

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA CİSPLATİNE BAĞLI OTOTOKSİSİTEDE
CURCUMİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Ahmet ARSLAN

TRABZON – 2014

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA CİSPLATİNE BAĞLI OTOTOKSİSİTEDE
CURCUMİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

**PROTECTIVE EFFECTS OF CURCUMIN IN THE PREVENTION
OF CISPLATIN INDUCED OTOTOXICITY IN RATS**

UZMANLIK TEZİ

Ahmet ARSLAN

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Abdülcemal Ü. IŞIK**

TRABZON – 2014

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

| | |
|--|-----|
| İÇİNDEKİLER..... | i |
| TABLO DİZİNİ | iii |
| ŞEKİL DİZİNİ | iv |
| GRAFİK DİZİNİ | iv |
| FOTOĞRAF DİZİNİ | iv |
| KISALTMALAR | v |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. İşitme Fizyolojisi | 3 |
| 2.1.1. Ses Dalgası ve Özellikleri | 3 |
| 2.1.2. İşitme | 3 |
| 2.1.2.1. İletim (conduction) Fazı | 3 |
| 2.1.2.2. Dönüşüm (transduction) Fazı | 4 |
| 2.1.2.3. Sinir Şifresi (neural coding) Fazı | 5 |
| 2.1.2.4. Algı (cognition) - Birleştirme (association) fazı | 5 |
| 2.2. Santral İşitme Yolları | 6 |
| 2.3. Ototoksisiteye Genel Bakış | 7 |
| 2.4. Ototoksisitenin Odyolojik Monitorizasyonu | 8 |
| 2.5. Otoakustik Emisyonlar | 8 |
| 2.5.1. Transient Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar (TEOAE) | 9 |
| 2.5.2. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE) | 10 |
| 2.6. Cisplatin | 10 |
| 2.6.1. Cisplatin Ototoksisitesi | 11 |
| 2.6.1.1 Klinik Ototoksisite | 11 |
| 2.6.1.2. Histopatoloji | 11 |
| 2.6.1.3. Ototoksisitenin Mekanizmaları | 12 |

| | |
|--|----|
| 2.7. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri | 14 |
| 2.8. Vitamin E | 17 |
| 2.9. Curcumin | 19 |
| 2.9.1. Curcumin Metabolizması | 20 |
| 2.9.2. Curcuminin Moleküler Özellikleri | 20 |
| 2.9.3. Curcuminin Klinik Özellikleri | 21 |
| 2.9.4. Curcuminin Antioksidan Etkileri..... | 21 |
| 3. MATERYAL VE METOD | 23 |
| 3.1. Deneysel Hayvanlar | 23 |
| 3.2. Deneysel Hayvanlarının Hazırlanması ve Deneysel İşlem | 23 |
| 3.3. Otoakustik Emisyon Kayıtları | 25 |
| 3.4. İstatistiksel Analiz | 27 |
| 4. BULGULAR | 28 |
| 4.1. Gruplar Arası TEOAE Ölçümlerinin Karşılaştırılması | 34 |
| 4.2. Gruplar Arası DPOAE Ölçümlerinin Karşılaştırılması | 38 |
| 5. TARTIŞMA | 43 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 51 |
| 7. ÖZET | 52 |
| 8. SUMMARY | 53 |
| 9. KAYNAKLAR..... | 54 |

TABLOLAR, ŞEKİLLER, GRAFİKLER VE FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

| Tablolar | Sayfa No |
|--|-----------------|
| Tablo 1. Deney ve kontrol grupları..... | 24 |
| Tablo 2. Ratlarda TEOAE sinyal gürültü oranları | 28 |
| Tablo 3. Ratlarda DPOAE sinyal gürültü oranları..... | 29 |
| Tablo 4. 1. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları..... | 29 |
| Tablo 5. 1. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları | 30 |
| Tablo 6. 2. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları | 30 |
| Tablo 7. 2. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları..... | 31 |
| Tablo 8. 3. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları..... | 31 |
| Tablo 9. 3. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları | 32 |
| Tablo 10. 4. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları | 32 |
| Tablo 11. 4. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları..... | 33 |
| Tablo 12. 5. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları..... | 33 |
| Tablo 13. 5. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları | 34 |
| Tablo 14. Tüm gruplarda TEOAE 1500 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması | 34 |
| Tablo 15. Tüm gruplarda TEOAE 2000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması | 35 |
| Tablo 16. Tüm gruplarda TEOAE 3000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması | 36 |
| Tablo 17. Tüm gruplarda TEOAE 4000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması | 37 |
| Tablo 18. Tüm gruplarda DPOAE 3000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması..... | 38 |
| Tablo 19. Tüm gruplarda DPOAE 4000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması..... | 39 |
| Tablo 20. Tüm gruplarda DPOAE 6000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması..... | 40 |
| Tablo 21. Tüm gruplarda DPOAE 8000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması..... | 41 |

| Sekiller | Sayfa No |
|--|-----------------|
| Şekil 1. Kokleanın farklı bölgelerinde cisplatine bağlı ototoksisite yolakları ve potansiyel inhibitörlere genel bakış | 13 |
| Şekil 2. E vitamininin formları..... | 18 |
| Şekil 3. Curcuminin kimyasal yapısı..... | 20 |

| Grafik | Sayfa No |
|--|-----------------|
| Grafik 1. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 1500 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 35 |
| Grafik 2 Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 2000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 36 |
| Grafik 3. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 37 |
| Grafik 4. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 4000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 38 |
| Grafik 5. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 39 |
| Grafik 6. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 40 |
| Grafik 7. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 41 |
| Grafik 8. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması | 42 |

| Fotoğraf | Sayfa No |
|--|-----------------|
| Fotoğraf 1. Zerdeçal familyasından Curcuma Longa kökü ve çiçeği | 19 |
| Fotoğraf 2. Curcumin (Sigma Aldrich Katalog No: c1386)..... | 24 |
| Fotoğraf 3. OAE kayıt alınması | 25 |
| Fotoğraf 4. TEOAE ve DPOAE probu..... | 25 |
| Fotoğraf 5. TEOAE kayıt örneği..... | 26 |
| Fotoğraf 6. DPOAE (DPgram) kayıt örneği..... | 26 |

KISALTMALAR

| | |
|-------|--|
| Vit E | : E vitamini |
| DKY | : Dış kulak yolu |
| ABR | : İşitsel beyin sapı yanıtı (Auditory Brainstem Responses) |
| Hz | : Hertz |
| kHz | : Kilo Hertz |
| dB | : Desibell |
| İTH | : İç titreşim tüylü hücre |
| DTH | : Dış titreşim tüylü hücre |
| ÖT | : Östaki tüpü |
| NO | : Nitrik oksit |
| OAE | : Otoakustik emisyon |
| SOAE | : Spontan otoakustik emisyon |
| DPOAE | : Distortion product otoakustik emisyon |
| TEOAE | : Transient uyarılmış otoakustik emisyon |
| İ.P | : İntraperitoneal |
| İ.V | : İntravenöz |
| NAC | : N-asetil sistein |
| SNR | : Signal to noise ratio, sinyal gürültü oranı |
| GSH | : Glutatyon |
| CP | : Cisplatin |
| Pt | : Platinum |
| CUR | : Curcumin |
| TM | : Timpanik membran |
| THC | : Tetrahidrocurcumin |
| SD | : Standart deviasyon |
| BAX | : Bcl-2 ilişkili x protein |
| BID | : Bh3- interacting domain death agonist |
| msn | : milisaniye |

| | |
|--------|--|
| SOD | : Süperoksit dismutaz |
| KAT | : Katalaz |
| GSH-Px | : Glutasyon Peroksidaz |
| ROR | : Reaktif oksijen radikalleri |
| NO | : Nitrik oksit |
| iNOS | : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz |
| MDA | : Malonildialdehid |
| TRPV1 | : Transient receptor potential vanilloid 1 |
| NOX3 | : NADPH oksidaz 3 |
| PUFA | : Poliansatüre yağ asitleri |
| 4-HNE | : 4-hidroksinonenal |
| NFκB | : Transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa – B |
| HMG1 | : High mobility group 1 |
| SV | : Stria vaskularis |
| SG | : Spiral ganglion |
| SL | : Spiral ligament |
| GST | : Glutasyon-S-transferazlar |

