gram değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile kıyaslandığında özellikle yüksek frekanslarda anlamlı fark izlendi. ( $p<0,05$ ).....41

**Grafik 3.** Etanercept grubunun input-output değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile kıyaslandığında 8000Hz55dB dışında günler arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ( $p>0,05$ ).....42

**Grafik 4.**Kontrol grubunun input-output değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile karşılaştırıldığında özellikle 8000Hz-55dB ve 10000Hz-55dB şiddetindeki frekanslar arasında istatistiksel anlamlılık saptandı. ( $p<0,05$ ).....42

**Tablo1.** İki grubun günlere ve frekanslara göre DP-gram medyan değerlerinin Mann Whitney U Testi karşılaştırılması. Özellikle 3.günde her iki grubun DP-gr değerler arasında anlamlı farklılık izlendi. ( $p<0,05$ ).....43

**Tablo2.** İki grubun günlere ve frekanslara göre input-output medyan değerlerinin Mann Whitney U Testi karşılaştırılması. ( $p<0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.).....44

### 3.ŞEKİLLER

Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1. Brankial ark anatomisi.....	4
Şekil 2. Kulak yapılarının koronal kesiti.....	5
Şekil 3. İç kulak yapıları.....	12
Şekil 4. Kokleanın kesiti.....	13
Şekil 5. İlerleyen dalga teorisi.....	18
Şekil 6. Sıçan kulağı anatomisi.....	20
Şekil 7. Distotion Product Otokakustik Emisyon.....	30
Şekil 8. DPOAE ölçüm düzeneği .....	36
Şekil 9. DP-gram ölçüm ekran görüntüsü .....	37

#### 4. AMAÇ VE KAPSAM

Ototoksisite, herhangi bir terapötik ajan ya da kimyasal maddenin, iç kulak dokularında özellikle VIII. kraniyal sinir ve son organlarında hücresel hasar ve fonksiyonel bozukluğa neden olması şeklinde tarif edilmiştir (1). Ototoksisiteye bir çok ilaç sebep olabildiği gibi sisplatin bu ilaçlardan belki de en önemlisidir. Çünkü çok güçlü kemoterapötik bir ajan olmasından dolayı baş boyun tümörleri başta olmak üzere birçok kanserde 1960'ların sonlarından günümüze kadar vazgeçilmez bir ilaç olarak kullanılmaya devam edilmektedir. İlk olarak baş boyunun skuamöz hücreli karsinomlarında kullanılmaya başlanan ajan günümüzde akciğer, mesane, servikal, over, testiküler ve gastrointestinal kanserlerde ayrıca malign glioma ve metastatik kanserlerde teröpatik amaçlı kullanılmaktadır (2). Pediatrik yaş grubunda da sıklıkla kullanılıyor olması sisplatinin oluşturduğu ototoksisiteyi önlemek için birçok tedavi yöntemlerinin denenmesine sebep olmuştur. Fakat henüz sisplatin ototoksisitesini önlediği insanlar üzerinde kanıtlanmış herhangi bir ilaç bulunamamıştır. Bu alanda denenilen ilaçlar hayvan deneyleri ile sınırlı kalmıştır (3). Yapılan çalışmalarda sisplatin kullanılan hastaların ortalama %62'sinde sensörinöral işitme kaybı geliştiği görülmüştür. Bu oran %11 ile %97 arasında değişmektedir.(2) Ototoksisite sisplatin uygulamasından sonra saatler ya da günler içinde gerçekleşebilir. Özellikle verilen sisplatinin toplam doz miktarı arttıkça ototoksisite riskinin arttığı görülmüştür. Kanser tedavisi için birden fazla sisplatin uygulaması gerekebilir bunun için de sisplatinin antitümöral mekanizmalarını etkilemeden yan etkilerin önlenmesi ya da tedavi edilmesi gerekir (2).

Biz çalışmamızda TNF $\alpha$  blokörü olan etanerceptin sisplatinin sıçanlar üzerinde oluşturduğu ototoksisite üzerinde profilaktik etkinliğine baktık. Daha önce yapılan hayvan deneyi çalışmalarında sisplatinin ototoksisite mekanizmalarından birinin de kokleada salgılanan inflamatuvar sitokinlerle bağlantılı olduğu gösterilmiştir (4). Biz bu çalışmayı planlarken bu hipotezden yola çıkarak güçlü bir



inflatuar sitokin olan TNF $\alpha$ ' yı inhibe ederek sisplatin ototoksisitesine karşı klinikte rahatlıkla uygulanabilecek profilaktik bir ilaç bulmayı amaçladık.

## **5. GENEL BİLGİLER**

### **5.1 KULAK EMBRİYOLOJİSİ**

Kulağın 3 bölümü de ayrı embriyolojik gelişime sahiptir. Dış kulak ve orta kulak brankial yarık ve ceplerden oluşurken iç kulak ise, myelensefalonun her iki yanındaki dış ektodermden gelişir.

#### **5.1.1. İç Kulağın Gelişimi**

İç kulak 3.gestasyonel haftada ektoderm yüzeyinde otik disk adı verilen bir alan olarak başlar. Disk içe doğru kıvrılır ve otik çukur oluşur, yüzey epiteli ile olan bağlantısı kesilir ve 5. haftada otik vezikül oluşur. Otik vezikül daha sonra ikiye ayrılarak dorsal kısmından utrikulus, semisirküler kanallar ve endolenfatik duktus gelişir; ventral kısmından duktus koklearis ve sakkulus gelişir. Fossa otika, otik vezikül haline geçerken bir kısım epitel hücresi ayrılarak statoakustik ganglionu oluşturur. Bu gangliondan gelişen sinir lifleri makula, krista ve corti organına ulaşırlar. Ektodermden gelişen membranöz labirentin etrafını mezodermden gelişen kıkırdak yapı sarar. Bu daha sonra ossifiye olarak kemik labirenti oluşturur. İç kulak kemik yapıları ve kemikçikler embriyonel yaşamın 4. ayında yetişkinlerdeki çaplarına erişirler.

#### **5.1.2. Orta Kulağın Gelişimi**

Kavum timpani ve tuba östaki birinci faringeal kesenin endoderminden gelişir. Birinci faringeal kese 4. haftada laterale doğru gelişerek birinci brankial yarık ile temasa geçer. Bu kesenin proksimal kısmı tuba östakiyi, distal kısmı ise kavum timpaniyi oluşturur. Faringeal kesenin daha fazla genişlemesi mastoid antrumu oluşturur. Mastoid bölgenin pnömatizasyonu doğumdan sonra oluşur. Mastoid hücrelerin tam gelişimi 2 yaş civarında olur. Timpanik membran birinci faringeal kesenin endoderminden ve birinci brankial yarığın ektoderminden oluşur. Malleus ve

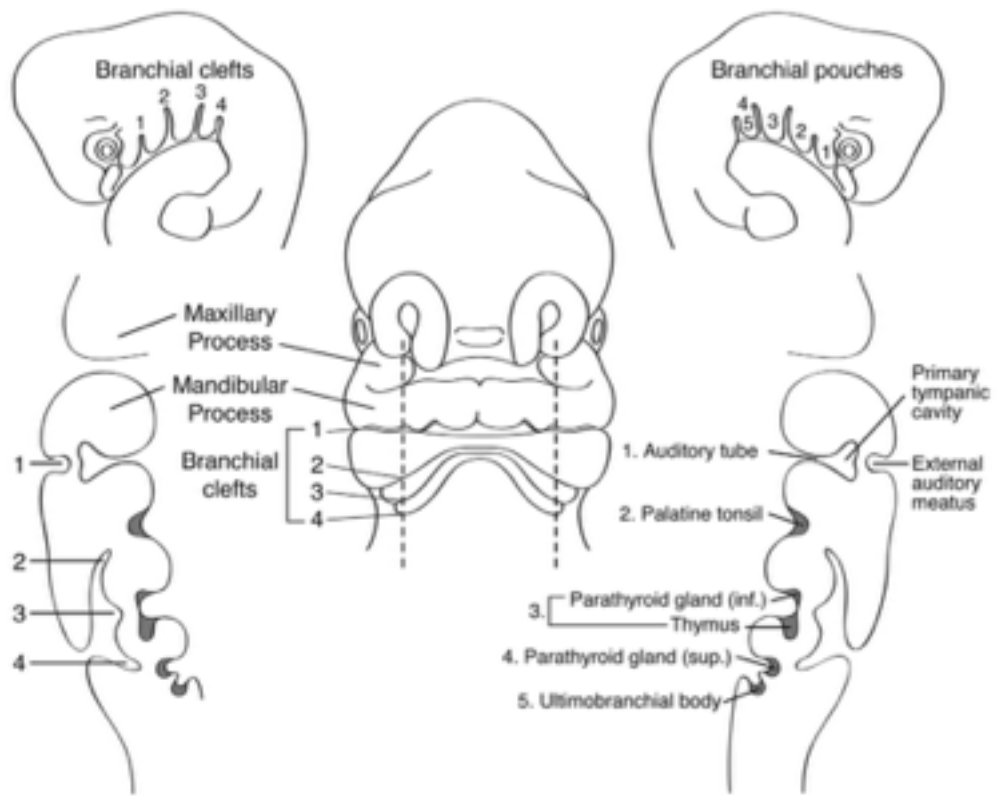
inkus birinci brankial arkın kartilajından (Meckel Kartilajı), stapes ise ikinci brankial arkın kartilajından (Reichert kartilajı) gelişir. Malleus birinci brankial arkın kartilajından geliştiği için kendisine tutunan kas olan musculus tensor timpani, birinci brankial arkın siniri olan nervus trigeminustan innerve olur. Aynı şekilde stapes ikinci brankial arkın kartilajından geliştiği için musculus stapedius ikinci brankial arkın siniri olan nervus fasiyalisten innerve olur.

### **5.1.3. Dış Kulağın Gelişimi**

Dış kulak yolu birinci brankial arkın ektoderminden gelişir. Bu huni şeklindeki tüpün altındaki ektodermal hücreler çoğalarak erken dönemde meatal plak oluşturur. Fetal evre sonunda bu plağın ortasındaki hücreler dejenere olarak dış kulak yolunu oluşturur. Dış kulak yolu erişkin boyutuna 9.yaşta ulaşır (5).

Timpanik membran 1.branksial arkın ektodermi ile 1. faringeal kesenin endoderminin birleştiği alandır. Timpanik membran birinci branksial arkın ektodermi, birinci faringeal kesenin endodermi ve bu ikisi arasındaki 1. ve 2. branksial ark mezoderminden gelişen fibröz dokudan oluşur (6).

Aurikula ise birinci ve ikinci branksial arkın dorsal ucunda oluşan 6 adet mezenkimal dokunun birleşmesinden oluşur. Bu birleşme gelişimin altıncı haftasında gerçekleşir (7).



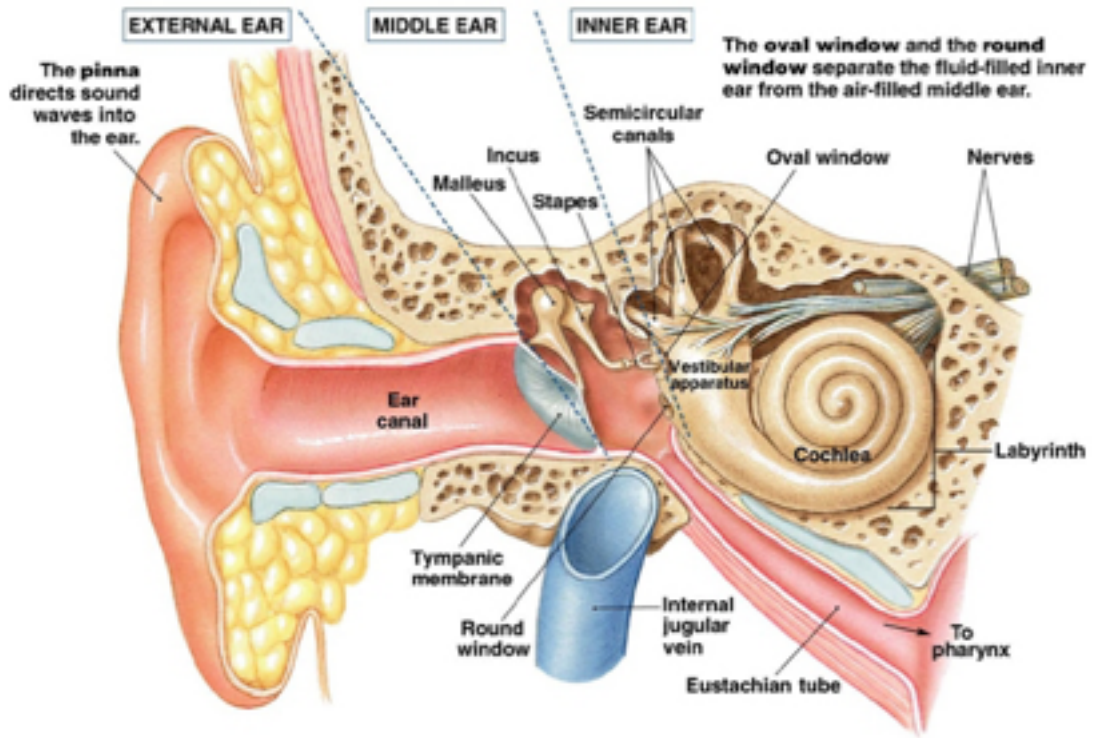
**Şekil 1.** Brankial ark anatomisi

(Waldhausen JH. Branchial cleft and arch anomalies in children. Semin Pediatr Surg.

2006 May;15(2):64-9.)

## 5.2 KULAK ANATOMİSİ

Kulak işitme ve denge organının periferik organı olup; aurikula ve dış kulak yolunu içeren dış kulak; kulak zarı, orta kulak kemikçikleri, mastoid hücreler ve tuba östakiyi içeren orta kulak; vestibüler sistem, koklea ve internal akustik kanalı içeren iç kulak olmak üzere 3 bölümde incelenmektedir.



Şekil 2. Kulak yapılarının koronal kesiti

### 5.2.1 Dış Kulak

Dış kulak aurikula ve dış kulak kanalından oluşur. Aurikula konkav bir lateral yüze ve konveks bir medial yüze sahiptir. Konkav yüzey simba ve kavum konka olmak üzere iki bölüme ayrılır. Kulak kepçesini dıştan sınırlayan kenara heliks denir. Bu yukarıda heliks krusu ve aşağıda lobül ile devam eder. Heliksin önünde ve buna paralel olarak uzanan çıkıntıya antiheliks denir. Antiheliks yukarıda triangular

fossayı oluşturan krura antiheliks denen iki kola ayrılır. Dış kulak yolunun ön kısmında bulunan sınırdaki tragus ve antitragus bulunur.

Aurikulanın lateral yüzünün büyük kısmı n. aurikulotemporalis tarafından innerve edilirken, kavum konka bölümü n. fasialis ve n. vagus tarafından innerve edilir. Kulak lobülü ve aurikula medial yüzü ise n. oksipitalis minör ve n. aurikularis magnus tarafından sağlanır. Aurikula; a. aurikularis posterior, a. oksipitalis ve a. temporalis süperfisyalden gelen damarlarla beslenirken venler arterleri takip ederek pterigoid pleksus ve eksternal juguler vene drene olur. Lenfatik drenaj ise preaurikuler, postaurikuler ve aurikula altı lenf gangliyonlarına olmaktadır (8).

Dış kulak yolunun dış 1/3'ü aurikular kıkırdağın bir uzantısından, 2/3'ü ise temporal kemiğin timpanik ve skuamöz parçasından oluşur. Kıkırdak temporal kemiğe sıkıca tutunmuştur fakat içindeki, Santorini fissürleri adı verilen fibröz kanallar sayesinde bir miktar hareketlilik gösterir. Dış kulak yolunun kemik kısmı ise öne ve aşağıya doğru kavisli olup, orta kısmında bir istmus oluşturmak üzere daralır. Bu kısmın uzunluğu ortalama 3 cm olup meatusun toplam uzunluğunun 2/3'ünü oluşturur. Kanalin çapı değişken olmakla birlikte, ortalama 7-9 mm. dir. Dış kulak yolunun bu kısmındaki cildi kemiğe sıkıca tutunmuştur ve cilt altı tabakalar periostu oluşturmak üzere yoğunlaşmıştır. Cilt timpanik membrana yaklaştıkça gitgide incelerek timpanik membranın dış yüzeyi üzerinde 5-7 hücre kalınlığında bir tabaka oluşturur.

### **5.2.2 Timpanik membran**

Dış kulak yolunu medialden sınırlayan skuamöz hücre tabakası, orta kulağı lateralden sınırlayan mukoza tabakası ve bu ikisi arasında yer alan fibröz tabaka olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Fibröz tabaka hem dairesel hem de radyal şekilde uzanım gösteren liflerden oluşur ve zara şeklini ve kıvrımını verir. Timpanik membrandaki en belirgin kılavuz noktası manibrium malleidir. Manibriumun üst sınırı laterale doğru yönelmiş kısa, baş parmağına benzeyen bir çıkıntı olan lateral çıkıntı (processus breves) tarafından belirgin hale getirilmiştir. Manibrium düzdür ve aşağı doğru dolanarak timpanik membranın tepesinde (umbo) sonlanır. Timpanik

membranın periferinde fibröz tabaka kalınlaşıp birleşerek timpanik anulusu oluşturur ve bu da timpan kemiğın sulkusuna tutunur. Timpanik zarın kenarının temporal kemiğın skuamöz parçası tarafından oluşturulan üst arkı Rivinus Çentiğı olarak adlandırılır. Timpanik membranın malleolar plikaların yukarısında kalan ve Rivinus çentiğı tarafından sınırlanan kısmında fibröz tabaka hiç yoktur ve burası pars flaksida (Shrapnell membrane) adını alır. Zarın aşağıdaki daha büyük kısmına ise pars tensa denir (9).

### 5.2.3 Orta Kulak

Orta kulak, kulak zarı ile kemik labirent arasında bulunan, östaki borusu aracılığı ile nazofarenksle, aditus ad antrum yolu ile mastoid hücreleri ile bağlantısı olan, müköz membranlarla örtülü bir alandır. Orta kulak boşluğının 6 duvarı vardır (8).

1-Dış (lateral) duvar: Büyük kısmını timpanik membran oluşturur. Bu duvarın üst bölümü ise temporal kemiğın skuamöz parçasından oluşur.

2- İç (labirentin) duvar: Promontoryumun yaptığı çıkıntı aracılığı ile iç kulakla komşuluk gösterir. Promontoryum üzerinde membrana tympani sekundaria ile kaplı yuvarlak pencere ve stapes tabanının yerleştiğı oval pencere vardır.

3- Alt (juguler) duvar: Hipotimpanumun tabanını oluşturur. Juguler bulbus ve juguler ven ile komşudur. Ayrıca arka kısmında sytiloid çıkıntı ile komşuluğı vardır.

4- Üst (tegmental) duvar : Epitimpanumun tavanını oluşturur ve orta kranial fossa ile komşudur.

5- Arka (mastoid) duvar: Mastoid ile ilişkilidir. Arka kısmında ayrıca stapes kası ve stapes tendonunun yapıştığı eminentia pyramidalis, fasiyal sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösterir ve hemen lateralinden chorda tympani siniri orta kulak boşluğuna girer. Eminentia pyramidalis ile sinus tympani arasında fasiyal reses vardır.