1. GİRİŞ

Kimyasal bir ajanın veya ilacın, denge bozukluğu, işitme kaybı ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak fonksiyonlarında bozulmaya neden olmasına ototoksisite denir. Günümüzde diüretikler, antiinflamatuvarlar, antibiyotikler, antimalaryal ilaçlar, antineoplastik ajanlar ve diğer bazı ilaçların ototoksisiteye neden olduğu bilinmektedir (1). Cisplatin de ototoksik etkisi bilinen antineoplastik ajanlardan birisidir ve başlıca baş boyun kanserleri, ürogenital sistem kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, osteosarkom, özofagus kanserleri olmak üzere solid organ tümörlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (2). Cisplatinin ototoksik etkisi, tinnitusun eşlik ettiği, progresif, geri dönüşümsüz, bilateral yüksek frekanslarda sensorinöral işitme kaybı ile karakterize olup doz sınırlayıcı major yan etkilerinden birisi olarak kabul edilmektedir (2). Cisplatin reaktif oksijen radikalleri ve reaktif azot radikallerini arttırmaktadır ve apoptozisi tetiklemektedir. Bunun sonucu olarak da dış tüylü hücrelerde, stria vaskulariste spiral ligamentte ve spiral ganglionda hücre kayıpları görülmektedir. Reaktif oksijen ve azot radikallerinden başlayarak apoptozise giden bu süreçteki basamakları inhibe ederek koklear hasarı azaltabilecek bir çok farklı ajan denenmiştir.

E vitamini (Vit E) de bu ajanlar arasında yer almaktadır. Vit E'nin peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize ederek antioksidan etki gösterdiği bilinmektedir (3). Bu özelliği ile cisplatin ototoksisitesinden korunmada genel olarak koruyucu etkileri görülmüştür. Bir çok çalışmada ise yeni denenecek ajanların etkinliğinin kıyaslanması açısından kılavuz olarak da kullanıldığı görülmektedir.

Curcuma Longa, uzak doğuda özellikle Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zencefilgiller ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da uzun yıllardır kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan curcumin sarı renkte ve oldukça lipofilik bir pigmenttir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda curcuminin

antioksidan özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, immunomodulatuvar, antitümoral ve antipsöriyatik etkinliği olduğu bildirilmiştir (4,5).

Literatürde bildiğimiz kadarıyla curcuminin antioksidan bir ajan olarak cisplatine bağlı ototoksisite modelinde kullanımı ve etkilerine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada curcuminin antioksidan özellikleri göz önünde bulundurularak; CP kullanımına bağlı ototoksisitenin odyolojik değerlendirme ile belirlenmesi, curcumin ve E vitamini kullanımı ile ototoksisitenin azaltılabilir ya da önlenbilir olup olmadığı ve bu ajanların etkilerinin birbirlerine olan üstünlüğünün araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İşitme Fizyolojisi

2.1.1. Ses Dalgası ve Özellikleri

Ses enerjisi bir titreşimdir. Sesin saniyedeki titreşim sayısına sesin frekansı, tonu ya da perdesi denir. Sesin frekansı Hertz (Hz) ile ifade edilir. İnsan kulağı 16–20.000 Hz aralığındaki sesleri duyar. Sesin şiddet birimi desibeldir (dB). 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 (6).

2.1.2. İşitme

Atmosferde meydana gelen ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanmasından, beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar olan süreç işitme olarak adlandırılır ve işitme sistemi denen geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Dış, orta ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır. İşitme birbirini izleyen birkaç fazda gerçekleşir (6).

2.1.2.1. İletim (conduction) Fazı

İşitmenin olabilmesi için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden dış ve orta kulak aracılığı ile korti organına iletilmesi gereklidir. Aurikula ses dalgalarının toplanmasında, dış kulak yolu da bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde rol oynar (6).

Orta kulak, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarının iç kulaktaki sıvı ortama geçmesini sağlar. Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken yani direnci düşük olan gaz ortamdan direnci daha yüksek olan sıvı ortama geçerken ortalama 30 dB civarında bir enerji kaybına uğrar. Orta kulak, bu ses dalgalarındaki enerji azalmasını önlemek amacı ile empedans (direnc) denkleştirme görevi üstlenir. Orta kulağın ses yükseltici etkisi üç mekanizmayla olmaktadır (6-8).

1. Kulak zarı kemiğe sıkı bir şekilde yapıştığı için anulusta titreşemez. İnce olan orta kısımda titreşir ve titreşim enerjisi yarı sabit manubrium malleide yoğunlaşır. Bu şekilde ses enerjisi iki katına çıkar.

2. Ses dalgası ile inkudomalleolar kompleks tek bir ünite gibi hareket eder. Bu şekilde manubrium üzerinde yoğunlaşan ses enerjisi inkudomalleolar kompleks aracılığıyla stapesin başına 1.3 kat güçlenerek ulaşmış olur.

3. Kulak zarı ve stapes tabanındaki titreşim alanları arasındaki oran yaklaşık olarak 18/1'dir. Kulak zarının en periferik bölgelerinin titreşmediği düşünülürse efektif oran 14/1dir. Ses, kulak zarı ile stapes tabanlarının birbirine oranı ile orantılı olarak 14 kat güçlenerek iç kulağa geçer (6-8).

2.1.2.2. Dönüşüm (transduction) Fazı

İç kulakta frekansların periferik analizi yapılır ve Korti organında ses enerjisi biyokimyasal olaylarla sinir enerjisi haline dönüştürülür (6).

Ses dalgalarının perilenfe iletilmesi: 1960 yılında Bekesy kobaylarda stroboskopik aydınlatma ile ses dalgalarının baziller membranda meydana getirdiği değişiklikleri araştırdı. Ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziller membranda başlayan titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy bu harekete ilerleyen dalga "travelling wave" adını vermiştir. Bazal membran bazal turda dar (0.12 mm), apikal turda daha geniştir (0,5 mm). Bazal turda baziller membran gergindir ve baziller membran genişliği arttıkça gerginlik giderek azalır. Bu fark nedeni ile ses dalgası, bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile götürülmüş olur. Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da baziller membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziller membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde bazal membran

amplitüdüleri bazal turda en yüksektir. Buna karşılık alçak frekanslarda bazal membran amplitüdüleri apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır (6-8).

Kokleada yaklaşık 3500 iç titreşim tüylü hücre (İTH) ve 13000 dış titreşim tüylü hücre (DTH) bulunmaktadır. Bu hücreler ses enerjisinin yani mekanik enerjinin, sinir enerjisine dönüşümünde rol alırlar. Bazal membrandaki yer değişimi, tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki DTH'lerini bükerek hareketlendirir. Tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki sıvı kayma hareketi İTH'lerini hareketlendirir. Böylece İTH hız, DTH yer değiştirme algılayıcısı olarak görev görür. Her tüylü hücrenin titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır. Bu durum baziller membran amplitüdüleri için geçerlidir (6-8).