6- Ön (karotid) duvar: Karotis internanın yaptığı çıkıntı ile östaki borusu ve tensör timpani kası bulunur.

Orta kulak boşluğunda üç tane hareketli kemikçik vardır. Malleus, inkus ve stapes (10). Kemikçiklerin en büyüğü malleus adını alır. Malleus baş, boyun ve üç çıkıntından (manibrium mallei, anterior ve lateral çıkıntılar) oluşur. Manibrium mallei ile kulak zarına yapışır. Malleusun üç adet asıcı ligamenti bulunur: Anterior malleolar, lateral malleolar ve süperior malleolar ligament. İnkus, bir gövde ve iki koldan oluşur. İnkusun gövde kısmı malleus ile uzun kolu ise stapes ile eklem yapar. Medial ve lateral inkudomalleolar ligamanlar inkus gövdesini malleus başına bağlar. Stapes vücudun en küçük kemiğidir. Baş, boyun, taban ve iki baccaktan oluşur. Stapes tabanı ligamentum annulare ile oval pencereye sıkıca yapışır. Kemikçiklere yapışan kaslar ise tensör timpani kası ve stapes kasıdır. Tensör timpani kası kasıldığı zaman manibriumu içe çekerek kulak zarını gerer. Stapes kas tendonu, eminentia pyramidalis'den çıkar ve stapesin boynuna ya da başına yapışır. Stapes kası fasiyal sinir tarafından innerve edilir ve kasıldığında stapes tabanının ön tarafını laterale çeker ve yüksek şiddetteki seslerde tabanı fikse ederek iç kulağı zararlı seslerden korur.

Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlayan ve nazofarenkse doğru anteroinferolateral seyir gösteren, huni şeklinde bir yapıdır. Östaki tüpünün açılıp kapanmasından m. tensör veli palatini, m. levator veli palatini ve m. salpingopharyngeus sorumludur (10).

#### **5.2.4 İç Kulak**

İç kulak, işitme ve denge ile ilgili reseptörlerin bulunduğu kısımdır ve temporal kemiğin petröz bölümünde yerleşmiştir (11). İşitme ve denge organlarını içerir. Yuvarlak ve oval pencere yoluyla orta kulağa bağlı olup koklear ve vestibüler akuaduktuslar yoluyla kafa içi yapıları ile bağlantılıdır. Kemik (osseöz) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki kısımdan oluşur (10, 11 ).



### **Kemik (Osseöz) Labirent:**

Kemik labirenti otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik dokusu oluşturur. Zar labirent bunun içinde yer almaktadır. Aralarında perilenf adı verilen sıvı bulunur. Kemik labirent şu kısımlardan oluşur: vestibulum, kemik semisirküler kanallar, koklea, aquaduktus vestibuli, aquaduktus koklea.

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

**2-Kemik Semisirküler Kanallar:** Superior (anterior), posterior ve lateral (horizontal) olmak üzere üç adet semisirküler kanal boşlukta üç ayrı düzleme yerleşmiştir ve vestibulum'a açılırlar (12, 9).

**3-Koklea:** İç kulağın ön kısmında bulunan ve şekli salyangoza benzeyen kemik bir tüptür. Modiolus, kanalis spiralis koklea ve lamina spiralis ossea'dan oluşur. **Modiolus**, kokleanın eksenini oluşturur. Modiolus içindeki ince kanallardan koklear damarlar ve VIII. kranial sinirin lifleri geçer. Bu kanalcıkların hepsi Rosenthall kanalına açılırlar. Bu kanalın içinde ganglion spirale olarak da adlandırılan Korti ganglionu bulunur. **Kanalis spiralis koklea**, modiulusun çevresini iki buçuk defa spiral olarak dolanan kemik bir yoldur. Bu yol, vestibulun ön alt kısmından başlar ve zirve veya kupula adı verilen kapalı bir uçla sonlanır. **Lamina spiralis ossea**, modiolustan uzanan kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak kanalis spiralis kokleayı skala vestibüli ve skala timpani olmak üzere iki parçaya böler. Vestibuluma açılan üst parçaya skala vestibuli, fenestra koklea aracılığıyla kavum timpaniye açılan alt parçaya skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema denilen delikle birleşir. Lamina spiralis ossea'nın serbest kenarı ile kanalis spiralis kokleanın dış yan duvarı arasındaki baziller membranın üzerinde, korti organı (organum spirale) adı verilen işitme organı yer alır.

**4-Aquaduktus Vestibuli:** Vestibulumun iç yan duvarından başlayıp petroz kemiğin fossa subarkuata denilen çukurunda sonlanır ve içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus bulunur.

**5-Aquaduktus Koklea:** Skala timpaniden başlayıp petroz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. İçinde duktus perilenfatikus ve v. kanalikuli koklea yer alır (12, 9).

### **Zar (Membranöz) Labirent:**

Zar labirent kemik labirentin içinde aynı şekli alır. Fakat tamamını doldurmaz yalnızca 1/3' lük kısmını doldurur. Zar labirent şu kısımlardan oluşur: utrikulus, sakkulus, duktus semisirkularis, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis, korti organı.

**1-Utrikulus:** Vestibulumun iç yan duvarındaki eliptikal reseste yer alır. İç yan duvarında yer alan makula utrikuli adı verilen kısımda denge hücreleri bulunur ve buradan n. utrikularis başlar. Utrikulusta duktus semisirkularis ve duktus utrikulosakkularis açıldığı delikler bulunur.

**2-Sakkulus:** Vestibulumun iç yan duvarındaki sferikal reseste bulunur. İç yan duvarında yer alan makula sakkuli adı verilen kısımda denge hücreleri vardır ve buradan n. sakkularis başlar. Sakkulusta bir tane duktus utrikulosakularis'e ait, bir tane de sakkulusu duktus koklearis'e bağlayan duktus reuniense ait iki açıklık vardır (12, 9).

**3-Duktus Semisirkularis:** Kemik semisirkuler kanalların içerisinde bulunurlar. 4/5'lik kısmı perilenf ile doludur. Membranöz kanalların ampullaları içerisinde krista ampullaris adı verilen kabarık bölgelerde duyu epiteli mevcuttur. Buralardan n. ampullaris anterior, n. ampullaris posterior ve n. ampullaris lateralis başlar. Her üç n. ampullaris daha sonra n. utrikularis ve n. sakkularis ile birleşerek n. vestibularis'i oluştururlar.

**4-Duktus Endolenfatikus:** Duktus utrikulosakkularis adlı kanalcıktan doğar. Aquaduktus vestibuli adlı kemik kanal içinde ilerler ve de fossa subarkuata'daki sakkus endolenfatikus adlı şişlikte dura mater altında sonlanır.

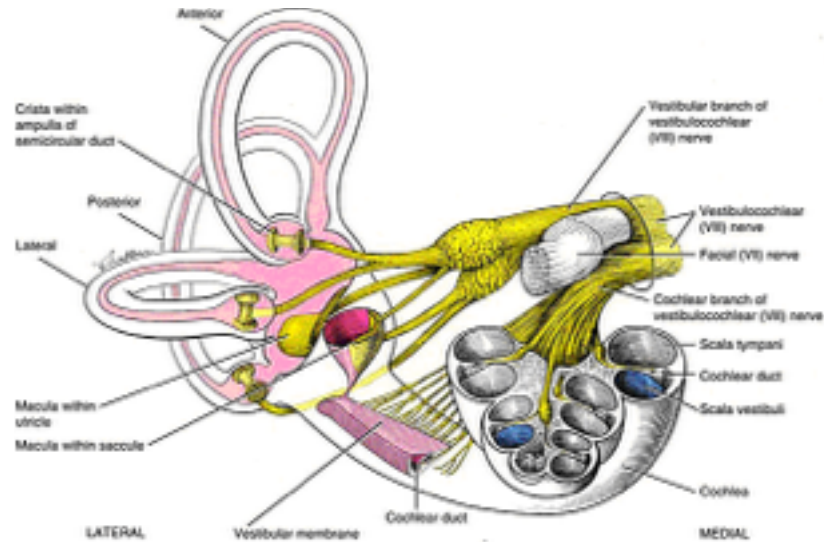
**5-Duktus Koklearis:** İki ucu kapalı üç yüzlü bir boru şeklinde olan duktus koklearisin tepesinde bulunan kör ucuna çekum kupulare, taban kısmındaki kör ucuna ise çekum vestibulare denir. Çekum vestibulareye yakın bölümünden çıkan duktus reuniens aracılığıyla sakkulusa bağlanır.

*Ligamentum spirale koklea:* Duktus koklearisin dış duvarını oluşturur. Lamina bazillarisin tutunduğu yerdeki çıkıntılı kenarına krista bazillaris; hemen yukarıdaki oluğa sulkus spiralis eksternus; bu oluşumu yukarıdan sınırlayan çıkıntıya prominenta spiralis denir.

*Reissner membranı (membrana vestibularis):* Duktus koklearisin üst duvarını oluşturur. Skala vestibuli ve skala mediyayı (duktus koklearis) birbirinden ayırır.

**6-Korti organı (organum spirale):** Baziller membranın iç kenarında dizilmiş nöroepitelyal yapıları içerir. İnsanda koklea içinde spiral boyunca boyu yaklaşık 35 mm civarındadır. Genişliği ise bazalden apeks doğru gidildikçe giderek artar. Tüylü hücrelerden (duyu hücreleri) ve destek hücrelerinden oluşur. İki tip tüylü hücre görülür: İç tüylü ve dış tüylü hücreler. İç tüylü hücreler basık ve bulböz yapıdadır, genelde tek sıra halinde yerleşim gösterirler. İç tüylü hücrelerin tüycükleri tectorial membran ile temas etmemektedir (12). Dış tüylü hücreler ise silindirik yapıda olup nükleusları bazal olarak yerleşim göstermektedirler. Üç - dört sıralı hücreler halinde bulunur. Bu hücrelerin tüycükleri karakteristik olarak "W" şeklinde izlenir ve tektoriyal membranla temas etmektedirler. Tüycükleri 46 – 148 adet sterosilyadan oluşur. Dış tüylü hücrelerin uzunluklarında kokleanın bazalinden apeksine doğru gidildikçe artış olur. Kokleadan beyine giden afferent sinirlerin %90 - %95'i iç tüylü hücrelerden kaynaklanır. Buna karşılık kokleanın efferent innervasyonunun %80' i dış tüylü hücrelerde sonlanır. Dış tüylü hücrelere gelen afferent lifler total koklear afferent innervasyonunun % 5 – 10' unu yapar ve korti organı içinde belirgin şekilde dallara ayrılırlar. Böylece tek bir nöron birden fazla dış tüylü hücre ile sinaps yapar.

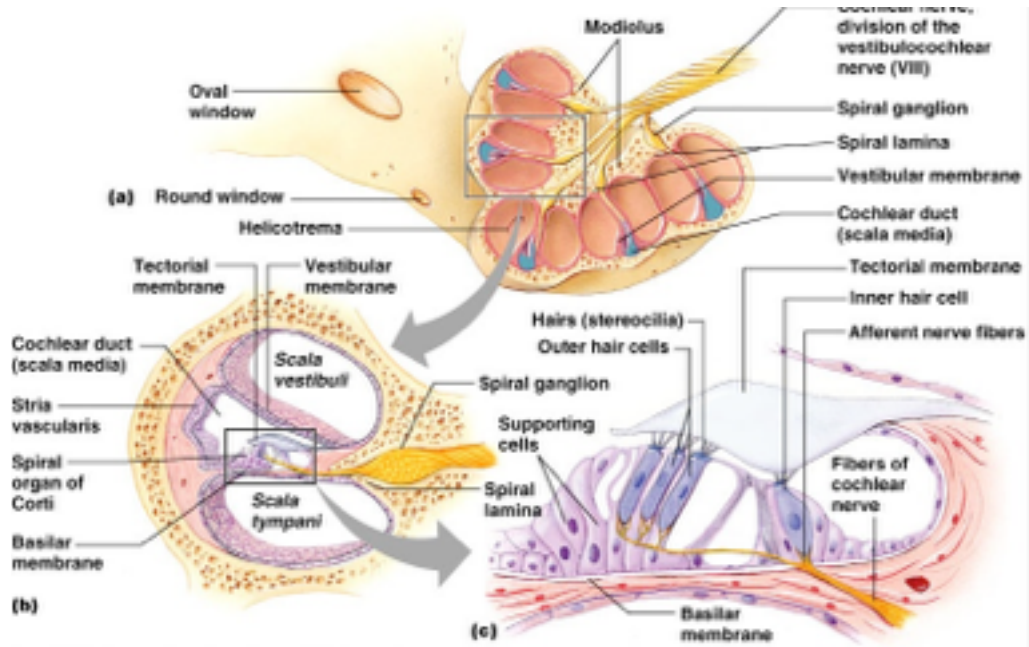
Tüylü hücreler birbirlerinden destek hücreleri aracılığı ile ayrılırlar. Dış tüylü hücreler arasındaki Deiter hücreleri birbirleri ile temas eden hücre gövdelerine sahiptirler ve baziller membran üzerinde yerleşmişlerdir. Dış tüylü hücreler ve iç tüylü hücreler birbirlerinden dış ve iç pillar hücreler aracılığı ile ayrılırlar. Bu hücrelerin parmakçı çıkıntıları ise Korti tüneline oluşturur. Dış tüylü hücrelerin daha dış kısmında yer alan hücrelere Hensen hücreleri denir. Baziller membran korti organının üzerinde bulunduğu yapıdır. Bir ara madde içinde filamanlardan oluşmuş ağırlıklı olarak ekstraselüler matriks yapısında bir tabakadan meydana gelmiştir. Tektoriyal membran korti organının üzerine uzanan ekstraselüler matriks materyali tabakasıdır. Koklear sarmalın iç kenarında spiral limbusun interdental hücrelerine yapışık fakat dış kenarda korti organının yüzeyine yapışık değildir. Stria vaskularis, skala medianın lateral duvarını döşer. Temel olarak 3 hücre tipi (marjinal, intermediate, ve bazal hücreler ) içerir. Marjinal hücreler stria vaskularisin temel fonksiyonel birimidir ve pozitif endokoklear potansiyel üretir, koklear endolenfin düşük sodyum, yüksek potasyum iyon konsantrasyonunun sürdürülmesini sağlar. Çok sayıda  $Na^+/K^+$  ATPaz içeren büyük mitokondrilere sahiptir.



Şekil 3. İç Kulak Yapıları

**İç Kulak Sinirleri:** Bipolar afferent sinirlerin hücre gövdeleri Rosenthal kanalındaki spiral ganglionu oluşturur. Lifler kendi myelin tabakalarını kaybettiği yer olan habenula perforata yoluyla kemik spiral laminadan Corti organına geçerler. Dış tüylü hücreleri için olan lifler, Deiters hücreleri arasındaki üç grup içerisinde olan spiral ve baziller membran boyunca kortinin tüneline geçerler.

**İç Kulağın Damarları:** Labirentin arter, çoğunlukla A. cerebelli anterior inferior'dan ayrılır ve labirenti kanlandırır. Vestibüler ve koklear olmak üzere ikiye ayrılır. Vestibulokoklear ve koklear arter, koklear kanalın lateral duvarında stria vaskularis ve spiral laminada kapiller ağ oluşturularak sonlanır. Koklear arter apekse doğru ilerlerken spiral modiyolar arter adını alır. Bu arter bir end arterdir ve obstrüksiyonları sağırlığa yol açabilmesinden dolayı önemlidir. İç kulağın venöz dönüşü arterlerle birlikte seyreden yandaş venlerin birleşmesi yolu ile oluşan v. labirentika ile olur. Bu da sinüs petrosus superior ve inferior, sinüs transversus ve v. jugularis interna'ya dökülür.



Şekil 4. Kokleanın kesiti (quizlet.com)

## 5.3 İŞİTME FİZYOLOJİSİ

### 5.3.1 Ses Dalgası ve Özellikleri

Ses enerjisi bir titreşimdir. Yayıldığı ortam moleküllerinin ardışık olarak sıkışmasına ve gevşemesine neden olur. Ses dalgalarının hızı, yayıldığı ortamın yapısına göre değişir. Katı ortamlarda en hızlı, gaz ortamlarda ise en düşük hızla yayılır. Sıvı ortamlarda yayılma hızı ise ikisinin ortasındadır. Deniz seviyesinde 20°C sıcaklıktaki hava tabakasında sesin hızı 344 m/sn olarak bulunmuştur. Sıvı ortamlarda ise havaya göre 4 kat hızlı olarak yayılır (1437 m/sn). Kemikte ise yayılma hızı 3013 m/sn olarak bulunmuştur. Sesin saniyedeki titreşim sayısına sesin frekansı, tonu ya da perdesi denir. Sesin frekansı saniyedeki titreşim sayısı, Hertz (Hz) ile ifade edilir. İnsan kulağı 16 – 20000 Hz aralarında sesleri duyar. Sesin şiddet birimi desibeldir (dB) ve insan kulağı tarafından duyulan en küçük ses şiddeti 20 dB olarak tanımlanır. Bir ortamın ses dalgalarının yayılmasına gösterdiği dirence akustik direnç ya da empedans denmektedir. Empedans, ortam moleküllerinin yoğunluğu ve esnekliği ile orantılıdır. Ses dalgaları ortam değiştirirken her iki ortamın empedansı birbirine ne kadar yakın ise yeni ortama geçen enerji miktarı da o kadar fazla olur (13).

### İşitme

İşitme başın çevresinde oluşan ses dalgalarının dış kulak, orta kulak ve iç kulak aracılığı ile beyin sapından geçip korteksteki işitme merkezi tarafından algılanmasıdır. İşitme bir kaç aşamada gerçekleşmektedir.

### 5.3.2 Hava yolu ile işitme

Aurikula ve dış kulak yolu sesin iletilmesinde rol oynarlar. Aurikula ses dalgalarının toplanmasında, dış kulak yolu ise bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde rol oynar. Ses enerjisi bu yolda ilerlerken amplifiye edilerek kulak zarına iletilir. Kulak yolunun rezonans frekansı olan 3000 - 4000 Hz'lerde bu amplifikasyon en yüksek düzeye özellikle 4000 Hz'de 12 dB'e ulaşır. Kulak zarı dış

kulak yolundan gelen ses dalgalarını kulak kemikçikleri aracılığı ile oval pencereye iletirken, bu ses dalgalarının yuvarlak pencereye de ulaşmasını engeller. Ses enerjisinin gaz ortamından sıvı ortama iletilmesi belli bir oranda enerji kaybına yol açar. Havadan suya geçen ses enerjisi ortalama 30 dB kayıp verir. Sesin orta kulaktan iç kulağa iletilmesinde de aynı ortamlar bulunmakta, aynı enerji kaybı iç kulağa geçişte de meydana gelmektedir. Kulak zarı ve kemikçiklerin en önemli görevi hava ortamından sıvı ortama geçişi ve iç kulak sıvılarının akustik direncinden oluşan enerji kaybını karşılamaktır. İleri sürülen görüşe göre:

1. Malleus ve inkus arasındaki kaldıraç şeklindeki eklemin özelliği, malleus kolundaki işitsel enerjinin inkus koluna 1.3 kat fazla olarak aktarılmasına imkan sağlamaktadır.