Kokleada 4 tür elektrik potansiyeli vardır:

1. Endokoklear potansiyel: Stria vaskularis tarafından oluşturulur. Ortalama +80 mV'luk bir değere sahiptir ve istirahat halinde dahi mevcuttur. Ses dalgasından bağımsız bir enerjidir.
2. Koklear mikrofonik: Büyük ölçüde DTH ve bunların meydana getirdiği K⁺ iyonu akımına bağlıdır. Baziller membran hareketleri ve ses uyarılarıyla doğrudan ilişkilidir.
3. Sumasyon potansiyeli: İTH içindeki elektriksel potansiyelin yönlendirdiği bir akımdır. Ses uyarısına, frekansına ve şiddetine göre değişir.
4. Tam sinir aksiyon potansiyeli: Bu potansiyel işitme siniri tarafından oluşturulmaktadır.

2.1.2.3. Sinir Şifresi (neural coding) Fazı

İç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriksel akım, kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Korti organında kodlanmış olur (6).

2.1.2.4. Algı (cognition) - Birleştirme (association) fazı

Tek tek gelen bu sinir iletimleri, işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür. Böylece sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale getirilir. Spiral gangliondaki sinir hücrelerinin aksonları n. koklearis adını alarak poststaki koklear nukleuslara ulaşırlar. Koklear nukleuslar, ventral ve dorsal olmak üzere iki gruptur. Düşük frekanslı seslerle oluşan uyarı

ventral nukleusta, yüksek frekanslı seslerle oluşan uyarı dorsal nukleusta sonlanır. Bu liflerin çoğu beyin sapının karşı tarafına geçerek superior olivar komplekse katılırlar. Lifler buradan lateral lemniskus ve inferior kollikulusa giderler. İnférieur kollikulustan çıkan lifler medial genikulat nukleus aracılığı ile temporal loptaki Silvian fissürüne yerleşmiş işitme merkezine gelirler (6-8).

2.2. Santral İşitme Yolları

Sekizinci kraniyal sinir birkaç daldan oluşur; superior vestibüler sinir, sakküler sinir, inferior vestibüler sinir ve koklear sinir. Bu sinirler otik kapsülü değişik kanallardan geçerek iç kulak yoluna girerler ve buradan n. facialis ve n. intermedius ile birlikte seyrederler.

Koklear çekirdekler: Koklear çekirdekler bütün işitme sinir lifleri için ilk konaktır. Çekirdekler pontomedüller kavşakta bulunur ve simetriktir.

Süperior olivary kompleks ve olivokoklear demet: Superior olivary kompleks, ponsun gri cevherinin hemen arkasında ve ponsun alt kısmında yerleşmiştir.

Lateral lemniskus: En önemli çıkan yoldur. Beyin sapının yan tarafında bulunur. Koklear çekirdekler ve süperior olivary kompleksi inferior kollikulusa bağlar.

İnférieur kollikulus: İki taraflıdır ve mezensefalonda yerleşmiştir. Beyin sapının tavanının bir kısmını yapar. Çıkan işitme lifleri için başlıca konağı oluşturur ve akustik bilgileri hazırlar. Alt beyin sapından gelenleri üst kısımdaki medial genikulat cisme ve işitme korteksine gönderir.

Medial genikulat cisim: Talamusta bulunur. İnférieur kollikulus ile işitme korteksi arasında bir ara istasyondur.

İşitme Korteksi: Primer işitme korteksi ve ilişkili sahalar olmak üzere iki kısma ayrılır. İlişkili sahalar hem akustik hem de diğer duysal girdileri alır. Primer işitme korteksi Brodmann sahası adını alır ve 41-42 olarak numaralandırılmıştır. Temporal lobun üst kısmında yerleşmiştir. Spesifik ve nonspesifik ilişkili sahalar ile çevrelenmiştir (6-8).

2.3. Ototoksisiteye Genel Bakış

Ototoksisite bir ilacın ya da kimyasal bir ajanın işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak disfonksiyonuna neden olabileme yatkınlığı şeklinde tanımlanır (9).

İlaçlara bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir. Çoğunlukla tinnitus en sık görülen semptomdur ve ardından oluşabilecek pek çok toksik etkinin erken habercisidir. Tinnitus genellikle yüksek perdeli ve 4 ile 6 kHz arasında değişen frekanstadır. Sıklıkla işitme kaybından önce ortaya çıkar ve onun yerini alır. Tinnitusun tam olarak kaybolması nadirdir. Ancak zamanla nöral elemanların dejenere olması ile tinnitus şiddetinde azalma olabilmektedir. İşitme kaybı ve tinnitus genellikle bilateral ve hemen hemen simetriktrir. Bununla birlikte bu semptomlar tek taraflı olduğunda ototoksisite yoktur denilemez. İşitme kaybı sensorinöral tipte olup, tipik olarak yüksek frekanslardan başlar. İlaça devam edilmesi ile alçak frekansları da içerecek şekilde ilerler. İşitme kaybı doza bağlı olarak geçici olabileceği gibi kalıcı tipte de olabilir. Salisilatlar ve kinin geçici işitme kaybı ve çınlama yapar. Kıvrım (loop) diüretikleri ani işitme kaybı yapar ve ilacın kesilmesiyle düzelme olur. Aminoglikozid grubu antibiyotikler ise genellikle kalıcı işitme kaybı yapar (9,10).

Vestibüler fonksiyon bozukluğu nadiren kendisini gerçek vertigo olarak gösterir. Daha sıklıkla dengesizlik şeklindedir ve hastalar “dizziness” veya denge kaybından yakınır. Vestibüler semptomlar tam vestibüler kayıp gelişmedikçe, merkezi kompensatuar mekanizmaların bir sonucu olarak zamanla azalma eğilimindedir. Nistagmus olabilir ya da olmayabilir. Ototoksisite sonucu oluşabilen tipik vestibüler fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak hastalar oryantasyonu sağlamak için görsel ve propriyoseptif bilgiye daha fazla gereksinim duyarlar. Dolayısıyla görsel ve propriyoseptif fonksiyonları bozulmuş daha yaşlı insanlarda klinik vestibüler bulgular daha ciddi olabilmektedir (9,10).

Böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği, bağışıklık yetmezliği, altmış beş yaştan büyük olmak, kollajen vasküler hastalıklar, birden fazla ototoksik ilacın birlikte kullanılması, gürültüye maruz kalma, daha önce geçirilmiş sensorinöral kayıplar gibi faktörler ilaçlara bağlı işitsel ve vestibüler toksisite için daha yüksek riske sebep olmaktadır (9).

2.4. Ototoksisitenin Odyolojik Monitörizasyonu

Kulak burun boğaz ve baş boyun cerrahisi hekimi için ototoksik ajanla karşılaşmış hastada odyolojik değerlendirmenin gerekli olup olmadığına ve ne zaman gerektiğine karar vermek; testin zamanlaması, kullanılan ajanın özelliği, hastanın işitme durumu ve değerlendirmenin maliyeti gibi nedenlerden dolayı sıklıkla güçlük arzeder.

Rutin konuşmayı ayırt etme testi ile birlikte saf ses odyometrisi (baseline odyometri=konvansiyonel odyometri) hekim açısından ototoksisiteyi değerlendirmede minimum düzeyde test gereksinimini karşılamaktadır. Ototoksisitenin saptandığı veya yüksek risk altındaki hastalar tedavi sırasında haftada bir, tedavi sonrasında da düzenli aralıklarla test edilmelidir. Konvansiyonel odyometriye uyum sağlayamayan küçük çocukları değerlendirmede ABR (İşitsel beyin sapı yanıtı - Auditory brainstem response) veya otoakustik emisyonlardan (OAE) yararlanılır. Yüksek frekans odyometri de ototoksisitenin monitorizasyonunda oldukça iyi araştırılmış ve uzun süredir kullanılmakta olan duyarlı bir metoddur. Ototoksik ilaç kullanmak durumunda ve yüksek risk grubunda olan hastaların, ilaç kullanmadan önce konvansiyonel odyometri, yüksek frekans odyometri, OAE ve ABR ile değerlendirilerek işitme seviyeleri tespit edilmelidir (9-11).