2. Kulak zarının titreşen bölümlerinin genişliği ile stapes tabanı arasında çeşitli araştırmacılara göre 1/15 ile 1/20 değişen oranda fark vardır ( Zarin titreşen alanı 55 mm<sup>2</sup>, stapesin tabanı 3.2 mm<sup>2</sup> dir). Böylece kulak zarındaki ses enerjisi, kemikçik zincirinin kaldıraç etkisi ve zarın aktif bölgeleri ile stapes tabanı arasındaki farkın oluşturduğu hidrolik etki sonucu iç kulağa yaklaşık 22 kat daha arttırılmış olarak iletilir. Bu değer ses basıncındaki artış oranı olup, desibel olarak hesaplanırsa 24 dB'e karşılıktır (12).

### **5.3.3 Kemik yolu ile işitme**

Kemik iletimi ile ilgili çalışmalar hava iletimi ile karşılaştırıldığında oldukça kısıtlıdır. Her ne kadar kemik aracılı işitme ile ilgili bilgiler tam anlaşılmiş olmasa da 2005 yılında Stenfelt ve arkadaşlarının yayınladığı bir yazıda kemik iletimli işitme ile ilgili beş ayrı mekanizma tariflenmiştir (14) ;

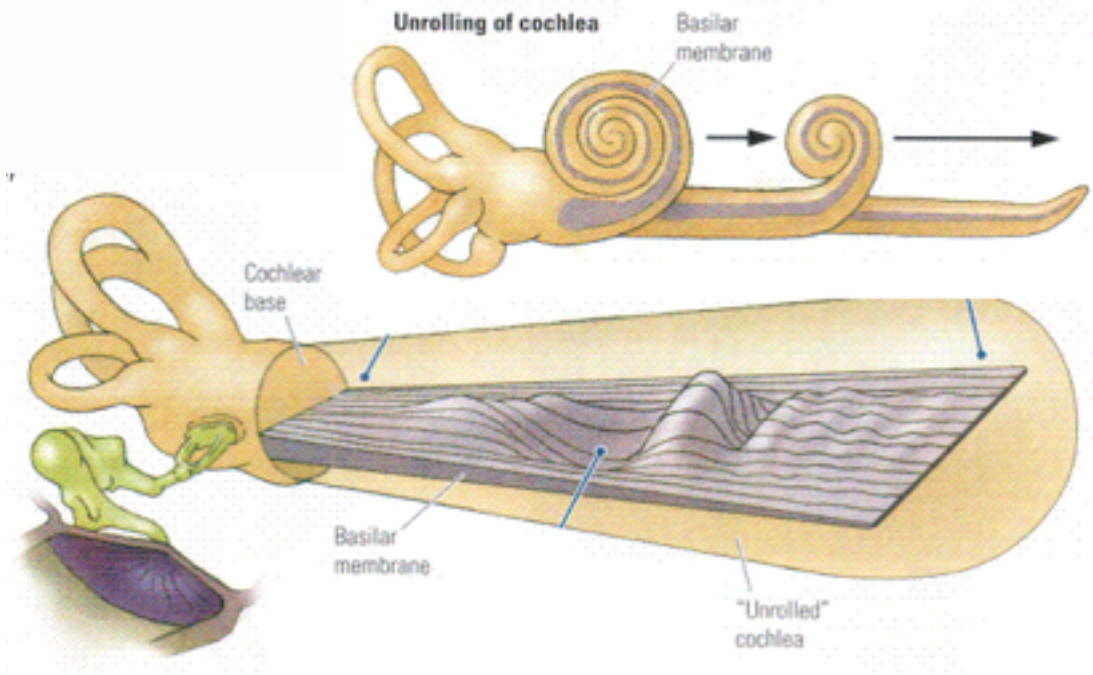
- 1) *Dış kulak yolu ile iletim:* Bu yolla ses iletiminde ses dalgaları dış kulak yolu kemik ve kıkırdak parçalarında vibrasyon oluşturmakta ve oluşan vibrasyon timpanik membran ve kemikçik zincir yardımıyla kokleaya iletilmektedir.

- 2) *Kemikçik zincir yolu ile iletim:* Orta kulak kemikçiklerinin eylemsizliği nedeniyle kafatasının vibrasyonu kemikçiklerde “penduling ossicles” e neden olur. Bu kemikçik hareketi oval pencere yardımıyla kokleaya iletilmektedir. Bu etki özellikle 1-2 kHz de oluşur ve oval pencere kaynaklı patolojilerde Carhart çentiğinin nedenidir (15).
- 3) *Koklear sıvıların eylemsizliği:* Bu mekanizmada kafatası ses dalgaları ile titreştiğinde iç kulak sıvılarında da bir titreşim oluşmakta ve kokleadaki oval ve yuvarlak pencere gibi iki hareketli pencere sayesinde bir pencereden diğerine sıvı hareketi gerçekleşmektedir. Bu da hava yolu ile iletimde olduğu gibi basiller membranda horizontal bir hareket oluşturarak işitmeyi sağlamaktadır. Zwislocki, Bekesy, Tondorff ve Namkeun’un farklı zamanlarda yaptıkları çalışmalarda hava yolu veya kemik yolu ile iletimde oluşan bazillar membran hareket paterninin birbirinden farksız olduğu gösterilmiştir (15, 16)
- 4) *Koklear duvarların kompresyonu:* İç kulak sıvılarını saran kemik titreşmeye başladığında sıvı kompartmanları da komprese olacaktır. Skala vestibüli skala timpaniye göre daha büyük olduğundan bu bası durumunda sıvı ve basiller membran hareket edecek ve işitme sağlanacaktır. Bu etkinin özellikle 4-5 kHz de etkin olduğu düşünülmektedir.
- 5) *Beyin omurilik sıvısı aracılı iletim:* Bu mekanizmada ise kafatası vibrasyonunun oluşması durumunda BOS da oluşan titreşimin koklear akuadukt yardımıyla kokleaya iletilmesi ve bu yolla oluşan perilenf hareketi sayesinde işitmenin sağlandığı düşünülmektedir.



### 5.3.4 Koklea Fizyolojisi

Hava yolu veya kemik iletim yolları ile skala vestibuliye dolayısıyla kokleaya iletilen ses enerjisi ilk olarak perilenfi harekete geçirir. Bu safhadan sonra kokleanın iki önemli görevi başlar. Bunlardan birincisi iletimdir (kondüksiyon), yani akustik enerjinin korti organındaki tüy hücrelerine kadar taşınmasıdır. İkincisi ise dönüşümdür (transdüksiyon). Transdüksiyon, korti organındaki tüy hücrelerinin gelen mekanik iletim dalgasını kimyasal ve elektriksel gerilimlere dönüştürülüp, işitme sinirine iletilmesi olayıdır (12). Bu dönüşüm sesin perdesi, tını, faz ayırımı, şiddeti gibi fiziksel özelliklerinin kaybolmayacağı bir biçimde olup, ses enerjisindeki bu özellikler, oluşacak elektriksel gerilimlerle şifrelenerek santral sinir sistemine gönderilir. Kokleadaki ses dalgalarının yayılımı çeşitli teorilerle açıklanmaktadır: Bekesy' ye göre skalalardan herhangi birine uygulanan işitsel titreşimler baziller membranda yer değişimlerine yol açmaktadır. Bu durum "travelling wave" ilerleyen dalga teorisi olarak adlandırılır. Bu dalga baziller membranın bazal ucundan başlayarak apekse doğru ilerler. Yine bu iletim dalgasının en büyük özelliği de amplitüdünün gittikçe artarak maksimuma ulaşması ve titreşimlerin daha sonra sönerek faz değiştirmesidir. En büyük amplitüt ile titreşen bölge, yüksek frekanslarda bazal bölgede yani oval pencereye yakındır. İşitsel enerjinin frekansı düştükçe baziler membranın en çok titreşen bölgesi kokleanın apeksine yaklaşır. Baziler membranın hareketi ile tektoriyal membran ve tüy hücrelerinin uyarıldıkları ileri sürülmektedir. İlerleyen dalga teorisi bugün için akla en yakın olan ve üzerinde pek çok araştırmacının uzlaştığı teoridir.



**Şekil 5.** İlerleyen dalga teorisi

(<http://www.cs.indiana.edu/~port/teach/641/hearing.for.linguists.html>)

Korti organında yaklaşık 3500 adet iç tüylü hücre, 12.000 adet dış tüylü hücre bulunmaktadır. Tüy hücrelerinin tabanları ve kenarları koklear sinir uçlarının yaptığı bir ağ ile sinaps yapmaktadır. Bu sinir sonlanmalarının % 90 – 95’ i iç tüy hücreleri üzerinde sonlanmaktadır (17). Tektoriyal membran ile tüy hücrelerinin sürtünmeleri sonucunda oluşan elektriksel kutuplaşmalar, tüy hücrelerinin uyarılmasına yol açar. Uyarım sonucu meydana gelen enerji yolu ile sinir uçları uyarılmış olur.

Kokleada 4 ayrı tip potansiyel bulunur :

1. *İstirahat Potansiyeli* : Koklea uyarılmadığı zaman bile mevcuttur.
2. *Koklear Mikrofonik*: Tüy hücrelerinin fiziksel uyarılmaları sonucu ortaya çıkar.
3. *Aksiyon Potansiyelleri*: İşitsel uyarın iç kulaktaki iletim dalgasından sonra elektriksel gerilimlere dönüşür ve işitme sinir liflerinin bir grubunda aksiyon potansiyelleri oluşur.

4. *Birikim Potansiyelleri:* Bu potansiyeller koklea içerisinde ses iletim dalgasının en büyük olduğu bölgeden elde edilirler (12).

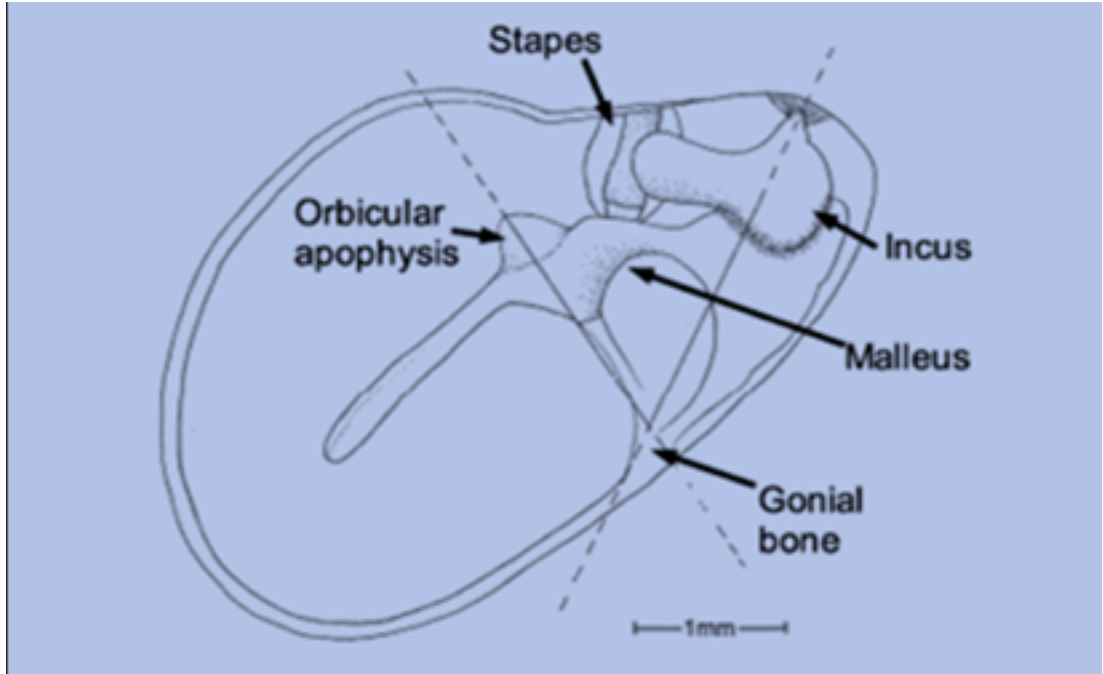
Tüy hücreleri ile temasta bulunan sinir liflerinin sayısı tüy hücrelerinin 2 katı kadardır. Bu aksonların hücre gövdesi kokleanın içinde bulunan spiral ganglionlardır. Her spiral ganglion hücresi korti organına kısa reseptör lifler, beyin sapındaki koklear nükleuslara ise uzun sinir lifleri gönderirler (bipolar hücreler). Biplar hücrelerin santral uzantıları bir araya gelerek işitme sinirini meydana getirirler. Bu sinir denge siniri ile beraber sulkus pontobulbarisin dış kısmından ponsa girer. İşitme siniri ponsa girdikten sonra işitme yollarının 2. nöronlarının bulunduğu ventral ve dorsal koklear nükleuslara dallar gönderirler. Koklear nükleusu terkeden bütün 2. nöronlar orta hattan karşı tarafa geçip o taraftaki superior olivar kompleksde sonlanırlar veya lateral lemniscus ve bunun nükleusunu oluştururlar. Lemniscal yoldaki liflerin en fazla miktarı inferior kollikulusta son bulur. Çok az bir kısmı inferior kollikulusu geçerek medial genikulat body'e ulaşır. Pek az bir kısmı da karşı taraftaki inferior kollikulusa ulaşır. İnférieur kollikulus algısal analizlerden ziyade işitsel refleks aktivitelerinde rol oynamaktadır. Medial genikulat body'nin temel nüleusundan çıkan 3. nöron lifleri belirli bir düzende temporal kortekse gelirler. Primer işitme alanına (Gyri Temporales Transversi veya Heschel) gelen liflerin hemen hemen hepsi nükleusun anterior kısmından gelir (12).

#### 5.4 SIÇAN KULAĞI ANATOMİSİ

Sıçan orta kulağı insan orta kulağındaki tüm anatomik yapıları içerir. Tahmin edileceği üzere, sıçandaki kemikçikler insandakilere göre çok daha küçük olup yaklaşık insan kemikçiklerinin çeyrek kadarı boyutundadır (18). Sıçan orta kulak morfolojisi, Fleischer tarafından (1978) mikrotip organizasyon ortaya konularak tanımlanmıştır. İki ayırt edici özelliği vardır:

- 1) Malleus, gonial bone bölgesinde timpanik anulusa yapışıktır.
- 2) Malleus başı üzerinde orbiküler apofiz olarak adlandırılan geniş bir bölge vardır.

Sıçanlarda timpanik membran yalnızca ~11 mm<sup>2</sup> dir (19). Pars tensa ve pars flaksidanın boyutları insandan farklıdır. Sıçanlarda pars flaksida timpanik membranın 1/4 ila 1/3'ünü oluşturur.



**Şekil 6.** Sıçan Kulağı Anatomisi (39)

**Denge Organı:** Diğer memelilerde olduğu gibi, denge organı osseoz labirentle çevrelenen membranöz labirenti içerir. Anterior semisirküler labirentin dorsolaterali gösteren verteksi 7.0 mm uzunluğa (krus commune 1,3 mm) ve 0,21 mm genişliğe sahiptir. Ampullası 0,83 mm uzunluk, 0,61 mm genişliğindedir. Kanal sagittal düzlemde 27,2°, transvers düzlemde 52,7° açı yapar. Kanalı laterale yönlünen posterior semisirküler kanalın verteksi 6,0 mm uzunluğunda ve 0,22 mm genişliğindedir. Ampullası 0,83 mm uzunluğunda ve 0,6 mm genişliğindedir. Krista ampullarisin serbest kenarı kaudodorsal yönündedir. Kanalın düzlemi sagittal düzlemde 27,6° ve transvers düzlemle, 60,7° açı yapar (20).

Lateral semisirküler kanal laterale kıvrılır; uzunluğu 6,1 mm, genişliği 0,22 mm'dir. Ampullası 0,79 mm uzunluğunda, 0,55 mm genişliğindedir. Cristanın serbest kenarı kaudale yönelir. Horizontal düzlemle (oksipital kemiğin pars horizontalisi)

kanal 28,4° açı yapar. Lateral semisirküler kanalın nonampuller ucu kommunikasyonu sağlamak için posterior kanalın ampuller ucu ucuna ulaşır ve birleşir.

Anterior ve posterior semisirküler kanallar 102,3°'lik bir açı oluştururlar, bu açı anterior ve lateral kanallar arasında 89,7°, posterior ve lateral kanal arasında 89,8°'dir. Utrikulus, bir tarafta anterior ve lateral kanalın ampullasının diğer tarafta commune krusun ve posterior kanalın ampullasının arasında iç şeklinde vesikül (kese) gibi yerleşmiştir. Onun uzun eksenini 1,3 mm, vertikal çapı 0,71 mm, horizontal çapı 0,4 mm'dir. Kaudal bölümün medial duvarından (makula utrikulusun yaklaşık 120-150µ arkasından), endolenfatik kanal (endolenfatik kese ile birlikte 3,3 mm uzunluğunda) çıkar. Aquaductus vestibüli dorsale ve mediale ilerler. Bir valvle desteklenen orjine yakın bölgeden, sakkulusa doğru ventromedial yönde ilerleyen ductus utrikulosakkularisi oluşturur. Makula utrikuli 0,6 mm uzunluğu ve 0,51 mm genişliğiyle neredeyse sferik (küre) şeklindedir. Utrikulusun ventrolateral duvarında lokalizedir. Yüzeyi dorsomediale yönlenmiştir. Sacculus, laterale doğru yassılaştırılmıştır ve kross kesitte üçgen şeklindedir. Yüksekliği 0,95 mm, horizontal uzunluğu 0,44 mm'dir. Duktus reuniens 1mm uzunluğundadır. Kıvrık yüzeyi esasen laterale yönlenir. Uzunluğu 0,6 mm, genişliği 0,48 mm'dir (20).

**İşitme Organı:** Kokleanın eksenini daire tam olarak sagittal ve horizontal düzlemde yerleşmiştir. Koklea tarafında yapılan dönüş sayısı 21/4 veya 21/2 olarak belirlenmiştir. Koklear kanalın uzunluğu 12,16 mm'dir. Membranöz kokleanın yapısı diğer memeliler gibidir (20).

## 5.5 SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNE BAĞLI İŞİTME KAYIPLARI

Sisplatin (cis-diaminkloroplatinum II) baş boyunun malign tümörlerinde özellikle skuamöz hücreli karsinomlarda sıklıkla kullanılan etkili bir alkali kemoterapötik ajandır. Çoğunlukla çocuklarda ve gençlerde kullanılır. 1945'lerde Peyrone tarafından sentezlenmesine rağmen 1960'ların sonlarında baş boyun,

akciğer, mesane, servikal, over, testiküler ve gastrointestinal kanserlerde ayrıca malign glioma ve metastatik kanserlerde terapötik amaçlı onkoloji kliniklerinde kullanılmaya başlanmıştır (2). Ototoksisite ve nefrotoksisite ve nörotoksisite sisplatinin doz bağımlı majör yan etkileridir (21) . Nefrotoksisite riskini diürez ve iv hidrasyonla azaltabiliyorken ototoksisiteyi önlediği insanlar üzerinde gösterilmiş herhangi bir yöntem henüz bulunamamıştır. Ototoksisite üzerine yapılan çalışmalar hayvan deneyleri ile sınırlı kalmıştır (3). Ototoksisiteye bağılı bilateral simetrik irreversible ve sensörinöral bir işitme kaybı oluşur. İşitme kaybı öncelikle yüksek frekanslarda başlamakla birlikte doz miktarına bağılı olarak konuşma frekanslarını da etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda sisplatin kullanılan hastaların ortalama %62'sinde sensörinöral işitme kaybı geliştiği görülmüştür. Bu oran %11 ile %97 arasında değişmektedir (2). Ototoksisite sisplatin uygulamasından sonra saatler ya da günler içinde gerçekleşebilir. Özellikle verilen sisplatinin toplam dozu 300mg'ı aştığı zaman ototoksisite riskinin arttığı görülmüştür. Ayrıca hipoalbuminemi, anemi, çok genç(<5) ya da ileri yaş, böbrek yetmezliği, radyoterapi öyküsü ototoksisite riskini artıran genetik olmayan diğer faktörlerdir (21). Son zamanlarda megalin ve gulutasyon S-transferaz gen polimorfizmin genetik birer risk faktörü olduğu anlaşılmıştır (22). Kirkim G. Ve arkadaşlarının 2014 te hayvanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada dişilerin erkeklere göre ototoksisiteden daha fazla etkilendiği bulunmuştur (22). Bu çalışmada cinsiyet de bir risk faktörü olabilir mi sorusunu akıllara getirmektedir. Kanser tedavisi için birden fazla sisplatin uygulaması gerekebilir bunun için de sisplatinin antitümöral mekanizmalarını etkilemeden yan etkilerin önlenmesi ya da tedavi edilmesi gerekir (2). Bunun içinde günümüze kadar birçok çalışma yapılmıştır halen de yapılmaktadır.

Koruyucu ya da tedavi edici bir yöntem belirleyebilmek için öncelikle sisplatinin ototoksisite mekanizmalarını bilmek gerekir. Felician ve Silviu<sup>2</sup> yayınladıkları derlemede bu mekanizmaları hücresel düzeyde ve moleküler düzeyde olmak üzere iki ana başlık altında sınıflandırmışlardır.

Hücresel düzeydeki mekanizmalar:

- 1) Dış saçlı hücre hasarı: Sisplatin ilk olarak kokleanın bazal kısmındaki dış saçlı hücreleri etkiler. Bunu takiben hücre hasarı kokleanın apeksine ve iç saçlı hücrelere doğru yayılmaya başlar.
- 2) Destek hücre hasarı
- 3) Stria vasküleriste marjinal hücre hasarı; Stria vasküleristeki bu hasarlanma sonucu potasyumun geri alımı ve sekresyonu bozuluyor.
- 4) Spiral ligament hasarı
- 5) Spiral ganglion hücre hasarı

Moleküler düzeydeki mekanizmalar:

- 1) Reaktif oksijen radikali artışı: Sisplatinin etkisi ile salgılanan NADP oksidaz 3 (NAX3) serbest oksijen radikalleri artışı ile aktive oluyor.
- 2) Glutasyon ve antioksidan enzimlerin azalması: Koklear dokular oluşan oksidatif strese glutasyon, glutasyon reduktaz, superoksit dismutaz ve katalaz enzimleri ile korunmaya çalışıyor.
- 3) Lipit peroksidasyon artışı
- 4) Proteinlerin oksidatif modifikasyonları
- 5) Caspas aktivasyonu ile nükleik asit hasarı
- 6) Koklear proteinlerin S-Nitrosilasyonu

Bu mekanizmalar sonucunda işitme kaybının ortaya çıktığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. İşitme kaybı öncelikle kokleanın bazal kıvrımı etkilendiği için yüksek frekanslarda başlar sisplatinin verilen doz miktarı arttıkça (>100mg/m<sup>2</sup>)

da kokleadaki hasar apekse doğru ilerler ve orta frekanslarda da işitme kaybı ortaya çıkar (2).

Bu hasar mekanizmaları üzerinden çeşitli tedavi modaliteleri denenmiştir. Uygulanacak tedavinin hem sisplatinin antitümoral etkisini bozmaması hem de insanlar üzerinde uygulandığında toksik yan etkilerinin olmaması gerekir. Bunun için sistemik tedavi ile iç kulağa yeterli miktarda geçişin sağlanamadığı ajanlar intratimpanik yolla uygulanmışlardır. Bu tedavi yöntemlerinin bazıları ototoksisiteden korumak bazıları da ototoksisiteyi düzeltmek amacıyla uygulanmıştır. Yapılan araştırmaların bazıları sadece hayvan deneyleriyle sınırlı kalmış bazıları ise klinik uygulamalar ile desteklenmiştir.

#### *DeneySEL uygulamalar;*

- **Hiperbarik oksijen tedavisi:** ototoksisiteye bağlı koruyucu etkinliği gösterilmiş
- **Epigallocatechin gallate (EGCG):** STAT1 üzerinden hücre apoptozunu engelliyor. Fakat STAT1 olmayan farelerde etkisi gösterilememiştir (23).
- **İnatimpanik laktat:** Dış saçlı hücrelerin mitokondrilerindeki laktat dehidrogenaz enzimini aktive ederek antioksidan bir molekül olan NADH oluşumunu sağlıyor. Yapılan çalışmalarda intratimpanik laktat enjeksiyonu sonrası yüksek frekanslarda anlamlı bir düzelme olmadığı görülmüştür.
- **İnatimpanik N-asetilsistein:** yapılan çalışmanın sonuçlarına göre intratimpanik uygulanan N-asetilsisteinin sisplatinin antitümoral etkisini bozmadan ototoksisiteye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir.
- **Thiamin pirofosfat (TPP):** Glutasyon reduktaz, glutasyon peroksidaz ve superoksit dismutaz aktive ederek malonildialdehit oluşumunu azaltıyor ve böylece lipit peroksidasyonunu azaltarak antioksidan etki gösteriyor (24).



- **Oral sertralin:** Nöroprotektif etkisi olan bir antidepresan, antiapoptotik proteinleri arttırarak etki gösteriyor. Yapılan çalışmada 5000Hz üzerindeki frekanslarda koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (25).
- **Memantin:** Korti organındaki glutamat N-Methyl-D-Aspartat reseptörlerini bloke ederek koklea dejenerasyonunu sağlayan kalsiyum iyon geçişini engelliyor. Yapılan çalışmada sisplatin ototoksitesine karşı koruyuculuğunun steroidler ile aynı olduğu gösterilmiştir (26).
- **Sodyum butirat:** Tek doz sisplatin uygulanan hayvanlarda koruyucu etkisi gösterilmiş.(2)
- **Short interfering RNA:** NOX3 sentezini azaltarak kohleada antioksidan etki gösterir ve inflamasyonu baskılar (27).
- **Minocyclin:** Kaspaz 1 ve Kaspaz 3 inhibisyonu yaparak antiapoptotik etki gösterir. Fakat yapılan hücre kültürlerinde yüksek dozdaki sisplatinin etkilerine karşı koruyucu olmadığı bulunmuştur (2).
- **Erdostein:** Thiol bileşiklerindedir.
- **İntratimpanik deksametazon:** Deksametazon ile ilgili çok fazla çalışma yapılmış olup en iyi uygulama yolunun intratimpanik yol olduğu görülmüştür. İşitme testlerinde ve histolojik incelemelerde sisplatin ototoksitesine karşı koruyuculuğu gösterilmiştir (21).
- **Rosmarinic asit:** Caspas 1 inhibisyonu yapar.
- **Maytenus ilicifolia:** Güney Amerika’da yetişen antioksidan bir bitkidir (2).
- **Resveratrol:** Üzüm kabuğunda ve tohumlarında bulunan antioksidan nöroprotektif bir madde. İn vitro yapılan çalışmalarda düşük dozda kullanıldığında sitotoksiteye karşı koruyucu, yüksek dozlarda ise kendisinin de sitotoksik olduğu görülmüştür (28).
- **Alfa lipoik asit:** Yapılan çalışmada intratimpanik olarak uygulanmış ALA sisplatin uygulanmamış hayvanlarda başlangıç DPOAE değerlerine göre

belirli frekanslarda iyileşme saptanmış fakat sisplatin+ ALA verilen grupta ototoksisiteyi engelleyici bir etkisi görülememiştir (3).

- **Rapamycin:** Karaciğer transplantasyonundan sonra kullanılan immunsupresan bir ilaçtır. Hücrelerde otofajiyi aktive ederek zararlı yapılardan korunmalarını sağlıyor. Rapamycin uygulanan farelerde sisplatinle bağlı oluşan saçlı hücre hasarının azaldığı histolojik olarak gösterilmiştir (29).
- **Dimetil sulfoksit (DMSO):** intratimpanik olarak uygulanmış. Fakat kontrol grubuna göre ototoksisiteyi engellemede anlamlı bir fark bulunamamış (30).
- **Bucillamin:** Romatoid artritte kullanılan düşük molekül ağırlıklı bir thiol bileşiğidir. Bucillaminin ototoksisiteye karşı koruyucu etkisi farelerde hem işitme testlerinde hem de histolojik incelemelerde gösterilmiştir (31).
- **Ginkgolide B:** Gingko biloba'nın bir bileşiğidir. Yapılan çalışmada mitekondrial apoptozu inhibe ederek sisplatin ototoksisitesini önleyebileceği gösterilmiştir.(32) Bunu da NOX2 ve Nrf2 inhibisyonu yaparak sağlıyor. Başka bir çalışmada GB'nın koklear hücreler arasındaki gap junction'ları koruyarak hücre hasarını önleyebileceği öne sürülmüştür (33).
- **Caffeic asit:** Balda bulunan ve doğal antioksidan olan polifenol bileşiğidir. Yapılan çalışmada hem SOR oluşumunu azaltarak hem de caspas 3 ve 8 inhibisyonu yaparak apoptozu ve saçlı hücre hasarını önlediği gösterilmiştir (34).
- **Asetil-L-Karnitin:** Esansiyel yağ asitlerinin mitokondriye giriş çıkışında rol alan doğal bir bileşiktir. İn vivo yapılan çalışmada glutatyon seviyelerini ve lipid peroksidasyonunu azaltarak ototoksisiteye karşı koruyuculuğu gösterilmiştir (35).
- **Edaravone:** Zebrafish'lerde yapılan bir çalışmada sisplatin ototoksisitesine karşı koruyuculuğu gösterilmiş fakat memelilerde yapılan henüz bir çalışma yok (36).

- **Metformin:** Yapılan çalışmada intraselüler kalsiyum seviyelerini düşürerek SOR oluşumunu azalttığı ve apoptozu önlediği öne sürülmüştür. Metformin aynı zamanda antikanser etkinliği bilinen antidiabetik bir ilaçtır (37).

*Klinik uygulamalar;*

- **İntratimpanik deksametazon**
- **Transtimpanik L-N-asetilsistein**
- **Thiol bileşikleri**
- **Amifostine:** Klinikteki uygulamalarında yüksek doz karboplatin tedavisi alan bir çocukta hematolojik toksisiteye sebep olmuştur. Pediatrik hastalarda ototoksisiteye karşı koruyuculuğu olmadığı gösterilmiş (2).

Bu çalışmaların sonucuna göre etkin görülen tedavileri profilaktik ve törapatik olarak iki grupta sınıflandırıp özetleyebiliriz;

*Profilaktik tedaviler:*

- 1) Hipoalbumineminin, aneminin ve böbrek yetmezliğinin düzeltilmesi
- 2) Intratimpanik deksametazon uygulanması
- 3) Transtimpanik L-N-asetilsistein uygulanması
- 4) Resveratrol

*Törapatik tedaviler:*

- 1) Thiol bileşikleri
- 2) Sertralin

### 3) Hiperbarik oksijen tedavisi

Bunların dışında gen tedavileri üzerindeki çalışmalar halen devam etmektedir.

## **5.6 OTOAKUSTİK EMİSYONLAR**

Otoakustik emisyonlar (OAE), insanların ve hayvanların dış kulak yolundan tespit edilebilen, koklear kaynaklı, hafif şiddette akustik enerji yayılımlarıdır. OAE'lar perinöral bir olay olup, stapes tabanı ile afferent koklear sinir liflerinin sinapsları arasında meydana gelir. Oluşumunda, dış titreşim tüylü hücrelerin önemli rolleri olduğuna dair birçok kanıt mevcuttur. İşitme kaybının olduğu frekanslarda emisyonların saptanmayıp, işitmenin normal olduğu frekanslarda emisyonun saptanması, OAE'ların koklear orijinli olduğunu gösteren bulgulardandır (38). Koklear kaynaklı herhangi bir sesin dış kulak yolundan alınarak kaydedilmesi sonucu OAE cevapları ortaya çıkar. OAE'lar iki grupta tanımlanmaktadır: Spontan otoakustik emisyonlar ve uyarılmış otoakustik emisyonlar.

### **5.6.1 Spontan Otoakustik Emisyonlar**

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE), dışarıda akustik uyarı olmadan kendiliğinden oluşan koklear kaynaklı, tonal, düşük seviyedeki dar bant sinyalleridir. SOAE'lar normal işiten kulakların % 40-50'sinde saptanabilen, amplitüdüleri -16 ile +20 dB SPL (Sound Pressure Level) civarında olan saf tonlardır (39).

## 5.6.2 Uyarılmış (Evoked) Otoakustik Emisyonlar (EOAE)

3 tipi vardır:

### a) Stimulus Frekansı OAE (SFOAE):

SFOAE, düşük seviyedeki uzun süreli sabit tonlarla akustik uyarı sonucu oluşan cevaplardır. Frekans spesifiktir, ancak uyarılar sürekli verildiği için cevaplarla uyarıların ayrı olarak algılanmasında güçlük vardır. Bu nedenle ve teknik zorluklardan dolayı klinik kullanımı kısıtlıdır.

### b) Geçici Uyarılmış OAE (TEOAE):

TEOAE, kısa 'klik' gibi akustik uyarılarla elde edilir. Bu kısa akustik uyarılar sonrası, zaman averajlama yöntemi ile kayıta geçmektedir. Uyarının özelliği ise geçici olmasıdır. Ölçüm için genellikle 80 dB SPL şiddetinde bir ses kaynağı ve 260 adet uyarı kullanılır. Oluşan cevaplar uyarılara göre gecikerek ortaya çıktığı için, 20 milisaniyelik kayıt aralığının ilk 2 milisaniyesini sıfırlanarak çizdirilir. TEOAE'lar tüm kokleayı uyaran ve geniş band sinyal olan klik şeklindeki uyarıya cevap olarak meydana geldikleri için, frekanslar hakkında DPOAE'lar kadar spesifik bilgi verememektedir. TEOAE'lar işitmesi normal olan vakaların % 98-100'ünde vardır. İşitme kaybı 25-30 dB'i geçerse saptanamaz.

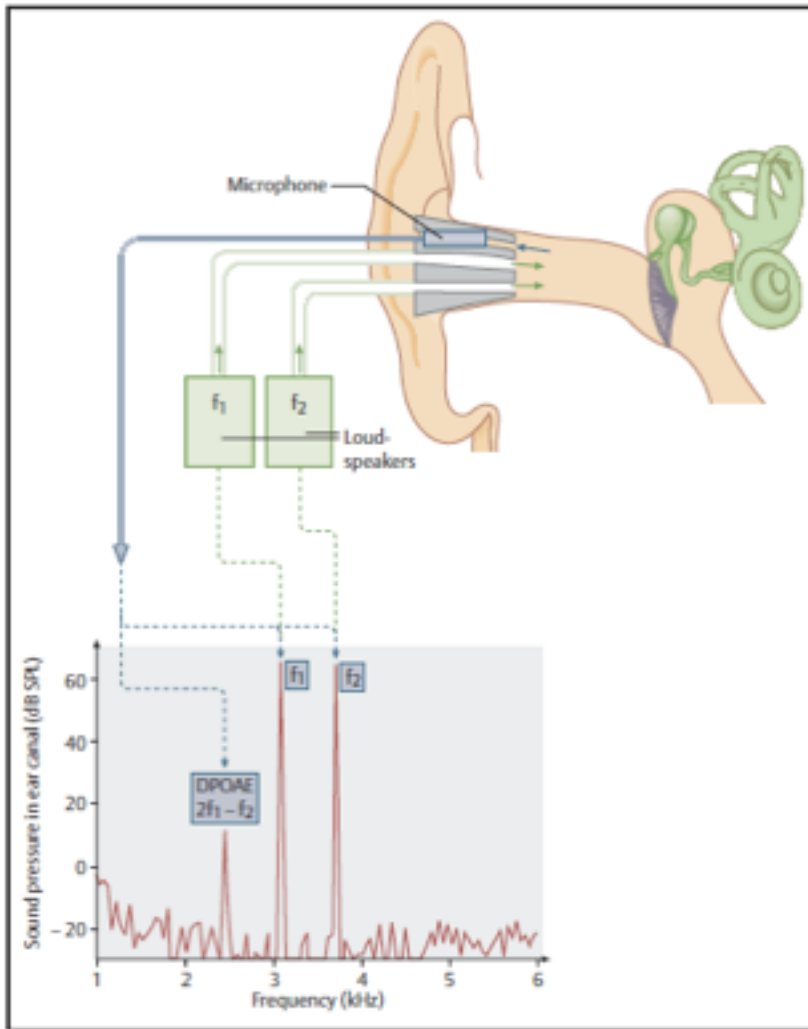
### c) Distorsiyon Ürünü OAE (DPOAE):

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar kulak kanalından alınan spesifik frekanslardaki akustik enerjiyi tanımlamaktadır (39). Bu durumda kulak yoluna yerleştirilen bir mikrofon, iki temel saf sesin yanında bir seri diğer frekanslara ait sinyalleri de kaydedecektir. Bu sinyaller distorsiyon ürünleri olarak isimlendirilir. DPOAE'ler klinikte, farklı frekanslardaki bir çift saf sesin ( $f_1$  ve  $f_2$ ) sırasıyla 65 ve 55 dB SPL şiddetlerinde verilmesiyle kaydedilir ve saf ses frekanslarının oranı ( $f_2/f_1$ ) 1.2/1 olarak ayarlanır. Stimulus frekansları sistematik olarak değiştirilerek, 1000 Hz ile 8000 Hz aralığında geniş bir alandaki DPOAE'ler kaydedilir. DPOAE'nin bulunup bulunmadığına, öngörülen gürültü zeminine nispetle kulak kanalından kaydedilen DPOAE frekansındaki  $2f_1-f_2$  dalga amplitüdlerinin ölçülmesiyle karar

verilir. Cevapların anlamlı olduğuna karar verirken, DPOAE dalga büyüklüğünün gürültüye olan oranının tipik olarak 3-6 dB aralığında olması gerekir. Orta kulak fonksiyonları normal olan bir olguda, klinik olarak anlamlı DPOAE'lerin bulunması, odyometrik işitme eşiğinin 30-35 dB'in üzerinde olduğunu gösterir (40).

### Otoakustik Emisyon Kullanım Alanları

1. İşitme kaybının belirlenmesi,
2. Koklea fonksiyonunun moniterizasyonunda,
3. Odyolojik ayırıcı tanı: Koklear lezyonlarda .