2.5. Otoakustik Emisyonlar (OAE)

Spontan ya da akustik uyarana yanıt olarak kulak tarafından üretilen ve dış kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli seslerdir (12,13). Dış tüylü hücre hareketi koklea içerisinde mekanik bir enerji ortaya çıkarır. Bu enerji oval pencere ile orta kulağa ve daha sonra timpanik membrana ve kulak kanalına doğru iletilir. Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) oluşur ve bu sinyal hassas bir mikrofonla ölçülebilir.

Sensorinöral işitme kaybı olmayan kulaklarda spontan otoakustik emisyonlar (SOAE), geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar (TEOAE, transient evoked otoakustik emisyonlar) ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE, distortion product otoakustik emisyonlar) elde edilirken, 30 dB'i geçen işitme kayıplarında TEOAE elde edilemezken DPOAE'ler elde edilebilmektedir (14,15).

Otoakustik emisyonlar özellikle dış tüylü hücreleri etkileyen ototoksik ilaçların erken etkilerinin belirlenmesinde kullanılır. Yapılan klinik çalışmalarda OAE'lerin ototoksisite monitörizasyonunda işitme kaybı gelişmeden, erken koklear değişiklikleri saptamada değerli olduğu bildirilmiştir. Ancak, orta kulak fonksiyonlarının önceden değerlendirilmesi ve orta kulağın sağlam olduğunun saptanması doğru tanı için önemlidir (11).

2.5.1. Transient Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar (TEOAE)

TEOAE temel bir akustik stimulusun verilmesinin ardından gürültü seviyesinin azaltılması için averajlama tekniklerinin kullanılmasıyla dış kulak yolundan kaydedilen akustik sinyallerdir. Normal bir kokleada, kendisi de geniş bantlı bir cevap olan TEOAE'ler, tipik olarak yaklaşık 80 dB SPL şiddetinde geniş bantlı bir stimulus olan klik uyararı verilerek, kokleanın geniş bir bölümünün uyarılması sonucunda oluşur. TEOAE'lerin zamana göre dalga formasyonu, stimulusun verilmesini takip eden yaklaşık 20 ms içinde izlenmeye başlayan bir dizi osilasyonlardan oluşur ve yüksek frekanslı komponentler, düşük frekanslı komponentlere göre daha kısa latanslı frekans grupları şeklindedir. TEOAE komponentlerinin her birinin latansı, kokleadaki yürüyen dalga mekaniğince belirlenir (16).

TEOAE'ler tipik olarak frekans dağılımına göre analiz edilir. Sinyal gürültü oranının (SNR, signal to noise ratio) 3-6 dB'den fazla olması ve tekrarlanabilme oranının %90'dan yüksek olması, spesifik bir frekans bandında cevap alınıp alınmamasının tespiti için en sık kullanılan kriterlerdir. Genel olarak orta kulağın normal olduğu olgularda TEOAE'lerin varlığı odyometrik eşiklerin normal veya normale yakın olduğunu gösterir. TEOAE'ler genel olarak odyometrik eşiğin 25-30 dB' den yüksek olduğu kulaklardan elde edilemezler (16).

Çeşitli deney hayvanlarında ve ratlarda işitmenin değerlendirilmesinde TEOAE'ler güvenle kullanılabilir (17).

2.5.2. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

OAE'ler daha spesifik frekanslı stimuluslar kullanılarak ta oluşturulabilir. DPOAE'lar iki farklı frekanstaki saf sesin işitmesi normal olan bir olguda kulağa devamlı verilmesi sırasında kaydedilebilir. Böyle bir 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. İşitme fonksiyonunun incelenmesi için en sık kullanılan distorsiyon ürünü " $2f_1-f_2$ " formülüyle ifade edilebilir. Distorsiyon ürünlerinin bulunması normal kokleanın nonlineer özelliğinin kanıtı olarak değerlendirilir (16).

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 geniş bir frekans aralığındaki 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 anlamlılığı sinyal gürültü oranı ile değerlendirilir. SNR'nin 3dB üzerinde olması beklenir. Orta kulak fonksiyonları normal olan bir olguda, klinik olarak anlamlı DPOAE'lerin bulunmaması odyometrik işitme eşiğinin 30-35 dB'nin üzerinde olduğunu gösterir (16).

Kemirgenlerde iki tonla uyaran verilmesi sırasında yüksek seviyeli distorsiyon oluşmaktadır ve ratlarda işitmenin değerlendirilmesinde DPOAE'ler sıklıkla ve etkin biçimde kullanılmaktadır (18,19). Yapılan çalışmalarda $2f_1-f_2$ frekansı koklear monitörizasyonda daha büyük hassasiyet sağladığı gösterilmiştir (20).

2.6. Cisplatin

Cisplatin baş boyun skuamöz hücreli karsinomu da dahil olmak üzere çok çeşitli neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılan, güçlü alkilleyici olan bir antineoplastik ilaçtır. Bununla birlikte nefrotoksisite, ototoksisite, miyelotoksisite, gastrointestinal toksisite, periferik nöropati gibi ciddi yan etkileri mevcuttur. Doz sınırlayıcı yan etkileri ototoksisite, nörotoksisite ve nefrotoksisitedir (2,3,21,22).

2.6.1. Cisplatin Ototoksitesisi

Cisplatinin ototoksik etkisi çok değişkenlik göstermektedir; doz, veriliş yolu, yaş, diyet faktörleri, genetik faktörler, düşük serum albumini, kranial radyoterapi öyküsü ve anemi gibi diğer faktörlerle ilişkili izlenmektedir (9,21-24).

2.6.1.1. Klinik Ototoksisite

Cisplatine bağlı ototoksisite saatler ve günler içerisinde ortaya çıkabilir. Özellikle çocuklar daha yüksek risk altındadır ve gecikmiş ototoksisite çocuklarda ortaya çıkabilmektedir.

Semptomlar işitme kaybı, kulak ağrısı ve tinnitusu içermektedir. İşitme kaybı genellikle kalıcı olmaya meyillidir ve bilateral simetrik izlenmektedir. Tinnitus ise %2-36 aralığında bildirilmiştir. Her ne kadar yüksek frekanslar ilk olarak etkilense de 100 mg/m²'yi bulan dozlarda kullanıldığında, işitme kaybının orta frekanslara ilerlediği gözlenmiştir. Yüksek doz cisplatin (150-225 mg/m²) kullanılan hastaların hemen hepsinde ultra yüksek frekanslarda işitme kaybı gösterilmiştir. Cisplatin kullanan bir grup hastada %20 oranında kalıcı işitme kaybı saptanırken, 400 mg/m² kümülatif dozdan daha fazla ilaç alan hastaların % 50'den fazlasında kalıcı işitme kaybı görülmüştür. Yine yapılan çalışmalarda cisplatinin erken yaşta uygulanması ve kemoterapi döngü sayısındaki artışların işitme kaybı şiddetini arttırdığı tespit edilmiştir. Cisplatin düşük dozlarda ve erken dönemde yüksek frekanslardan başlayan genellikle kalıcı ve bilateral simetrik işitme kaybı yaparken, kümülatif doz ve yüksek dozlarda verilmesi ile orta frekanslara ilerleyen sensorinöral işitme kaybına sebep olmaktadır. Bu işitme kaybına tinnitus ve kulak ağrısı eşlik edebilmektedir. Vestibüler toksisitenin ise özellikle hali hazırda vestibüler sorunları olan hastalarda belirgin olduğu gözlenmektedir (9,22).