**Şekil 7 :** Distortion Product Otoakustik Emisyon. Rudolf Probst. Basic Otorhinolaryngology. Germany: Thieme .2006

## 5.7 ETANERCEPT (®ENBREL)

Etanercept rekombinan DNA teknolojisi ile üretilmiş, insan tümör nekrotize edici faktör (TNF) reseptör p75 (TNFR2/p75) ve insan IgG1-Fc proteinlerinin birleştirilmesi ile elde edilen bir TNFR p75-Fc füzyon proteinidir (4).

### 5.7.1 Farmakodinamik özellikler

Etanercept etkisini TNF $\alpha$  ve  $\beta$ 'nin hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanmasını kompetitif olarak inhibe ederek biyolojik aktivitelerini yok edip TNF $\alpha$  ve  $\beta$  ya bağlı gelişen hücresel yanıtlarını önleyerek göstermektedir (41). Ayrıca etanercept TNF $\alpha$  'nın düzenlediği veya diğer moleküllerin (sitokinler, adhezyon molekülleri veya proteinazlar) kontrol ettiği biyolojik yanıtları da değiştirebilmektedir.

TNF $\alpha$  (kaşektin) ve lenfotoksin  $\alpha$  (TNF $\beta$ ) iki ayrı hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanan pro-enflamatuar sitokinlerdir. Molekül ağırlıklarına göre isimlendirilmiş iki adet reseptörü vardır; p55 reseptörü (TNFR1), p75 reseptörü (TNFR2). İki TNFR de membrana bağlı ve çözünen formdadır (42). TNF $\alpha$  ve lenfotoksinlerin biyolojik aktiviteleri hücre yüzeyindeki TNFR'lere çapraz biçimde bağlanmaları esasına dayanır. Etanercept gibi çözülen dimerik reseptörler, monomerik reseptörlere kıyasla TNF $\alpha$  'ya daha yüksek bir afinite gösterirler ve kendi hücre reseptörlerine bağlanan TNF'nin çok daha güçlü kompetitif inhibitörleridir. Bunlara ilaveten dimerik reseptör yapısında immunglobulinlerin Fc bölgesinin füzyon yapılar olarak kullanılması etanerceptin serum yarılanma ömrünü uzatmaktadır.

### **5.7.2 Farmakokinetik özellikler**

Etanercept, subkutan (s.c) enjeksiyonundan sonra yavaş absorbe olur, tek dozda 48-60 saat içinde maksimum konsantrasyona ulaşır (41). Mutlak biyoyararlanımı %76'dır.

Etanercept karaciğer ve böbrekten elimine olur, idrar ve safra yolları ile vücuttan yavaş yavaş atılır. Yarılanma ömrü yaklaşık 70-100 saat arasındadır (41). Karaciğer ve böbrek yetmezliğinde doz ayarlamasına gerek yoktur.

### **5.7.3 Klinikteki kullanım alanları**

Etanercept 1990'ların başlarında sentezlenerek ilk 1992 yılında insanlar üzerinde test edilmiştir (43). 1998 yılında da ilk olarak Romatoid artrit tedavisinde ardından da kronik psöriaride, psöriatik artrit, ankilozan spondilit ve juvenil romatoid artrit tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda sistemik sklerosis, Behçet hastalığı, sistemik lupus eritamosus (SLE), polimiyozit ve dermatomiyozit, inflamatuvar barsak hastalıklarında ve mikst bağ doku hastalığında etanercept tedavisinden olumlu sonuçlar alınmıştır (41).

### **5.7.4 Yan etkileri**

Genel olarak iyi tolere edilen bir ilaçtır. Yan etkileri daha çok anti TNF $\alpha$  etkilerinin sonucu olarak ortaya çıkar. İlaç infüzyonuna bağlı infüzyon yerinde kızarıklık, ödem oluşabilir. En sık bildirilen yan etkisi üst solunum yolu enfeksiyonlarıdır. TNF $\alpha$  inhibisyonu sonucunda immün sistemin baskılanmasına bağlı fırsatçı enfeksiyonlar ya da var olan latent bir tüberküloz hastalığının alevlenmesi ortaya çıkabilir. Bunun için etanercept tedavisine başlamadan hastalara PA Akciğer grafisi çekilmesi ve Quntiferon testi ile tüberküloz taraması yapılması önerilmektedir. Bunun yanı sıra hepatit B ve hepatit C gibi viral hastalıkların da reaktivasyon riski olduğu için hastalara viral serolojik testlerin yapılması gerekmektedir. Ayrıca demiyelizan hastalıkları kötüleştirdiği multiple skleroz (MS) gibi hastalıklarda kullanılmaması önerilmektedir. Nadir de olsa birkaç vakada nötropeni, trombositopeni, aplastik anemi, pansitopeni ve lupus benzeri



sendrom bildirilmiştir (44). Yapılan bir klinik çalışmada 6 yıl boyunca etanercept kullanan 4114 romatoid artritli hastadan 129'unda çeşitli kanser gelişimleri(meme, akciğer, lenfoma) bildirilmiştir. Fakat bu oranın popülasyondan çok da farklı olmadığı görülmüştür (45). Yine etanercept kullanan psöriasis hastalarında yapılmış bir çalışmada 4 yıllık izlem sürecinde kanser gelişme insidansının etanercept kullanmayan psöriasis hastalarına göre farklı olmadığı görülmüştür (43). Sonuç olarak TNF blokerleri kullanan hastalarda malign melanom dışındaki cilt kanserlerinde ve lenfomada artmış bir risk bulunamamıştır (46).

### 5.7.5 Deneysel Çalışmalar

TNF'nin etki mekanizması üzerinden yola çıkılarak kabul görmüş klinik kullanım alanlarının dışında da etanercept birçok inflamatuvar ve sitotoksik olayda tedavi amacıyla denenmektedir. Literatürlere baktığımızda Lobo D.ve arkadaşlarının hayvanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada otoimmün labirentit tedavisinde etanerceptin etkinliğini glukokortikoidler ile kıyaslamışlardır. Bu çalışmada etanercept otoimmün labirentit tedavisinde glukokortikoidler kadar etkili bulunmuş ve iki grup arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır (47). Wang X. ve ark'nın otoimmün iç kulak hasarını önlemede etanerceptin etkinliğine baktıkları çalışmada etanerceptin iç kulaktaki inflamasyonu azaltarak işitmeye olumlu etkisi olduğunu göstermişlerdir (48). Bu konuyla ilgili yapılan klinik pilot çalışmalar (Matteson ve ark. ,Cohen ve ark.)olmasına rağmen henüz standart bir tedavi modalitesi belirlenmemiştir (49, 50). Arpornchayanon ve ark.'nın yaptığı çalışmada gürültüye bağlı oluşan işitme kaybında etanerceptin koruyucu etkisine bakılmış. Bu etkiye de kohlear kan akımındaki değişiklikler dikkate alınarak karar verilmiştir. Bu çalışmada etanerceptin kohlear kan akımını koruyarak kontrol grubuna göre işitme eşiklerini 20dB arttırdığı görülmüştür (51). Scherer ve ark. hayvanlar üzerinde yaptıkları çalışmada TNF $\alpha$ 'nın kohlear kan akımını spiral modiolar arterde yer alan ve vasküler konstrüksiyonda rol alan S1P sinyal yolunu kullanarak azalttığını in vivo ve in vitro olarak göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonunda da idiyomatik işitme kayıplarında vasküler patolojilerin altında TNF $\alpha$ 'nın olabileceğini öne sürmüşlerdir (52). Topdağ M. ve ark.nın yaptığı çalışmada

sıçanlarda fasyal sinir hasarı oluşturulduktan sonra metilprednizolon ve etanerceptin sinir iyileşmesi üzerine etkilerine bakılmış. Çalışmanın sonucunda etanercept verilen hayvanlarda fasyal sinirin fonksiyonel iyileşmesinin metilprednizolon ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha iyi olduğu görülmüş. Sinir hasarından sonra verilen etanerceptin sinir hücrelerinde GAP-43 proteinini arttırarak aksonal rejenerasyonu arttırdığı immunohistokimyasal incelemelerde gösterilmiştir (53). Ayrıca bazı olgu sunumlarında da etanerceptin nöroprotektif bir ajan olduğu gösterilmiştir. (54, 55, 56)

## 6. GEREÇ VE YÖNTEM

### 6.1 HAYVAN ÇALIŞMALARI

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Tıp Araştırma ve Bilimsel Eğitim Laboratuvarında (DETAB) 1 Ağustos – 1 Eylül 2014 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında Helsinki Nihai Senedi (1986)'nin deney hayvanları ile ilgili maddelerine uyuldu. Çalışma 36 adet çalışma kriterlerine uyan sağlıklı erişkin dişi Wistar albino sıçan üzerinde yapıldı. Takip sırasında ölen/otit olan sıçanlar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmamızda otoskopik muayene ile orta kulağın durumu değerlendirilerek dış kulak yolunda buşonu olmayanlar ve kulak zarı normal görülen sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Tüm hayvanların anestezi sonrası distorsiyon product otoakustik emisyon (DPOAE) ölçümleri yapıldı. Emisyon alınamayan sıçanlar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma sağlıklı erişkin dişi albino sıçanlar üzerinde yapıldı. Sıçanların ağırlıkları 210-230 gr arasında değişiyordu, ortalama ağırlıkları 220 gr'dı ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık, 25 derece sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri bir ortamda barındırılıyorlardı. Çalışmanın ilk günü sıçanlar iki guruba bölünerek ilk gruba intraperitoneal 6mg/kg tek doz etanercept verildi. 24 saat sonra her iki gruba intraperitoneal 16mg/kg sisplatin verildi. Çalışmanın 3. ,7. ve 21. günü tüm hayvanlanlara intraperitoneal 80mg/kg ketamin ve 10mg/kg xylazin verilerek sedasyon sağlandıktan sonra DPAOE ile işitme ölçümleri yapıldı. 21. gün ölçümler yapıldıktan sonra sedasyon altında dekapitasyon yapılarak hayvanlar sakrifiye edildi.



Şekil 8. DPOAE ölçüm düzeneği

## 6.2 DISTORTION PRODUCT OTOAKUSTİK EMİSYONLA ÖLÇÜM METODU

Bu çalışmada emisyonların incelenmesi için DPOAE kullanılmıştır. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar Otodynamics Ltd. ILOv6 cihazıyla, cihazın probunun ucuna en küçük boy timpanometri kauçuk probu takılarak ölçüldü (Şekil 9). Sıçanın kafası yere yatay pozisyona getirildikten sonra prob sıçanın kulağına iyice yerleştirildi. Cihazdaki prob göstergesi ve uyarıcı dalga formu uygun konfigürasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görüldükten sonra ölçüme başlandı.

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar ( $2f_1-f_2$ ) kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) General Diagnostic modunda, hem DPgram hem de inputoutput (I/O) ölçümü olarak yapıldı. DPOAE'lar farklı frekans ve şiddetlerdeki uyarılar kullanılarak ölçüldü. DPgram ölçümleri 2002, 2148, 2294, 2464, 2636, 2832, 3027, 3251, 3486, 3730, 4003, 4287, 4599, 4921, 5273, 5654, 6064, 6494, 6952, 7460, 7998, 8574, 9189, 9853 Hz  $f_2$  frekanslarında yapıldı. Ölçüm sırasında  $2f_1-f_2$  frekansında gürültü şiddetinden 3 dB ve üzerinde olan OAE'lar pozitif kabul edildi. I/O ölçümleri 10000, 8000, 6000 Hz frekanslarda yapıldı. DPgram ölçümünde primer uyarı şiddetleri 65 dB'de eşitlendi ( $L_1=L_2$ ). İki ayrı frekans ( $f_1$  ve  $f_2$ ), en güçlü yanıtların alınabileceği  $f_2/f_1 = 1.22$  olacak şekilde düzenlendi. DPgram ölçümü 2002, 2148, 2294, 2464, 2636, 2832, 3027, 3251, 3486, 3730, 4003, 4287, 4599, 4921, 5273, 5654, 6064, 6494, 6952, 7460, 7998, 8574, 9189, 9853 Hz  $f_2$  frekanslarında yapıldı. I/O ölçümü yapılırken  $f_1=f_2=80$  olacak şekilde ve uyarı şiddeti azaltılarak alınan yanıtlar kaydedildi. I/O fonksiyonların eşik ve eşik üstü ölçümleri 75 dB'den 40 dB'e kadar 5'er dB'lik basamaklar halinde azalan primer ses tonları kullanılarak yapıldı. Her iki ölçümde de alınan yanıtlar en yüksek seviyesine kadar kaydedilerek test sonlandırıldı. DPgram ölçümlerde 4003 Hz'in altındaki frekanslarda düşük SPL değerleri elde edildiği için çalışmaya 4003 Hz ve üzerindeki frekanslar dahil edildi.



Şekil 9. DP-gram ölçüm ekran görüntüsü

#### **6.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Nümerik değişkenler medyan (25. persantil - 75. persantil) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için Mann Whitney U Testi ve günler arasındaki farklılıkları belirlemek için Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri uygulandı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak önemlilik için yeterli kabul edildi.

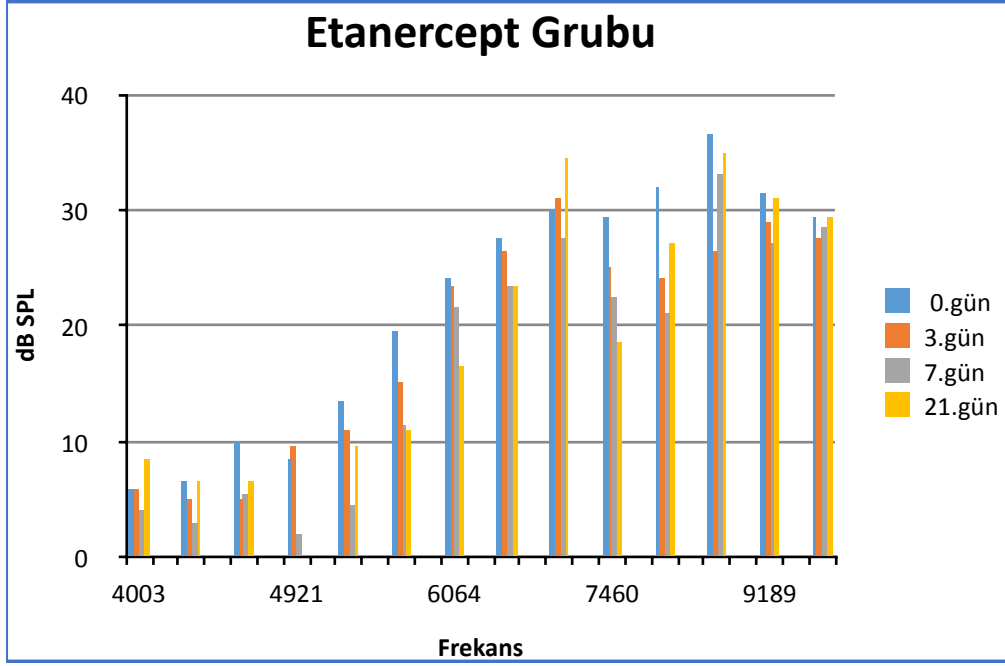
## 7. BULGULAR

İlk gün 36 adet sıçana DPOAE ile işitme testi yapıldı. Etanercept grubunda 2 hayvanın işitmesi kötü olduğu için çalışma dışı bırakıldı. 1 hayvan da anestezi sonrası öldüğü için çalışmaya alınamadı. Sisplatin grubundan da 2 hayvanın işitmesi kötü olduğu için çalışma dışı bırakıldı. Böylece etanercept grubumuzda n=15, sisplatin grubumuzda n=16 olarak belirlendi. Etanercept verilen gün çalışmanın 0. günü, sisplatin verilen gün çalışmanın 1.günü olarak kabul edildi.

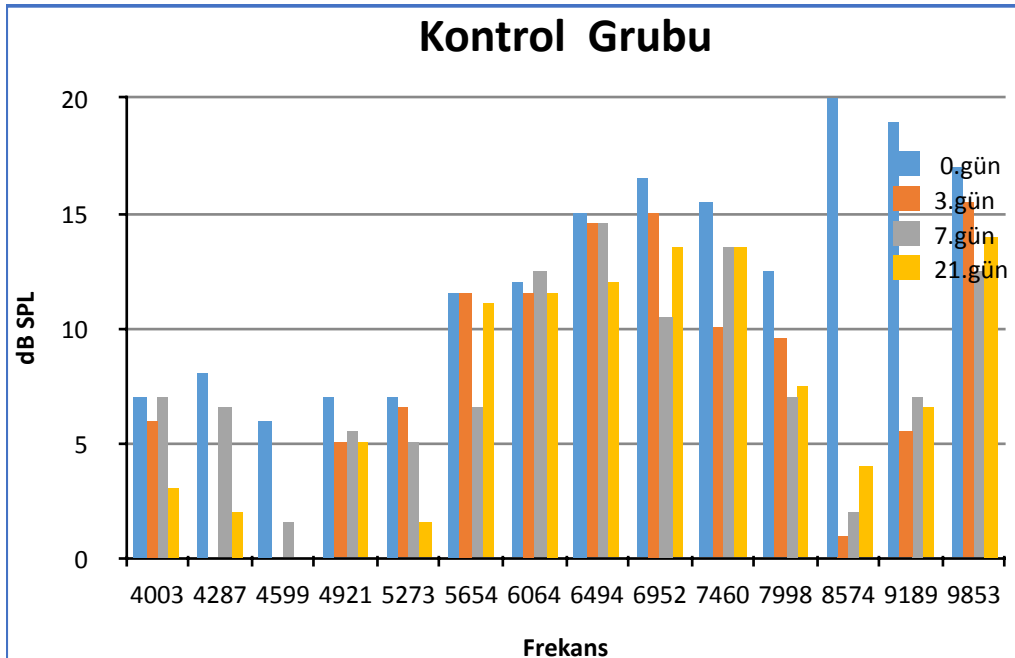
İlk ölçüm sonrası her iki grubun işitme değerleri Mann Whitney U testi ile kıyaslanarak her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. İkinci ölçüm sisplatin verildikten 48 saat sonra yapıldı. Her iki grubun 3. günkü ölçümleri kıyaslandığında iki frekans (4599Hz, 4003Hz) hariç tüm frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Etanercept grubunun 3.gün işitme değerleri daha iyi bulundu. Çalışmanın 5.günü 4 tane sisplatin grubundan 3 tane de etanercept grubundan olmak üzere toplam 7 sıçan öldü. Çalışmanın 6. Günü 3 tane etanercept grubundan 3 tane de sisplatin grubundan olmak üzere toplamda 6 sıçan öldü. 7. Gün sadece 20 sıçana işitme testi yapılabilirdi. 7. Gün yapılan işitme testlerinde 6000 Hz ve üzeri frekanslarda etanercept grubunun işitme değerleri anlamlı yüksek bulundu. Çalışmanın 8. günü her iki gruptan 1'er hayvan daha öldü. 21. gün etanercept grubu n=8, kontrol grubu n=10 olarak işitme ölçümleri yapıldı. 0 ve 3. günler çalışmada iki farklı şekilde değerlendirildi. Birincisi çalışma sonunda ölen tüm hayvanlar çalışma dışı bırakılarak ikincisi ilk 3 gün ölen hayvan olmadığı için tüm hayvanlar çalışmaya dahil edilerek istatistik yapıldı. Fakat iki şekilde de iki grup arasında anlamlı fark saptanan frekanslar değişmedi. Gruplar tüm frekanslarda hem gruplar arası hem de grup içinde günlere göre kıyaslandı. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde n=31'e göre yapılan istatistik sonucuna göre kontrol grubunun işitme değerleri 6064 Hz ve 5654 Hz dışında tüm frekanslarda 3. gün anlamlı olarak azalmış bulundu. Etanercept grubunda ise sadece 4599Hz' de anlamlı olarak azalmış bulundu. Ölen hayvanların işitme testlerinin değerlendirmeye alınmadığı hesaplmalarda ise etanercept grubunda 4921 Hz de 0.gün ile 7.gün, 3.gün ile 7.gün, 3.gün ile 21.gün arasında; 7460 Hz de 0.gün ile 21.gün, 7.gün ile

21.gün, 3.gün ile 21.gün anlamlı istatistiksel fark bulundu. Kontrol grubunda ise 4287 Hz de 0.gün ile 3.gün arasında, 0.gün ile 7.gün arasında; 4921 Hz de 0.gün ile 3.gün arasında, 0.gün ile 7.gün arasında; 6064 Hz de 0.gün ile 7.gün arasında, 3.gün ile 7.gün arasında; 9189 Hz de 0.gün ile 3.gün arasında, 0.gün ile 7.gün arasında, 0.gün ile 21.gün arasında anlamlı istatistiksel fark bulundu. İki grup kendi arasında kıyaslandığında 3.gün 4921Hz ve üzeri frekanslarda; 7.gün 6064Hz ve üzeri frekanslarda; 21.gün ise 6494Hz ve üzeri frekanslarda iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu. Input-output yöntemi ile sadece günler arası yapılan ölçümlerde kontrol grubunda 8000 Hz 65dB'de 0-7 ve 0-21.günler arasında; 8000 Hz 70dB'de 0-7, 0-3, 7-21 ve 3-21.günler arasında; 6000 Hz 75dB'de 0-7 ve 3-7. Ve 7-21.günler arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi. Etanercept grubunda ise 8000 Hz 55 dB de 0-3, 3-7, 3-21.günler arasında istatistiksel fark izlendi. Gruplar arası karşılaştırmada ise 3.gün 6000Hz de 60, 65 ve 70dB'de; 8000Hz de 55, 65, 70, 75dB de; 10000Hz de 45, 50, 55, 60, 65, 70 ve 75dB'de; 7.gün 8000Hz de 55, 60, 65, 70, 75dB de; 10000Hz de 60, 65, 70, 75dB de; 21.gün ise 6000Hz de 70, 75dB de; 8000Hz de 45, 70, 75dB de; 10000Hz de 65, 70, 75dB de iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi. Biz sonuçlarımızı değerlendirirken 7dB ve üzeri SPL düşüşlerini ototoksisite açısından anlamlı olarak değerlendirdik (57). Bulduğumuz sonuçlara göre etanercept verilen hayvanların işitme testlerinde Dp-gram ile bakılan frekanslardan sadece 4921Hz de 7.gün SPL değerlerinde düşme saptanıp 21.günde düzelme görülmemiştir. Hatta bazı frekanslarda 21.gün sonunda ilk günkü SPL değerlerine göre daha yüksek SPL değerleri bulunmuştur. Bu bulgu sadece 7460Hz de istatistiksel anlamlılık göstermektedir. Kontrol grubunda ise hemen hemen tüm frekanslarda 3.günde SPL değerlerinde düşüş olmuştur. Fakat bunlardan sadece 7460Hz ve 9189Hz de 21.gün istatistiksel olarak anlamlı düzelme görülmemiştir. Input-output ölçümlerinde etanercept grubunda 8000Hz 55dB haricindeki tüm frekanslarda anlamlı bir düşüş izlenmemiştir. Sisplatin grubunda ise özellikle 8000 ve 10000Hz'de SPL değerlerinde anlamlı düşüşler izlenmiş olup 10000Hz'de 21.günde düzelme izlenmemiştir. Gruplar arası kıyaslamalara göre de özellikle 3.gün DPOAE ölçümleri arasında etanercept grubunun SPL değerleri 5000Hz ve üzeri frekanslarda anlamlı derecede kontrol grubuna göre yüksek bulundu.

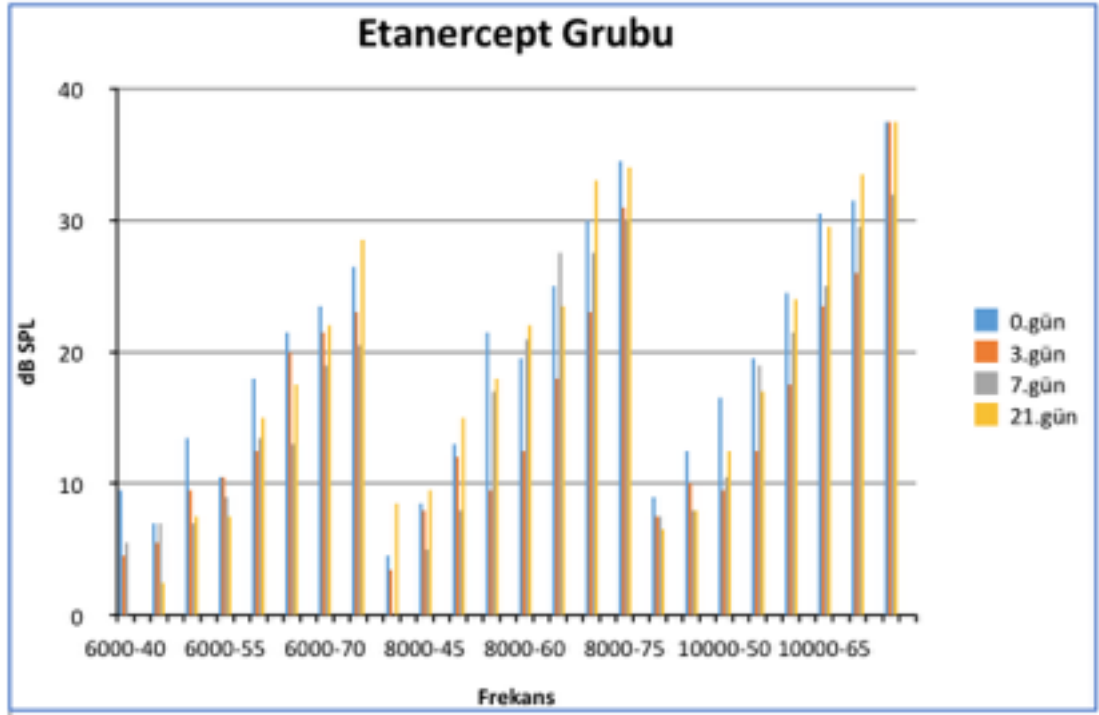




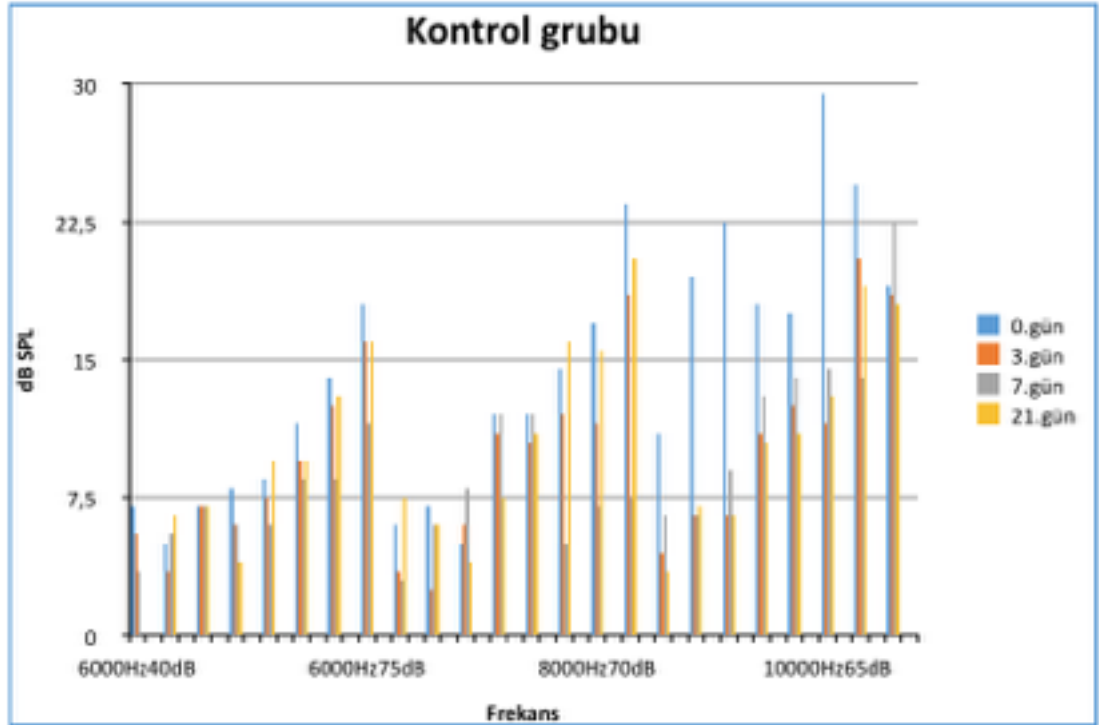
**Grafik 1.** Etanercept grubunun DP-gram değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile kıyaslandığında 4921Hz ve 7460Hz dışında günler arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ( $p>0,05$ )



**Grafik 2.** Kontrol grubunun DP-gram değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile kıyaslandığında özellikle yüksek frekanslarda anlamlı fark izlendi. ( $p<0,05$ )



**Grafik 3.** Etanercept grubunun input-output değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile kıyaslandığında 8000Hz55dB dışında günler arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ( $p>0,05$ )



**Grafik 4.** Kontrol grubunun input-output değerleri günlere göre kendi içinde Friedman iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri ile karşılaştırıldığında özellikle 8000Hz-55dB ve 10000Hz-55dB şiddetindeki frekanslar arasında istatistiksel anlamlılık saptandı. ( $p<0,05$ )

DP-GRAM	ETANERCEPT GRUBU			KONTROL GRUBU			P değerleri		
	3.gün	7.gün	21.gün	3.gün	7.gün	21.gün	3.gün	7.gün	21.gün
4003	6	4	8,5	9,5	7	7,5	0,624	0,704	0,702
4287	5	-3	6,5	0	1,5	0	0,15	0,414	0,155
4599	5	5,5	6,5	5	5,5	5	0,913	0,662	0,659
4921	9,5	-2	0	1	2	4	0,03	0,55	0,323
5273	11	4,5	9,5	6,5	5	1,5	0,03	0,784	0,515
5654	15	11,5	11	5,5	7	6,5	0,014	0,081	0,127
6064	23,5	21,5	16,5	11,5	6,5	11	0,03	0,006	0,057
6494	26,5	23,5	27,5	11,5	12,5	11,5	0,026	0,002	0,002
6952	31	27,5	34,5	17	15,5	14	0,003	0,001	0,002
7460	25	22,5	29,5	14,5	14,5	12	0,015	0,003	0,001
7998	27	21	32	15	10,5	13,5	0,003	0,019	0,015
8574	35	33	36,5	13	15	14,5	0,002	0,001	0,001
9189	31,5	27	31	10	13,5	13,5	0,001	0,003	0,001
9853	29,5	28,5	29,5	12,5	13,5	11	0,005	0,001	0,001

**Tablo 1.** İki grubun günlere ve frekanslara göre DP-gram medyan değerlerinin Mann Whitney U Testi karşılaştırılması. Özellikle 3.günde her iki grubun DP-gram değerleri arasında anlamlı farklılık izlendi. ( $p < 0,05$ )

Input-Output	ETANERCEPT			KONTROL			p değeri		
	3.gün	7.gün	21.gün	3.gün	7.gün	21.gün	3.gün	7.gün	21.gün
Hz-dB									
6000-40	4,5	5,5	0	5,5	3,5	0	0,55	0,3	0,663
6000-45	5,5	7	-2,5	3,5	5,5	6,5	0,55	0,784	0,355
6000-50	9,5	7	7,5	7	7	7	0,142	0,441	0,957
6000-55	10,5	9	7,5	6	6	4	0,302	0,355	0,385
6000-60	12,5	13,5	15	7,5	8,5	9,5	0,05	0,102	0,064
6000-65	20	13	17,5	9,5	11,5	9,5	0,012	0,549	0,301
6000-70	21,5	19	22	12,5	14	13	0,007	0,515	0,014
6000-75	26,5	20,5	28,5	16	18	16	0,07	0,301	0,01
8000-40	3,5	0	8,5	3,5	3	7,5	0,827	0,572	0,785
8000-45	8	8,5	9,5	2,5	6	6	0,302	0,239	0,043
8000-50	12	13	15	6	8	4	0,301	0,323	0,065
8000-55	21,5	17	18	11	12	7,5	0,017	0,071	0,057
8000-60	19,5	21	22	10,5	12	11	0,057	0,022	0,115
8000-65	25	27,5	23,5	12	14,5	16	0,004	0,003	0,072
8000-70	27,5	30	33	11,5	17	15,5	0,002	0,015	0,006
8000-75	34,5	30	34	18,5	23,5	20,5	0,004	0,001	0,007
10000-40	7,5	7,5	6,5	4,5	6,5	3,5	0,355	0,784	0,415
10000-45	12,5	8	8	6,5	6,5	7	0,025	0,744	0,546
10000-50	16,5	10,5	12,5	6,5	9	6,5	0,009	0,114	0,157
10000-55	19,5	19	17	11	13	10,5	0,049	0,051	0,065
10000-60	24,5	21,5	24	12,5	14	11	0,017	0,038	0,064
10000-65	30	25	29,5	11,5	14,5	13	0,002	0,017	0,026
10000-70	31,5	29,5	33,5	20,5	14	19	0,002	0,012	0,004
10000-75	37,5	32	37,5	18,5	22,5	18	0,001	0,002	0,011

**Tablo2.** İki grubun günlere ve frekanslara göre input-output medyan değerlerinin Mann Whitney U Testi karşılaştırılması. ( $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.)

## 8. TARTIŞMA

Sisplatin uzun yıllardır baş boyun tümörleri başta olmak üzere birçok kanserde yaygın kullanılan bir kemoteröpatik bir ilaçtır. Sisplatinin ototoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi doz bağımlı çok ciddi yan etkileri olmasına rağmen anti tümoral etkinliği çok güçlü olduğu için onkoloji kliniklerinde kullanımından vazgeçilememektedir. Hal böyle olunca sisplatinin yan etkilerini önlemek ya da tedavi etmek amacıyla birçok klinik ve deneysel çalışmalar yapılmıştır halen de yapılmaya devam edilmektedir. Nefrotoksisite riskini diürez ve iv hidrasyonla azaltabiliyorken ototoksisiteyi önlediği insanlar üzerinde gösterilmiş herhangi bir yöntem henüz bulunamamıştır(3). Ototoksisite sisplatin uygulamasından sonra saatler ya da günler içinde gerçekleşebilir. Özellikle verilen sisplatinin toplam dozu 300mg'ı aştığı zaman ototoksisite riskinin arttığı görülmüştür. Ayrıca hipoalbuminemi, anemi, çok genç(<5) ya da ileri yaş, böbrek yetmezliği, radyoterapi öyküsü ototoksisite riskini artıran genetik olmayan diğer faktörlerdir.(21) Son zamanlarda megalin ve glutatyon S-transferaz gen polimorfizmin genetik birer risk faktörü olduğu anlaşılmıştır (22). Kirkim G. Ve arkadaşlarının 2014 te hayvanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada dişilerin erkeklere göre ototoksisiteden daha fazla etkilendiği bulunmuştur (22).

Sisplatininin ototoksisite oluşturma mekanizmalarıyla ilgili birçok hipotez öne sürülmüştür. Bulunan mekanizmalar üzerinden de ototoksisiteyi önleyebilmek için çeşitli moleküller kullanılmıştır. Antioksidan enzimleri (glutatyon reduktaz, glutatyon peroksidaz, SOD) arttırıp lipit peroksidasyonunu arttıran bir molekül olan malonildialdehit oluşumunu azaltarak etki gösteren tiamin pirofosfat (TPP) bunlardan sadece bir tanesidir. TPP aynı zamanda enerji metabolizmasında görevli sinir hücre myelinizasyonunu sağlayan bir koenzimdir (24). Antiapoptotik proteinleri arttırarak etki gösteren nöroprotektif bir ajan olan sertralin (25), caspas 1 ve 3 inhibisyonu yaparak IL-1 düzeylerini azaltarak koruyucu etki gösteren minosiklin (2), antioksidan bir molekül olan NADH oluşumunu arttırarak etki gösteren laktat (2), NMDA glutamat ve kalsiyum duyarlı nikotinik asetilkolin reseptör blokajı

yaparak intraselüler Ca miktarını düşürerek koruyucu etki gösteren memantin (26) ve N-asetilsistein diğer örneklerdir (26). Ayrıca resveratrol,  $\alpha$ -lipoik asit, sodyum tiosülfat, D-metionin, aminoguanidin, sodyum salisilat, vitamin C, melatonin, metformin gibi ilaçların ototoksisiteyi önleyici etkisi bakılmış ve hayvan deneylerinde olumlu sonuçlar alınmıştır.(2, 25, 26, 28, 37, 56) Kortikosteroidlerin kokleadaki antioksidan enzimleri aktive ederek inflamasyonu baskıladığı ve ototoksisiteyi azalttığı görülmüş. Aynı zamanda da endotelial hücreler arasındaki sıkı bağlantıları düzelterek stria vaskülaristeki endotel fonksiyonlarını iyileştirdiği bildirilmiştir (21). Kortikosteroidlerle yapılan çalışmalarda sistemik yolla verilen deksametazonun sisplatinin ototoksitesini önlemede anlamlı bir fark olmadığı ayrıca sistemik tedavinin sisplatinin antitümöral etkinliğini azaltabileceği öne sürülmüştür (21). Topdağ M. ve ark.'nın hayvan deneyi çalışmalarında intratimpanik deksametazonun sisplatin ototoksitesinde etkinliği gösterilmiş olsa da Marshak ve ark<sup>21</sup>'nin intratimpanik deksametazon ile yaptıkları klinik çalışmada intratimpanik deksametazonun minimal bir koruyucu etkisi görülmüştür.

TNF, lenfositlerden ve makrofajlardan salgılanan pro-inflamatuar bir sitokindir. TNF $\alpha$  ve TNF $\beta$  olmak üzere iki formu vardır. Bu sitokinlerin molekül ağırlıklarına göre isimlendirilmiş iki adet reseptörü vardır; p55 reseptörü (TNFR1) ve p75 reseptörü (TNFR2). İki TNFR de membrana bağlı ve çözünen formdadır. (42) TNF $\alpha$  ve lenfotoksinlerin biyolojik aktiviteleri hücre yüzeyindeki TNFR'lere çapraz biçimde bağlanmaları esasına dayanır. TNF blokerleri TNF $\alpha$  ve  $\beta$ 'nin hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanmasını kompetitif olarak inhibe ederek biyolojik aktivitelerini yok edip TNF $\alpha$  ve  $\beta$  ya bağlı gelişen hücresel yanıtlarını önleyerek göstermektedir (41).