2.6.1.2. Histopatoloji

Cisplatin kullanımı olan ve işitme kaybı saptanan hastaların iç kulak histopatolojik incelemelerinde; bazalde dış tüylü hücrelerde, spiral ganglionda ve koklear sinirde dejenerasyon, iç ve dış tüylü hücreler ile spiral ganglion hücrelerinde azalma ve stria

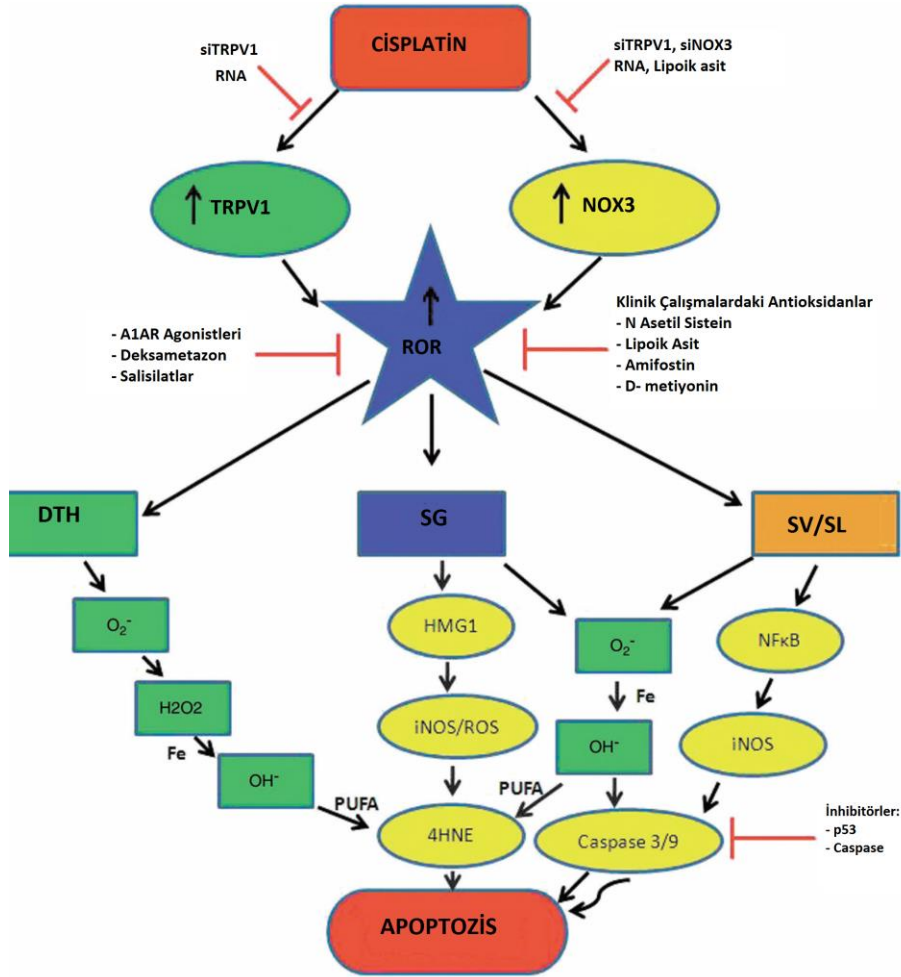
vasküleriste atrofi izlenmiştir. Yine elektron mikroskopik incelemelerde dış tüylü hücre stereosilialarında füzyon ve kutiküler plak harabiyeti ortaya koyulmuştur. Hayvan çalışmalarında yapılan incelemelerde, cisplatinin dış tüylü hücrelerde oluşturduğu hasarın bazal kıvrımdan başladığı ve artan veya yüksek dozla ilişkili olarak hasarın apekse doğru progresif olarak ilerlediği gösterilmiştir. Düşük cisplatin düzeylerine maruziyette ilk olarak stereosiliaların uç hasarı ortaya çıkmakta ve sonrasında stereosilia füzyonları görülmektedir. Cisplatin dozu arttırıldığında mitokondri ve endoplazmik retikulum hasarı, stereosilia ve tüylü hücre kaybı gözlenmektedir. Yüksek doza maruz bırakıldığında ise stria vaskularis atrofsi, Reissner membranı kollapsı, Korti organındaki destek hücre hasarı meydana gelmektedir. Cisplatinin işitme sinirine yönelik nörotoksitesisi ise iki tiptir. Birincisi direkt olarak nöron toksitesisidir. İkinci tip ise tüy hücrelerini innerve eden sinirler için gerekli olan nörotropin tip 3 faktörünün kaybıyla birlikte gelen dejeneratif süreçtir (9,22,25-27).

2.6.1.3. Ototoksitesinin Mekanizmaları

Cisplatine bağlı ototoksitesinin reaktif oksijen ürünleri ile oluştuğu gözlenmektedir. Süperoksit anyon ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen molekülleri ve nitroz oksid gibi reaktif nitrojen ürünleri hücresel lipidler, proteinler ve DNA ile reaksiyona girerek hücre hasarı meydana getirirler. İç kulak tripeptid glutatyon ve onunla ilişkili glutatyon peroksitaz, glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimleri içeren bir korunma sistemine sahiptir (9,22).

Cisplatin gerek süperoksit iyonları gerekse hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini üretebilir, normal dokudaki antioksidan enzimleri inhibe edebilir (21,26). Reaktif oksijen ürünlerinin plazma membranı ile reaksiyona girmeleri, 4-hidroksinonenal gibi yüksek reaktivite gösteren ve hücresel hasar ve hücre ölümüne neden olabilen lipid peroksitasyon ürünlerini ortaya çıkarır. Cisplatin ototoksitesininin birincil hedef hücreleri kokleanın bazal kıvrımındakiler daha belirgin olmak üzere dış tüylü hücrelerdir. Bunun nedeni glutatyon depolarının bu hücrelerde, iç tüylü hücreler ve daha apikal kıvrımdaki dış tüylü hücrelerdekine oranla daha düşük olması sonucu olabilir. Reaktif oksijen ürünleri ve reaktif nitrojen ürünleri hücresel komponentlere zarar verebilir ve süperoksit anyonu nitrik oksit ile reaksiyona girerek yine hücresel komponentlere zarar veren yüksek toksik yapıda olan peroksinitriti oluşturur. Süperoksit anyon, nitrik oksit ve diğer reaktif moleküller

hücrel bir protein olan p53'ü aktive ederler. Bu aktivasyon sırasıyla hücre ölümüne yol açan enzimleri, caspase'ları aktifler. Aktive olan caspase-8 inaktif formda olan hücrel BID proteinini aktifler. Aktive BID sitozolik bir protein olan BAX'ı etkiler ve mitokondri üzerine transloke eder. Aktive BAX mitokondriyal membranı daha akışkan hale getirir, bu sayede mitokondriyal bir enzim olan sitokrom-c sitoplazmaya çıkar. Sitozolik sitokrom-c diğer bir hücre öldürücü enzim olan caspase-9 ile reaksiyona girer ve apoptozis ile sonuçlanacak şekilde caspase-3 ve 7 ortaya çıkar. Tüm bunlar dış tüylü hücre ölümü ve apoptozuna yol açarak, tüylü hücre kaybına yol açmaktadır (9,22).



Şekil 1. Kokleanın farklı bölgelerinde cisplatin'e bağlı ototoksisite yolları ve potansiyel inhibitörlere genel bakış.

“Mechanisms of cisplatin induced ototoxicity and prevention (Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Hear Res. 2007)” adlı makaleden alınarak uyarlanmıştır.