Etanercept rekombinan DNA teknolojisi ile üretilmiş, insan tümör nekrotize edici faktör reseptör p75 (TNFR2/p75) ve insan IgG1-Fc proteinlerinin birleştirilmesi ile elde edilen bir TNFR p75-Fc füzyon proteindir. Etanercept 1990'ların başlarında sentezlenerek ilk 1992 yılında insanlar üzerinde test edilmiştir (43). 1998 yılında da ilk olarak Romatoid artrit tedavisinde ardından da kronik psöriaride, psöriatik artrit, ankilozan spondilit ve juvenil romatoid artrit tedavisinde

kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda sistemik sklerosis, Behçet hastalığı, sistemik lupus eritamosus (SLE), polimiyozit ve dermatomiyozit, inflamatuvar barsak hastalıklarında ve mikst bağ doku hastalığında etanercept tedavisinden olumlu sonuçlar alınmıştır (41). Otoimmün ani işitme kaybı olan bir olgu sunumunda etanercept ile olumlu tedavi sonuçları alınmıştır (59). Ayrıca kısıtlı sayıdaki bir vaka bildiriminde toksik epidermal nekrozlu hastalarda etanercept tedavisine olumlu yanıtlar alınmıştır (60).

Yapılan çalışmalarda etanercept birçok inflamatuvar ve sitotoksik olayda tedavi amacıyla denenmektedir. Literatürlere baktığımızda otoimmün labirentit tedavisinde etanerceptin etkinliğinin glukokortikoidler ile karşılaştırıldığı çalışmada etanercept glukokortikoidler kadar etkili bulunmuştur (47). Ayrıca yapılan deneysel çalışmalarda otoimmün iç kulak hasarını ve gürültüye bağlı oluşan işitme kayıplarını önlemede etanerceptin etkili bir molekül olduğu gösterilmiştir (48, 49, 50, 51). Etanerceptin fasyal sinir hasarında iyileşme üzerine olumlu etkilerinin gösterildiği çalışma da etanerceptin nöroprotektif bir ajan olduğunu göstermiştir (53) Başka çalışmalarda ve klinik uygulamalarda da etanerceptin nöroprotektif bir ajan olduğu gösterilmiştir.(54, 55, 56)

Serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumu sisplatin ototoksitesinin oluşumunda kritik öneme sahiptir (27). Fakat bu SOR oluşum mekanizmaları hala tam kesin bilinmemektedir. SOR'ı ilk olarak sisplatinin aktive ettiği NADPH oksidaz (NOX3) tarafından oluşturulur. Antioksidan ajanlar NOX3 inhibisyonu yaparak SOR oluşumunu önlerler. SOR'ı sinyal dönüştürücü ve transkripsiyonu aktive edici (STAT-1) molekülü aktive ederek kohleada TNF $\alpha$  , IL-1 $\beta$  gibi inflamatuvar sitokinler salgılatarak inflamasyonu başlatır. Sisplatin aynı zamanda NF-E2-bağımlı faktör 2 (Nrf2)/ hem oksijenaz-1(HO-1) aktivasyonu yaparak kohlear inflamasyona neden olur. Flunarizin Nrf2/HO-1 inhibisyonu yaparak kohlear inflamasyonu baskıladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (27). Oluşan inflamasyon indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) , nukleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) ve aktivatör protein-1 (AP-1) aktivasyonu yaparak apoptozu indükleyen sitokinlerin sentezini başlatır. STAT-1 hücrel stresin ve sitokinlerin başlattığı sinyal kaskatında yer alan bir sitoplazmik

transkripsiyon faktörüdür. STAT-1 sayesinde iNOS, COX-2, TNF $\alpha$ , Fas-ligand, TRAIL ve kaspazlar gibi apoptotik moleküller sentezlenir (27). Schimitt ve ark.'nın yaptıkları çalışmada epigallocatechin gallate (EGCG)'ın STAT-1 inhibisyonu yaparak sisplatin ototoksitesini önlediğini göstermişlerdir (50). Yine aynı çalışmada STAT-1 defisiti olan sıçanların sisplatin ototoksitesine karşı dirençli olduğu görülmüştür. Kaur ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanlara sisplatin verildikten 2 gün sonra transtimpanik STAT-1 short interfering RNA (siRNA) enjeksiyonu yaparak sisplatinin apoptoz kaskatını bozmayı başarmışlar ve koklear hücre hasarını önlediklerini göstermişlerdir (27). SOR'unin başlattığı bu olaylar zinciri endotelial hücreler arasındaki sıkı bağlantılarda hasar oluşturur. Bu hasar sonucunda iç kulaktaki sıvı dengelerinde bozulma gerçekleşir ve korti organındaki hücreler apoptoza gider.

So ve ark.'nın inflamasyonun sisplatin ototoksitesindeki yerini öğrenmek için yaptıkları deneysel çalışma bizim etanerceptin sisplatin ototoksitesindeki profilaktik etkinliğini göstermek için yaptığımız çalışmanın temelini oluşturmaktadır. So ve ark. yaptıkları bu çalışmada TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın sisplatin ototoksitesinde patofizyolojisindeki yerini in vivo ve in vitro araştırmışlar. Ayrıca MAPK (mitojen aktive edici protein kinaz) ve NF- $\kappa$ B sinyal mekanizmasının inflamasyondaki rolüne bakmışlar.

Sisplatin verildikten sonra hayvanların kan değerleri ELISA yöntemi ile incelenmiş. Sisplatin sonrasında en erken 30dk sonra kanda TNF $\alpha$  görülmeye başlandığı 1. ve 18. saatte olmak üzere iki kere pik yaptığı maksimum düzeye de 24. saatte ulaştığı gösterilmiştir. Anti-TNF verildiğinde HEI-OCI hücrelerinin ölümünün azaldığı, tek başlarına anti IL-6 ve anti IL-1 $\beta$  nın bir etkisi olmadığı, üçü birden verildiğinde ise sinerji oluşturup güçlü bir anti inflamatuvar etki oluşturdukları görülmüştür. Intraperitoneal olarak verilen etanerceptin her üç sitokin düzeyini de azalttığı görülmüş bunun üzerine de TNF $\alpha$ 'nın diğer sitokin sentezlerinde de kilit rol oynadığı anlaşılmıştır. Aynı zamanda etanerceptin kohleadaki proinflamatuvar sitokinlerin mRNA sını etkisiz hale getirerek inflamatuvar sitokin salınımını inhibe ettiği görülmüştür. Yapılan immunohistokimyasal boyamalarda TNF $\alpha$  stria



vaskülaris, spiral ligament, spiral limbus, spiral modiolar ven ve lakünler ve korti organında olduğu gösterilmiş. NFκB erken inflamatuvar yanıtta inflamatuvar sitokinlerin sentezinde rol alan bir transkripsiyon faktörüdür. Bu çalışmada sisplatin verildikten 1-2 saat sonra spiral ligament, stria vaskülaris, spiral limbusta NFκB sentezinin arttığı görülmüş böylece erken proinflamatuvar mediatör sentezinde sisplatinin bu yolu kullandığı anlaşılmıştır. Sisplatin verildikten 24-30 saat sonra da SOR artışını görmüşler. Sisplatinin inflamasyonun geç yanıtını da MAPK, p38, JNK ve ERK yolunu kullanarak inflamatuvar sitokinlerin de nova yolu ile sentezlendiklerini sonrasında da SOR üretimi olduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin ya endolenfatik keseden göç ettiği ya da sistemik dolaşımdan spiral modiolar ven aracılığı ile kohleaya geldiği gösterilmiştir. Spiral ligamentte bulunan fibrositlerin de kemokinleri ve TNFα ve IL-1β 'nın stimüle ettiği diğer sitokinleri ( IL-6, MCP-1, KC, MIP-2, sICAM-1, VEGF) salgılattığı görülmüştür. Spiral ligamentin bütünlüğü corti organı ve stria vaskülarisin normal fonksiyon görmesi için önemlidir. İç kulaktaki sodyum potasyum dengesi stria vaskülaristeki gap junctionlar ile sağlanır. İyon hemostazı bozulursa korti organında işitme sinyallerinin transduksiyonu bozulur ve kohlear hasar ile birlikte işitme kaybı ortaya çıkar (4). Duffy ve ark. yaptığı çalışmada konneksin gibi gap junction proteinlerinin fonksiyonlarının inflamatuvar sitokinler tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (61). Kim YJ. ve ark. sisplatin ototoksitesinde hücre içi gap junctionların rolünü göstermek için yaptıkları çalışmada ise konneksin43 inhibisyonu ve 18α-GA (18 alfa-gliserinitik asit) ile gap junctionların kapanmasını sağlayarak sisplatine bağlı destek hücrelerin ölümünü engellemişler ve böylece dolaylı olarak dış tüylü hücrelerin korunduğunu göstermişlerdir (62).

So ve ark.'nın yaptığı çalışmada hayvanların işitme testleri yapılmamıştı. Biz çalışmamızda etanerceptin sisplatin ototoksitesine karşı profilaktik etkinliğine DPOAE sonuçlarına bakarak yorum yaptık.

1948 yılında Gold tarafından, bazal membran hareketliliğinden dolayı kokleada aktif bir enerjinin varlığı belirtilmişse de, David Kemp 1978 yılında otoakustik emisyonları kaydederek bu görüşü kanıtlamıştır. Genel olarak dış tüylü

hücrelerin titreşimi sonucunda ortaya çıkan otoakustik emisyonlar, sesin kokleaya geliş yönünün tam tersine bir yol izleyerek DKY'den kayıtlanabilirler (10). DPOAE, uyarılmış OAE'ların bir alt grubudur. Oluşumunda, dış tüylü hücrelerin önemli rolleri olduğuna dair birçok kanıt mevcuttur. İşitme kaybının olduğu frekanslarda emisyonların saptanmayıp, işitmenin normal olduğu frekanslarda emisyonun saptanması, OAE'ların koklear orjinli olduğunu gösteren bulgulardandır. Koklear hasarın en sensitif göstergesi olan, kokleanın hassas yapıları dış tüylü hücrelerin durumu OAE ile monitorize edilebilir (63).

DPOAE'lar normal ve normale yakın orta kulak ve koklear fonksiyonun ispatını gösterir, fakat işitme eşiklerini yansıtmaz (2-4). Otoakustik emisyonların elde edilebilmeleri için sağlıklı bir orta kulak yapısı gereklidir. Sağlıklı bir orta kulak yapısında bile kokleadan yansıyan enerjinin yaklaşık 12 dB kayba uğradığı bilinmektedir (63). Bu yüzden OAE yapmadan önce hayvanların hepsine mikroskop altında otoskopik muayene yaparak dış kulak yolu ve timpanik membranı normal izlenen, otit bulgusu saptanmayan hayvanlar çalışmaya dahil edildi. Uyarılmış otoakustik emisyonlar ototoksik ilaçların etkisini erken dönemde görmek için kullanılabilir ve bize frekanslara spesifik bilgi verirler. OAE'ların varlığı normal şekilde çalışabilen iç kulağın genel anatomik ve fizyolojik yapısını doğrular. Bu baziller membran, korti organı, stria vaskularis hareketine bağlı endolenfin ve dış saçlı hücrelerin sağlığını gerektirir. OAE'lar bu sistemler zarar gördüğünde baskılanır. Arnold ve ark. , azalmış koklear fonksiyonu tespit etmek için DPOAE yeteneğini test edip DPOAE ve ultra yüksek frekans işitme arasındaki ilişkiyi araştırdılar. 4–8 kHz'de DPOAE seviyelerinin pür ton ortalaması (PTO) ile önemli ölçüde bağlantılı olduğunu, bununla birlikte 4–8 kHz için olan PTO'ların DPOAE seviyelerindeki değişikliklerin yaklaşık % 14'ünü açıkladığını ortaya çıkardılar. Sonuç olarak ultra yüksek frekans işitmenin DPOAE'ları etkilediğini ve bu bölgede pure ton eşikleri ile henüz tespit edilmemiş olan dış titreşim tüylü hücrelerdeki küçük değişikliklere emisyonların daha hassas olduğunu bildirdiler (65). Kim ve ark., bir kulağın test frekansındaki DPOAE seviyesini pür ton duyma eşiğine karşı değerlendirdiler. Testin duyarlılığını, özgünlüğünü ve tahmini yeterliliğini 6000 ve

4000 Hz'de % 85–89, 2000 Hz'de % 82–83 ve 1000 Hz'de % 78–79 olarak buldular. Koklear fonksiyonların değerlendirmesinde DPOAE'nun yararlı frekans özelliği olan objektif bir test olabileceğini bildirdiler (66). Biz de bu sebeplere dayanarak çalışmamızda hayvanların işitmelerini DPOAE kullanarak değerlendirdik. DPOAE ile küçük deney hayvanlarında bile emisyonlar rahatlıkla alınabiliyor fakat sıçan dış kulak yolunun çok dar olmasından dolayı probun yerleştirilmesinde zorluklar yaşanabiliyor. Biz de çalışmamızda probu dış kulak yoluna sıkıca oturtabilmek için, cihazın probunun ucuna, en küçük boyda timpanometri probu yerleştirdik ve dış ortam gürültü seviyesini 50dB altında tutarak artefakt olmadan rahatlıkla emisyon alabildik.

Topdağ ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanlara 16 mg/kg sisplatin vererek ototoksisite oluşturduklarını göstermişler (26). Biz de bu yüzden çalışmamızdaki sıçanlara 16mg/kg sisplatin vererek ototoksisite oluşturduk. Sisplatin verirken de uygulanması kolay olduğu için sistemik verilif yollarından biri olan intraperitoneal yolu seçtik. Yapılan çalışmalarda 6 mg/kg dozla sistemik olarak verilen etanerceptin sıçanlar üzerinde nöroprotektif antiinflamatuvar etki gösterdiği görülmüştür (52). Biz de bu sebeple profilaktik etanercept dozumuzu 6 mg/kg olarak belirledik ve intraperitoneal yolla verdik. Pollera ve ark.'nın yaptığı çalışmada sisplatine bağlı ototoksisitenin sisplatinin ilk dozundan 48 saat sonra gerçekleştiği görülmüş (67). Biz de DPOAE ölçümlerimizi çalışmamızın 3. ,7. ve 21.günde tekrarladık. İlk günkü ölçümlere göre 7dB SPL düşüş izlenen hayvanlarda ototoksisite geliştiğini kabul ettik. Her ne kadar ototoksisite açısından dünyaca kabul edilen ortak DPOAE değerleri bulunmasa da yapılan çalışmalarda DPOAE değerlerinde 7db SPL düşüş ototoksisite açısından anlamlı bulunmuştur (57, 68) alışmamızın özellikle 3.günde etanercept ve kontrol grubunu karşılaştırdığımızda ; dp-gram değerlerinde 7dB SPL azalma saptanan kulak sayısı tüm frekanslarda kontrol grubunda daha fazla bulundu. Aynı gündeki input-output değerlerine baktığımızda ise bakılan 6000Hz, 8000Hz, 10000Hz frekanslarında özellikle 60db şiddetinden sonra ototoksisitenin daha belirgin hale geldiğini gördük. Bu oranı gruplar içinde yüzdeyle hesaplırsak; etanercept profilaksisi verilen grupta ortalama %10 ototoksisite geliştiğini, kontrol grubunda ise %56 oranında ototoksisite geliştiğini gördük. 21.günde ototoksisite

gelişen kulakların bir kısmının db SPL değerlerinin yükseldiğini gördük fakat bunun istatistiksel bir anlamı yoktu. 7.günde ise bazı hayvanlarda ototoksisitenin yeni oluştuğu bazılarında ise herhangi bir değişiklik olmadığı görüldü. Biz çalışmamızda tek doz etanercept verdiğimiz için özellikle 3. gün işitme değerlerini dikkate aldık. Bulduğumuz sonuçlara göre tek doz sisplatin uygulamasından 1 gün önce verilen etanerceptin erken dönemde gelişen sisplatin ototoksisitesini azalttığını gördük. Bu etkinin de özellikle 4500Hz üzerindeki frekanslarda ve 65dB ve üzeri şiddette ön plana çıktığını gördük.

Literatürde sisplatin ototoksisitesi ile ilgili yüzlerce çalışma yapılmasına rağmen daha önce etanercept ve sisplatin ile ilgili böyle bir çalışma yapılmamıştı. Sisplatin ototoksisitesini önlediği klinik kontrollü randomize çalışmalarla ispatlanmış herhangi bir ilaç henüz olmadığı için bu konuyla ilgili deneysel araştırmalar yapılmaya devam edilmektedir. Özellikle son yıllarda gen tedavileri ve hücre kültürleriyle yapılan çalışmalar ön plana çıkmaktadır.

## 9. SONUÇ

Yaptığımız çalışmada kokleadaki inflamasyonun sisplatinin ototoksisite mekanizmalarından biri olduğunu ve etanerceptin bu mekanizmayı inhibe ederek ototoksisiteyi önlediğini DPOAE sonuçları ile göstermiş olduk. Çalışmanın bir sonraki basamağında lokal etanercept ile sistemik etanercept uygulamalarının etkinliğinin değişik dozlarda ve intervallerde verilerek ortaya konması ve bu bulguların immunohistokimyasal yöntemlerle desteklenmesi uygun olacaktır. Sonuç olarak sisplatin ototoksisitesi gelişmeden profilaktik bir ilaç olarak etanercept bileşiminin doğru bir seçenek olabileceği kanaatindeyiz.

## 10. ÖZET

### SIÇANLARDA SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNE BAĞLI GELİŞEN İŞİTME KAYIPLARINDA ETANERCEPT BİLEŞİĞİNİN PROFİLAKTİK OLARAK KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

**AMAÇ:** Çalışmamızda sıçanlarda etanerceptin, sisplatin ototoksitesine karşı işitme üzerine profilaktik etkisinin distortion product otoakustik emisyon (DPOAE) işitme sonuçları ile gösterilmesi amaçlandı.

**GEREÇ VE YÖNTEMLER:** Çalışmaya 36 adet sağlıklı erişkin dişi albino sıçan ile başlandı. İlk gün ölen ve işitmesi kötü bulunan sıçanlar çalışma dışı bırakıldı. DPOAE işitme testinden geçen 31 (  $n_1=15$ ,  $n_2=16$ ) adet dişi albino sıçan çalışmaya dahil edildi. 15 adet sıçana 0.gün intraperitoneal 6mg/kg tek doz etanercept verildi (etanercept grubu). Kontrol grubuna herhangi bir ilaç verilmedi. 24 saat sonra tüm sıçanlara intraperitoneal 16mg/kg sisplatin verildi. Çalışmanın 3. , 7. ve 21.günü tüm hayvanlara intraperitoneal 80mg/kg ketamin ve 10mg/kg xylazin verilerek sedasyon sağlandıktan sonra DPAOE ile işitme ölçümleri yapıldı. 21. gün ölçümler yapıldıktan sonra sedasyon altında dekapitasyon yapılarak hayvanlar sakrifiye edildi. Kaydedilen işitme değerleri hem iki grup arasında hem de grupların kendi içinde günlere göre karşılaştırıldı.

**BULGULAR:** Çalışmanın 3.günü yapılan işitme testlerinde etanercept grubunda sadece 4599 Hz de işitme değerlerinde anlamlı düşüş izlenirken kontrol grubunda 6064 Hz ve 5654 Hz dışındaki tüm frekanslarda anlamlı düşüş izlendi. İki grup kendi arasında kıyaslandığında 3.gün 4921Hz ve üzeri frekanslarda; 7.gün 6064Hz ve üzeri frekanslarda; 21.gün ise 6494Hz ve üzeri frekanslarda iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu. Çalışmamızın özellikle 3.günü etanercept ve kontrol grubunu karşılaştırdığımızda ; dp-gram değerlerinde 7dB SPL azalma saptanan kulak sayısı tüm frekanslarda kontrol grubunda daha fazla bulundu. Aynı gündeki input-output değerlerine baktığımızda ise bakılan 6000Hz, 8000Hz, 10000Hz frekanslarında özellikle 60db şiddetinden sonra ototoksitenin daha belirgin hale geldiğini gördük. Bu oranı gruplar içinde yüzdeyle hesaplasak; etanercept profilaksisi verilen grupta ortalama %10 ototoksiste geliştiğini, kontrol grubunda ise %56 oranında ototoksiste geliştiğini gördük. 21.günde ototoksiste gelişen kulakların bir kısmının db SPL değerlerinin yükseldiğini gördük fakat bunun istatistiksel bir anlamı yoktu. 7.günde ise bazı hayvanlarda ototoksitenin yeni oluştuğu bazılarında ise herhangi bir değişiklik olmadığı görüldü.

**SONUÇ:** Tek doz sisplatin uygulamasından 1 gün önce verilen etanercept erken dönemde gelişen sisplatin ototoksitesini azaltmaktadır. Bu etki de özellikle 4500Hz üzerindeki frekanslarda ve 65dB ve üzeri şiddette ön plana çıkmaktadır.

**ANAHTAR KELİMELELER...**Etanercept, sisplatin, ototoksiste, DPOAE

## 11. ABSTRACT

### THE EVALUATION OF PROFILACTIC ETANERCEPT TREATMENT EFFICACY IN RATS WITH HEARING LOSS DUE TO CISPLATIN OTOTOXICITY.

**AIM:** In our study, we aimed to evaluate audiological protective effects by distortion product otoacoustic emission of etanercept in rats with hearing loss due to cisplatin ototoxicity.

**MATERIAL AND METHODS:** The study has been started with thirty six healthy female albino rats. The first day of study, five rats excluded because of death and bad hearing measurements. 31 rats had good measurements in DPOAE were included in the study. The zeroth day, etanercept was given by intraperitoneal administration to fifteen rats (etanercept group). No medication was given to control group. After twenty four hours, 16 mg/kg cisplatin was given by intraperitoneal administration to all rats. In the 3<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> day; after intraperitoneal 80 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine were administrated for sedation DPOAE test was repeated. In the 21<sup>st</sup> day after DPOAE test, animals were sacrificed by decapitation. The measured values have been compared either in two groups and the groups inside.

**RESULTS:** Measurements of the 3<sup>th</sup> day, only in 4599Hz significant SPL decreasing was observed. In the 3<sup>th</sup> day in 4921 Hz and over frequencies, in the 7<sup>th</sup> day in 6064 Hz and over frequencies, in the 21<sup>st</sup> day in 6494 Hz and over frequencies a statistically significant difference was observed. In our study especially in the 3<sup>th</sup> day, 7 dB SPL decreasing detected ear in the control group was more than in the etanercept group in DP-gram measurements. In the same day, in 6000 Hz, 8000 Hz, 10000 Hz frequencies after 60 dB SPL ototoxicity was occurred more clearly. We observed %10 ototoxicity in etanercept group and %56 ototoxicity in the control group. In the 21<sup>st</sup> day some of the ears which was affected cisplatin ototoxicity increasing SPL measurements were observed but there was no statistically significant difference. In the 7<sup>th</sup> day, ototoxicity was occurred new in some of the ears and in some of them no difference was observed.

**CONCLUSION:** A single dose etanercept before one day cisplatin administration decreases cisplatin ototoxicity in early period. This effect exists to the fore especially over 4500 Hz frequencies and 65 dB and over SPL.

**KEY WORDS:** Etanercept, cisplatin, ototoxicity, DPOAE

## 12. KAYNAKLAR

- 1-Riggs LC, Matz GJ, Rybak RP. Ototoxicity. In: Bailey BJ, Calhoun KH, eds. Head and Neck Surgery- Otolaryngology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 2165-70.
- 2-Chirtes F, Albu S. Prevention and Restoration of Hearing Loss Associated with Use of Cisplatin Hindawi Publishing Corporation Biomed Research International 2014 Article ID 925485, 9 pages
- 3-Ozkul Y, Songu M, Başoğlu M.S, Ozturkcan S, Katılmış H. Evaluation of the Protective Effect of  $\alpha$ -Lipoik Acid on Cisplatin Ototoxicity Using Distortion-Product Otoacoustic Emission Measurements The Journal of Craniofacial Surgery 2014;25:1515-1518
- 4-So H, Kim H, Lee JH, Park C, Kim Y, Kim E, Kim JK, Yun KJ, Lee KM, Lee HY, Moon SK, Lim DJ, Park R. Cisplatin cytotoxicity of auditory cells requires secretions of proinflammatory cytokines via activation of ERK and NF-kappaB. J Assoc Res Otolaryngol. 2007;8(3):338-55.
- 5- Wright CG. Development of the human external ear. J Am Acad Audiol. 1997;379-382.
- 6- Çetinel ř, İnaloz H. Gz ve kulak Gelişimi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H, ed. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002;492-512
- 7- Nihat Çakır. Otolaringoloji, Baş ve Boyun Cerrahisi. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri.
- 8- Devranoğlu İ, Akkın SM. Dış ve orta kulak anatomisi. Devranoğlu İ, ed. Dış ve orta kulak cerrahisi. İstanbul: Deomed; 2011;1-10.
- 9-Austin DF. Kulak anatomisi. In Ballenger JJ, Snow JB, ed. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000; 838-57.
- 10- Abbas PJ, Miller CA, Physiology of the auditory system. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, ed. Otolaryngology Head & Neck Surgery. 3 rd ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1998; 2831-74.
- 11- Arıncı K, Elhan A. Anatomi, 2.Baskı. Arıncı K ed. Ankara: Güneş Kitapevi; 1997;124-6.



- 12- Asım Aslan. Kulak Anatomisi. In Can Koç, ed. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi.. 2. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2013,47-63.
- 13- Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. Ankara: Bilimsel tıp yayınevi; 1998.
- 14- Stenfelt S, Goode RL. Bone-conducted sound: physiological and clinical aspects. *Otol Neurotol*.2005;26:1245-61.
- 15- Kim N, Homma K, Puria S. Inertial bone conduction: symmetric and antisymmetric components. *J Assoc Res Otolaryngol*. 2011;12:261-79.
- 16- Tonndorf J. Compressional bone conduction in cochlear models. *J Acoust Soc Am* 1962;34:1127-1131.
- 17- Hall JE. The sense of hearing. In Guyton AC, Hall JE. ed *Textbook of Medical Physiology*.12th edition. USA: Saunders. 2010: 633-644.
- 18-Daniel HJ, Fulghum RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982; 91: 82 – 89.
- 19- Dirckx JJ, Daemers K, Somers T, Offeciers FE, Govaerts PJ. Numerical assessment of TOAE screening results: currently used criteria and their effect on TOAE prevalence figures. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 672 – 79.
- 20-Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy of the laboratory rat*. Baltimore: Williams & Wilkins Co; 1976; 132 – 134
- 21- Tal Marshak, Mariana Steiner, Margalith Kaminer, Levana Levy ,Avi Shupak  
Prevention of Cisplatin-Induced Hearing Loss by Intratympanic Dexamethasone: A Randomized Controlled Study *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* 2014; 150(6) 983–990
- 22-13-Kirkim G, Olgun Y, Aktas S, Kiray M, Kolatan E, Altun Z, Erçetin P, Bagriyanik A, Yilmaz O, Ellidokuz H. Is there a gender-related susceptibility for cisplatin ototoxicity? *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014 PMID: 25214172
- 23- Cho SI, Lee JH, Park JH, Do NY. Protective effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate against cisplatin-induced ototoxicity. *J Laryngol Otol*. 2014, 15:1-6.PubMed PMID: 24735939.
- 24- Kuduban O, Kucur C, Sener E, Suleyman H, Akcay F. The role of thiamine pyrophosphate in prevention of cisplatin ototoxicity in an animal model. *ScientificWorldJournal*. 2013, 16;2013:182694.

25-Ozturk M, Ucar S, Sarı F, Erdogan S, Topdag M, Iseri M. Possible protective effect of sertraline against cisplatin-induced ototoxicity: an experimental study. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:523480.

26-Topdag M, Iseri M, Gelenli E, Yardimoglu M, Yazir Y, Ulubil SA, Topdag DO, Ustundag E. Effect of intratympanic dexamethasone, memantine and piracetam on cellular apoptosis due to cisplatin ototoxicity. *J Laryngol Otol*. 2012;126(11):1091-6.

27-Kaur T, Mukherjea D, Sheehan K, Jajoo S, Rybak LP, Ramkumar V. Short interfering RNA against STAT1 attenuates cisplatin-induced ototoxicity in the rat by suppressing inflammation. *Cell Death Dis*. 2011;2:e180.

28-Lee SH, Kim HS, An YS, Chang J, Choi J, Im GJ. Protective effect of resveratrol against cisplatin-induced ototoxicity in HEI-OC1 auditory cells. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015 ;79(1):58-62.

29-Fang B, Xiao H. Rapamycin alleviates cisplatin-induced ototoxicity in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014,13;448(4):443-7

30-Roldán-Fidalgo A, Trinidad A, Rodríguez-Valiente A, García-Berrocal JR, Millán I, Coronado MJ, Ramírez-Camacho R. Effect of intratympanic dimethyl sulphoxide (DMSO) in an in vivo model of cisplatin-related ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014 ,271(12):3121-6.

31-Kim SJ, Ho Hur J, Park C, Kim HJ, Oh GS, Lee JN, Yoo SJ, Choe SK, So HS, Lim DJ, Moon SK, Park R. Bucillamine prevents cisplatin-induced ototoxicity through induction of glutathione and antioxidant genes. *Exp Mol Med*. 2015;47:e142.

32-Ma W, Hu J, Cheng Y, Wang J, Zhang X, Xu M. Ginkgolide B protects against cisplatin-induced ototoxicity: enhancement of Akt-Nrf2-HO-1 signaling and reduction of NADPH oxidase. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015;75(5):949-59.

33- Choi SJ, Kim SW, Lee JB, Lim HJ, Kim YJ, Tian C, So HS, Park R, Choung YH. Ginkgo biloba extracts protect auditory hair cells from cisplatin-induced ototoxicity by inhibiting perturbation of gap junctional intercellular communication. *Neuroscience*. 2013;244:49-61.

34-Choi J, Kim SH, Rah YC, Chae SW, Lee JD, Md BD, Park MK. Effects of caffeic acid on cisplatin-induced hair cell damage in HEI-OC1 auditory cells. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014;78(12):2198-204.

- 35- Altun Z, Olgun Y, Ercetin P, Aktas S, Kirkim G, Serbetcioglu B, Olgun N, Guneri EA. Protective effect of acetyl-L-carnitine against cisplatin ototoxicity: role of apoptosis-related genes and pro-inflammatory cytokines. *Cell Prolif.* 2014;47(1): 72-80.
- 36- Hong SJ, Im GJ, Chang J, Chae SW, Lee SH, Kwon SY, Jung HH, Chung AY, Park HC, Choi J. Protective effects of edaravone against cisplatin-induced hair cell damage in zebrafish. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2013;77(6):1025-31.
- 37- Chang J, Jung HH, Yang JY, Lee S, Choi J, Im GJ, Chae SW. Protective effect of metformin against cisplatin-induced ototoxicity in an auditory cell line. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2014 ;15(2):149-58.
- 38- Kemp DT. Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms. *Hear Res* 1986; 22: 95–104.
- 39-Martin GK, Probst R, Lonsbury- Martin BL. Otoacoustic emissions in human ears: Normative findings. *Ear and Hearing.*1990;11(2):106-20.
- 40-Carolyn J. Brown, İşitmenin elektrofizyolojik olarak belirlenmesi. . In Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT, Schuller DE, ed. *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi.* 4. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2007, 3466-3467.
- 41- Murdaca G, Spanò F, Contatore M, Guastalla A, Magnani O, Puppo F. Efficacy and safety of etanercept in chronic immune-mediated disease. *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13(5):649-61
- 42- Murdaca G, Spanò F, Contatore M, Guastalla A, Magnani O, Puppo F. Pharmacogenetics of etanercept: role of TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in improving its efficacy. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2014 ;10(12):1703-10.
- 43- Kivelevitch D, Mansouri B, Menter A. Long term efficacy and safety of etanercept in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis. *Biologics.* 2014;8:169-82.
- 44- Kozak N, Friedman J, Schattner A. Etanercept-associated transient bone marrow aplasia: a review of the literature and pathogenetic mechanisms. *Drugs R D.* 2014 ; 14(2):155-8
- 45-[www.ilacpedia.com/etanercept](http://www.ilacpedia.com/etanercept)
- 46- Marotte H, Cimaz R. Etanercept - TNF receptor and IgG1 Fc fusion protein: is it different from other TNF blockers? *Expert Opin Biol Ther.* 2014;14(5):569-72.

- 47-Lobo D, Trinidad A, García-Berrocal JR, Verdaguer JM, Ramírez-Camacho R. TNF $\alpha$  blockers do not improve the hearing recovery obtained with glucocorticoid therapy in an autoimmune experimental labyrinthitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2006;263(7):622-6.
- 48- Wang X, Truong T, Billings PB, Harris JP, Keithley EM. Blockage of immune-mediated inner ear damage by etanercept. *Otol Neurotol.* 2003;24(1):52-7.
- 49-Matteson EL, Choi HK, Poe DS, Wise C, Lowe VJ, McDonald TJ, Rahman MU. Etanercept therapy for immune-mediated cochleovestibular disorders: a multi-center, open-label, pilot study. *Arthritis Rheum.* 2005;53(3):337-42.
- 50-Cohen S, Shoup A, Weisman MH, Harris J. Etanercept treatment for autoimmune inner ear disease: results of a pilot placebo-controlled study. *Otol Neurotol.* 2005;26(5):903-7.
- 51- Arpornchayanon W, Canis M, Ihler F, Settevendemie C, Strieth S. TNF- $\alpha$  inhibition using etanercept prevents noise-induced hearing loss by improvement of cochlear blood flow in vivo. *Int J Audiol.* 2013;52(8):545-52.
- 52-Scherer EQ, Yang J, Canis M, Reimann K, Ivanov K, Diehl CD, Backx PH, Wier WG, Strieth S, Wangemann P, Voigtlaender-Bolz J, Lidington D, Bolz SS. Tumor necrosis factor- $\alpha$  enhances microvascular tone and reduces blood flow in the cochlea via enhanced sphingosine-1-phosphate signaling. *Stroke.* 2010;41(11):2618-24.
- 53-Topdag M, Iseri M, Topdag DO, Kokturk S, Ozturk M, Iseri P. The effect of etanercept and methylprednisolone on functional recovery of the facial nerve after crush injury. *Otol Neurotol.* 2014;35(7):1277-83.
- 54-König C, Zharsky M, Möller C, Schaible HG, Ebersberger A. Involvement of peripheral and spinal tumor necrosis factor  $\alpha$  in spinal cord hyperexcitability during knee joint inflammation in rats. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(3):599-609.
- 55-Camara ML, Corrigan F, Jaehne EJ, Jawahar MC, Anscomb H, Baune BT. Effects of centrally administered etanercept on behavior, microglia, and astrocytes in mice following a peripheral immune challenge. *Neuropsychopharmacology.* 2015;40(2):502-12.
- 56-Tobinick E, Rodriguez-Romanacce H, Levine A, Ignatowski TA, Spengler RN. Immediate neurological recovery following perispinal etanercept years after brain injury. *Clin Drug Investig.* 2014;34(5):361-6.
- 57-Kristin R. Knight, Dale F. Kraemer, Christiane Winter, and Edward A. Neuwelt Early Changes in Auditory Function As a Result of Platinum Chemotherapy: Use of

Extended High-Frequency Audiometry and Evoked Distortion Product Otoacoustic Emissions *The Journal of Clinical Oncology* 2007, 25:1190-1195

58-Kim J, Cho HJ, Sagong B, Kim SJ, Lee JT, So HS, Lee IK, Kim UK, Lee KY, Choo YS. Alpha-lipoic acid protects against cisplatin-induced ototoxicity via the regulation of MAPKs and proinflammatory cytokines. *Biochem Biophys Res Commun.*2014;449(2):183-9.

59- Street I, Jobanputra P, Proops DW. Etanercept, a tumour necrosis factor alpha receptor antagonist, and methotrexate in acute sensorineural hearing loss. *J Laryngol Otol.* 2006;120(12):1064-6.

60-Paradisi A, Abeni D, Bergamo F, Ricci F, Didona D, Didona B. Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(2):278-83.

61-Duffy HS, John GR, Lee SC, Brosnan CF, Spray DC. Reciprocal regulation of the junctional proteins claudin-1 and connexin43 by interleukin-1beta in primary human fetal astrocytes. *J. Neurosci.* 20:RC114, 2000.

62-4.Kim YJ, Kim J, Tian C, Lim HJ, Kim YS, Chung JH, Choung YH. Prevention of cisplatin-induced ototoxicity by the inhibition of gap junctional intercellular communication in auditory cells. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Oct;71(19):3859-71.

63-prtkl-Atar Y, Topaloğlu İ, Saltürk Z, Uğraş H Sağlıklı erişkin sıçanlarda işitmenin Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ölçüm yöntemiyle değerlendirilmesi *Genel Tıp Dergisi* 2011;21(4)

64-Rahko T, Kumpulainen P, Ihalainen H, Ojala E, Aumala O. A new analysis method for the evaluation of transiently evoked otoacoustic emissions. *Acta Otolaryngol* 1997;529:66-8.

65-Arnold DJ, Losbury-Martin B, Martin GK. High-frequency hearing influences lower-frequency distortion-product otoacoustic emissions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery* 1999;125:215–22.

66-Kim DO, Paparello J, Jung MD, Smurzynski J, Sun X. Distortion product otoacoustic emission test of sensorineural hearing loss: Performance regarding sensitivity, specificity and receiver operating characteristics. *Acta Otolaryngol* 1996;116:3–11.

67-Pollera CF, Marolla P, Nardi M, et al. Very high-dose cisplatin-induced ototoxicity: a preliminary report on early and long-term effects. *Cancer Chemother Pharmacol* 1988;21:61–64

68-Beattie RC, Kenworthy OT, Luna CA: Immediate and short-term reliability of distortion-product otoacoustic emissions. *International Journal of Audiology* 2003, 42:348-354