Cisplatin uygulaması reaktif oksijen radikallerinin artışına yol açan TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1) ve NOX3 (NADPH oksidaz 3) indüksiyonu/aktivasyonuna sebep olur. Reaktif oksijen radikallerinin kokleanın tüm bölümlerinde apoptozis ile sonuçlanan yolakların en sık rastlanılanlarından birisi; serbest süperoksit radikalının su ile reaksiyonu sonucu hidrojen peroksidi oluşturması, hidrojen peroksidin de demir ile etkileşimi sonucu reaktif hidroksil radikali oluşması aracılığıyla oluşmaktadır. Reaktif hidroksil radikali hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle (PUFA) etkileşime girerek, oldukça toksik bir aldehid olan ve hücre ölümüne yol açan 4-hidroksinonenal' e (4-HNE) dönüşmektedir (22).

Buna ek olarak cisplatinin NFκB (Transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa - B) aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. NFκB'nin kokleada lateral duvarda yani stria vaskülaris (SV) ve spiral ligamentte (SL) iNOS (indüklenmiş nitrik oksit sentaz) aracılığı ile nitrik oksit (NO) oluşumunu arttırdığı görülmüştür. Salınan bu NO süperoksit ile reaksiyona girerek, sonucunda apoptozisin olduğu caspase kaskadını aktive eden peroksinitrit oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Spiral ganglionda (SG) cisplatinin iNOS artışına sebep olan HMG1 (high mobility group 1) proteininin ekspresyonunu arttırdığı, bunun sonucunda 5-HNE ve/veya caspase kaskadının aktivasyonu ile hücre ölümüne sebep olduğu gösterilmiştir (22).

2.7. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller, en dış yörüngesinde tek sayıda elektron içeren, ileri derecede reaktif, kısa ömürlü ve kararsız moleküllerdir. Moleküler oksijenin indirgenmesi ve uyarımı ile çok değişik serbest oksijen radikalleri üretebilirler (28,29).

Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit radikali (O_2^-) oluşur. Süperoksit radikalinden enzimatik yolla veya spontan dismutasyonla ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit radikali (H_2O_2) oluşur. Daha sonra özellikle mitokondride diğer bir ürün olan hidroksil radikali (OH^-) oluşur. Organizmada bu serbest radikaller dışında hidrojen peroksit, hipoklorik asit gibi radikal olmayan, bununla birlikte serbest radikal oluşturma potansiyelinde olan zararlı oksijen türleri de oluşabilmektedir. Diğerleriyle karşılaştırılığında O_2^- radikali yüksek elektron aktivitesine sahiptir ve çok reaktiftir. Ancak

oksijen radikallerinden en aktif olanı OH^- radikalidir (28,29). Hücreler reaktif oksijen radikallerinin (ROR) hasarına bağışık değildir. Ancak genellikle glutatyon (GSH) ve katalaz (KAT) ile oksijen hasarına karşı korunmuşlardır. Organizmada ROR ortaya çıktıktan sonra radikal reaksiyon dizileri başlar. Eğer bir serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, binlerce reaksiyondan oluşan reaksiyon zincirlerini başlatır. ROR'u paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar (29).

Bu hasarlanma özetle şu mekanizmalarla olur:

Lipid Peroksidasyonu: Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksidan bir radikalın etkisiyle membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikallerin, süperoksit ile hidroksil radikalleri olduğu kabul edilmektedir. Yağ asidi, zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması sonucu zincir radikal niteliğini kazanır. Bunun sonucunda oluşan radikal, alkil radikali olup dayanıksız bir türevidir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşimi sonucunda lipid peroksi radikali (LOO^-) oluşur. LOO^- zar yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek hidroperoksit (ROOH) ve yeni bir alkil radikali oluşturur. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroksiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşikleri ile etkileşmesi sonucu etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşür (28,29,30). Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışı neticesinde hücrenin hasarına ve içeriğinin serbestleşmesine neden olur. Ek olarak lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malonildialdehid (MDA) membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına yol açar. Bu da, hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini, iyon transportunu etkileyebilir (29,30).

Protein oksidasyonu: Serbest radikaller ile oluşan protein oksidasyonunun kimyasal sonucu olarak metionin sülfokside, histidin oksihistidine veya asparagine, tirozin ditirozine ve sistein disülfidlere dönüşür. Bu değişiklikler proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında

bozulmalara yol açabilir (29,30). Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur (31). Bu reaksiyonlar sonucu immunglobulin G ve albumin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (32).

DNA: Reaktif oksijen radikalleri adenin ve piridin nükleotid durumlarının sürdürülebilmesi için gerekli yollara engel olabilirler. Reaktif oksijen radikalleri DNA ile tepkimeye girerek mutajenik olan 8-Hidroksiguanin'in ortaya çıkmasına neden olur (33,34).

Kovalen Bağlanma: Serbest radikaller polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, ve nitrozaminler gibi ksenobiyotiklerin çeşitli biyomoleküllere kovalen bağlanmasına neden olabilir. Bu da doğrudan hücre hasarına yol açabilir (34).

Kalsiyum: Hücre yaralanması ile ilgili olduğu düşünülen bir elementtir. Kalsiyumun transportunu engelleyen herhangi bir durum hücre fonksiyonlarını olumsuz etkiler. Kalsiyum ATPaz enzimleri önemli sülfidril gruplarına sahiptir ve ROR tarafından inaktive edilebilir. Sitokinler, hipoksi, endotoksin gibi faktörler ROR aracılı yolağı kullanarak, hücre enerjisini azaltabilirler (35).

Organizmada devamlı olarak ROR oluşmasına rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dinamik dengeden dolayı zararlı etkiler ortaya çıkmaz. Fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu bu dengenin oksidasyon lehine değişmesi durumunda oksidatif hasar gelişebilmektedir. Antioksidan savunma sisteminde görev yapan moleküller; yapı ve işleyiş mekanizmalarına göre “enzimatik” veya “enzimatik olmayan” antioksidanlar olarak gruplandırılabilir. Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca antioksidan enzimler yardımıyla korunurlar. Bunlar; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferaz, , katalaz ve süperoksit dismutazdır (SOD). *Enzimatik olmayan antioksidanlar* ise α -lipoik asit, bakır, çinko, selenyum gibi elementler ile folik asit, ürik asit, albumin gibi kofaktörler ve E, A, C, B1, B2, B6, B12 gibi vitaminler yanında melatonin, albümin, sistein, bilirubin, seruloplazmin, ferritin, transfferin, laktoferrin, haptoglobülin, hemopeksin, mannitol, oksipurinol, probukol, deferoksamin, flavonoidler, fitoaleksinler ve araştırma aşamasında olan birçok maddedir (29,30,36,37).

Antioksidan enzimler: Serbest radikalleri, biyolojik önemi olan moleküllerle etkileşmeden önce daha zararsız bileşiklere dönüştürerek veya başka moleküllerden radikal üretimini engelleyerek etkilerini gösterirler (29,30).

a) Süperoksit dismutaz (SOD): Bu enzim süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (38). Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

b) Katalaz: Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir (38). Hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalar (29,30).

c) Glutatyon peroksidaz: GSH-Px hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik dört selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir (33). Membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkollere indirger (29,38).

d) Glutatyon-S-transferazlar (GST): GST'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Tüm canlı hücrelerde bulunması hayati öneminin göstergesidir.

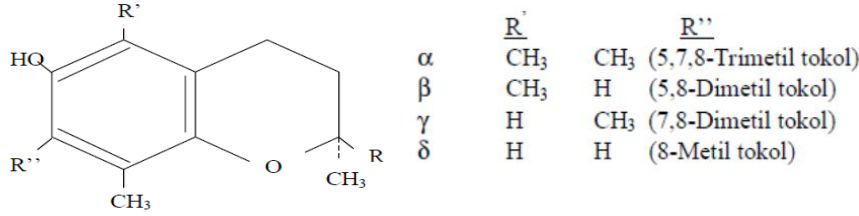
Serbest radikal toplayıcılar: Vitamin E, vitamin C, β -karoten, ürik asit, bilirubin, albümin bu gruptandır ve sekonder antioksidanlar olarak bilinir. Bunlar serbest radikalleri yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engeller (29,30).

Nötrofil inhibitörleri: PAF antagonistleri ve 5-lipooksijenaz inhibitörleri kemotaksisi inhibe ederken Transforming Growth Faktör β ise nötrofillerin endotele yapışmasını ve adozin reseptör mekanizması yoluyla aktive nötrofillerden serbest radikal üretimini inhibe eder (39).

2.8. Vitamin E

1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilen bu maddeye 1924 yılında Sure tarafından "E vitamini" ismi verilmiştir. E vitamini, yapısal olarak birbiriyle bağlantılı, temelde 2-metil-6-kroman çekirdeği içeren ve 2. karbona bağlı 16 karbonlu fitil yan zincirli bir grup bileşiği kapsar. Vitamin E benzeri bileşikler iki grupta toplanırlar. Birinci

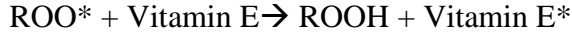
grup tokoferoller, ikinci grup tokotrienoller olarak adlandırılır. Tokoferollerdeki yan zincir doymuş, tokotrienollerdeki ise doymamıştır (40).



Şekil 2. E vitamininin formları .

“E Vitamini ve Klinik Önemi” (Meram İ, Köylüoğlu O ve Tarakçıoğlu M. İbni Sina Tıp Dergisi, 2001) adlı makaleden alınarak uyarlanmıştır.

E vitaminin biyolojik aktif formu tokoferoldür. Doğal olarak mevcut olan 8 tane tokoferol vardır ve bunlardan en aktif olanı α -tokoferoldür. Alfa tokoferol plazmadaki E vitamininin % 80-90'ını oluşturur. Dokudaki major E vitamini formudur. Bu yüzden α -tokoferol üstüne daha çok odaklanılmıştır (41). Yağda çözünen bir vitamin olan tokoferolün vücutta, antioksidan özelliği ile hücrelerin serbest radikallerden korunması ve vitamin özelliği ile fizyolojik etkileri vardır. Tokoferollerin hepsi aynı biyolojik aktivite ve aynı antioksidan etkide olmakla birlikte, etki güçleri bakımından birbirinden farklıdır. Biyolojik aktivite yönünden $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ iken antioksidan etki bakımında $\delta < \gamma < \beta < \alpha$ 'dır. E vitamininin önemli bir özelliği; antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir. Yani serbest oksijen radikallerini bağlayarak, oksijen etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Hücrelerde doymamış yağ asitleri (linoleik asit ve araşidonik asit gibi) kendiliğinden veya oksidan metabolitlerin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler. Böylece lipit peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar. Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamini dir. Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutatyon, peroksidaz ve beta karoten gibi) E vitamini kadar etkili değildir. E vitamini lipit peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendisinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline (ROO*) transfer eder.



E vitamini radikali nispeten stabil reaktivitesi az olan bir radikaldır. Serbest radikallerle birleşen tokoferolkinona dönüşen α -tokoferol bu şekilde radikal temizleyici işlevini gerçekleştirmektedir (42).

2.9. Curcumin

Curcumin, zerdeçal olarak da bilinen hint safranı baharatında bulunan bir pigmenttir, köri tozu üretiminde kullanılır. Hint safranına sarı rengini curcumin verir.

Curcuma Longa, uzak doğuda özellikle Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da uzun yıllardır kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan curcumin (CUR) portakal sarısı rengi ile gıda boyası olarak ta kullanılmaktadır. Sıklıkla kullanılan köri baharatının ana componentidir. Kimyasal yapısı Şekil 2'de gösterilmiştir. CUR'un yaygın kullanımı son yıllarda birçok araştırmacı için araştırma konusu oluşturmuştur. Çeşitli çalışmalarda CUR'un antioksidan, antiinflamatuvar, immün sistem düzenleyici, antitümoral ve antipsoriatik etkinliği gösterilmiştir (43).



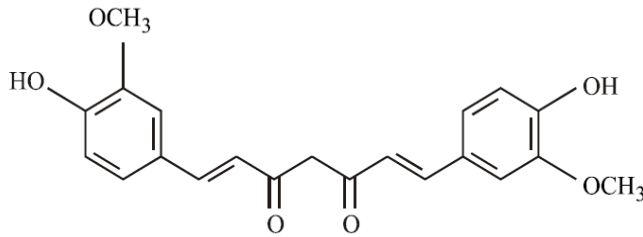
Fotoğraf 1. Zerdeçal familyasından Curcuma Longa kökü ve çiçeği

2.9.1. Curcumin Metabolizması

Curcumin suda çözünmez, hücre membranının hidrofobik yapılarında lokalize olur. CUR yapısı nedeniyle hücrelere hızlıca penetre olur, plazma membranından hızlıca geçip sitozole girer. Lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı, endoplazmik retikulum ve çekirdek kılıfı gibi membranöz yapıların içinde toplanmaktadır. CUR sistemik dolaşımında çok düşük düzeyde olur veya hiç bulunmaz. Tetrahydrocurcumin (THC), CUR'un barsaklardan emilimi sırasında renksiz ve daha az polar olan metabolitidir. THC barsaklardan emilerek tüm dokulara dağılmaktadır. THC karaciğerde glukuronik asitle işlenerek safra yolu ile atılmaktadır. Ağızdan alınan CUR'un yaklaşık % 75 i feçesle, geri kalan kısmı idrarla atılmaktadır. İntraperitoneal uygulamalarda da vücuttan atılımı benzerdir (43-45).

2.9.2. Curcuminin Moleküler Özellikleri

CUR genel olarak doğal ve yapay CUR şeklinde sınıflandırılmaktadır. CUR, demetoksicurcumin, bisdimetoksicurcumin doğal olarak bulunan bileşiklerdir (32). Suda çözünmeyen CUR; etanol, keton, asetik asit, kloroform ve karboksi metilselülozde çözünür (46,47).



Şekil 3. CUR'un kimyasal yapısı

“Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin” (Duvoix A, Blasius R, Delhalle S. Cancer Lett 2005) adlı makaleden alınarak uyarlanmıştır.

2.9.3. Curcuminin Klinik Özellikleri

Curcuminin birçok farklı farmakolojik aktiviteleri ve biyolojik faydaları son yıllarda önemli ölçüde dikkat çekmiştir. Curcuminin antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antialerjik, antidemans etkileri ve serbest radikal temizleyicisi olduğu yapılan birçok çalışmayla gösterilmiştir. Ayrıca CUR'un anoreksia, öksürük, diabetes, karaciğer hastalıkları, romatizma, Alzheimer, safra ile ilgili rahatsızlıklar, sinüzit gibi hastalıklara karşı güçlü bir ajan olduğuna inanılmaktadır (48-53).

2.9.4. Curcuminin Antioksidan Etkileri

Çalışmalarda CUR'un antioksidan etkileri ile kalp, böbrek, beyin ve karaciğer gibi bir çok dokuda iskemi - reperfüzyon hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir. Curcuminin bu antioksidan aktivitesinin lipid peroksidasyonu inhibisyonu, serbest oksijen radikallerini temizleyici ve NO seviyelerini düşürmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu antioksidan özelliği, in vivo şartlarda görüldüğü gibi, in vitro THC'e dönüştürülerek de gösterilmiştir (54,55). Her iki maddenin de lipid peroksidasyonu üzerinde inhibe edici etkileri araştırılmış ve antioksidan enzimlerin (SOD, KAT, GSH-Px) etkinliklerini arttırarak lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (56). Antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerine CUR'un etkileri doza bağımlı olarak incelendiğinde doz artışına paralel olarak enzim aktivitelerinde artış görülmektedir. Bir çok antioksidanda fenol grubu veya β -diketon grubu gibi tek bir fonksiyonel grup varken CUR'un fenil halkasında metoksi ve fenolik grupları, 1-3 β -diketon grupları ve karbon-karbon çift bağları gibi birden çok antioksidan aktivite gösteren yapıları bulunmaktadır. CUR'un fenolik ve metoksi gruplarının serbest radikallerle reaksiyona girerek fenoksil radikali oluşturması ile serbest oksijen radikali temizleyici özelliği görülmektedir. Ek olarak iki karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağını yıkarak ta antioksidan etki göstermektedir. (58).

CUR'un cisplatin ototoksitesinde de rolü olan iNOS ekspresyonunu azalttığı ve NO seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sayede hem iNOS/NO aracılı apoptozisi azalttığı hem de peroksinitrit gibi reaktif azot radikallerini azalttığı düşünülmektedir (58,59).

Deneysel çalıřmalardan elde edilen veriler ile, CUR'un aktivat3r protein 1 (AP1) ve inflamasyonda, h3cre proliferasyonunda, onkogeneze ve h3cre transformasyonunda 3nemli rolleri bulunan NFkB aktivasyonu için gerekli gen ekspresyonunu d3zenleyerek g3l3 antioksidan, antikarsinojenik ve antiinflamatuvar 3zellikler g3sterdiėi ortaya koyulmuştur (58).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun 2013 /40 numaralı onayı alındıktan sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden sağlanan, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 40 adet erişkin erkek Sprague Dawley cinsi rat üzerinde gerçekleştirildi. Deney Hayvanları Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezinde ilaç uygulama zamanları haricinde sıcaklığı 22 ± 2 °C'de, nemi %45-65 oranında korunan ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık, serbest yemek ve su alabildikleri bir ortamda tutuldu.

3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Deneysel İşlem

Deney hayvanları 5 gruba ayrıldı. Tüm ratlarda 50 mg/kg dozunda i.p ketamin hidroklorür (Ketalar ®, Eczacıbaşı Parke-Davis, İstanbul,Türkiye) ve 10 mg/kg dozunda i.p Xylazine HCl (Alfazyne ®, Alfasan International B.V. Woerden, Hollanda) ile anestezi sağlandıktan sonra otoskopik muayeneleri tamamlandı. Hemen ardından bazal işitme ölçümü için TEOAE ve DPOAE çekimleri yapıldı. İlk testlerin tamamlanmasından sonra 1. gruptaki ratlara 1.5 ml serum fizyolojik , 2. gruptakilere 15 mg/kg Cisplatin (Cisplatin DBL, Hospira Australia Pty Ltd. Victoria, Avusturalya)) intraperitoneal yolla verildi. Üçüncü grupta bulunan ratlara 50mg/kg i.p. E vitamini (Evigen 2ml, Aksu Farma Tıbbi Ürünler İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) takiben 30 dk sonra, i.p. 15mg/kg cisplatin, 4.gruptaki ratlara 200 mg/kg i.p. curcumin (Curcuma longa (Turmeric) (Sigma / katalog no:C1386)'in 30 cc %0.5'lik karboksi metilsellüloz çözeltisinde 1gr.'ı çözülerek hazırlanmış solüsyonu 200 mg/kg dozunda 1 ml/injeksiyon dozda verildikten 30 dk sonra, 15mg/kg cisplatin , 5. gruptaki ratlara %0.5'lik karboksi metilsellüloz çözeltisi 1.5 ml i.p. verildikten 30 dk sonra, i.p. 15mg/kg cisplatin enjeksiyonu yapıldı. İlaçlar verildikten 72

saat sonra 50 mg/kg dozunda i.p ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg dozunda i.p Xylazine HCl kombinasyonu ile anestezi sağlanarak tüm grupların otoskopik muayeneleri ve TEOAE ve DPOAE ölçümleri yapıldı. Toplam 40 rat ile çalışma tamamlandı.

Tablo 1. Deney ve kontrol grupları

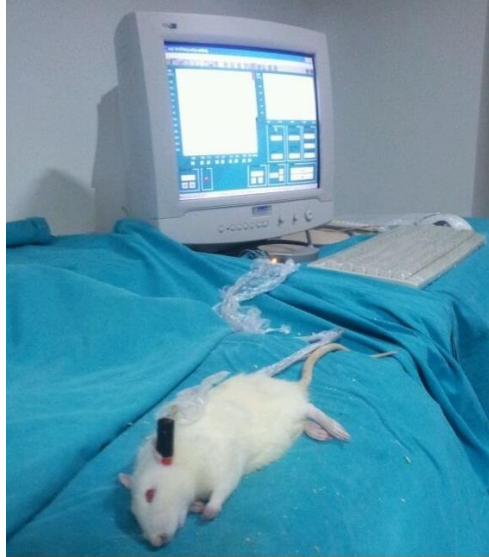
| Deney ve kontrol grupları | Grup başına hayvan adedi |
|---|--------------------------|
| Grup 1 (Kontrol) | 8 (16 kulak) |
| Grup 2 (Cisplatin) | 8 (16 kulak) |
| Grup 3 (Cisplatin + E vitamini) | 8 (16 kulak) |
| Grup 4 (Cisplatin + Curcumin) | 8 (16 kulak) |
| Grup 4 (Cisplatin + Karboksi metil selülöz) | 8 (16 kulak) |



Fotoğraf 2. Curcumin (Sigma Aldrich Katalog No: c1386)

3.3. Otoakustik Emisyon Kayıtları

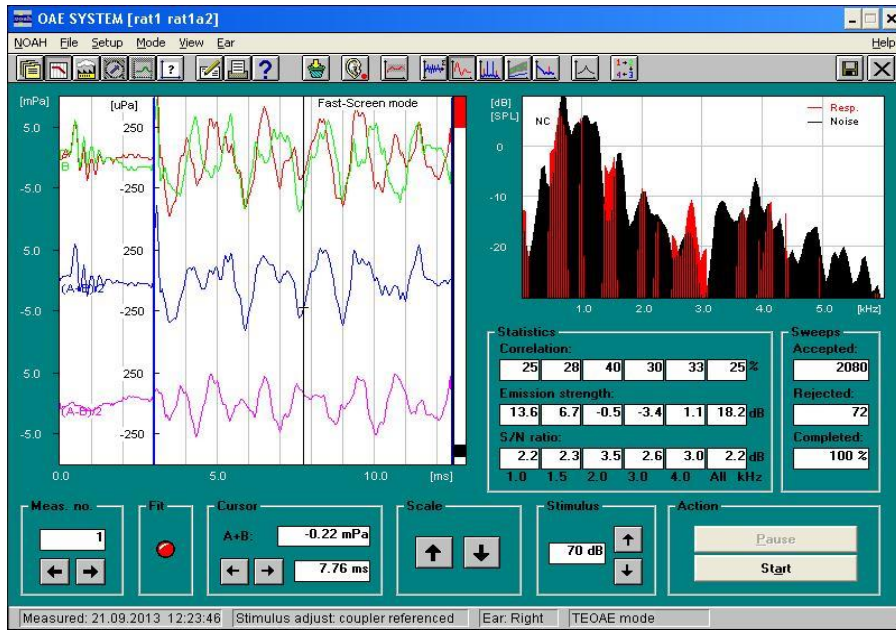
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Odyoloji Biriminde ses izolasyonlu ve sabit ısı altındaki odada, işlem öncesi ve sonrası sterilizasyon önlemleri alınarak, tüm ratların otoskopik muayenelerini takiben her iki kulak TEOAE ve DPOAE çekimleri MADSEN Capella (GN Otometrics, Illinois/ABD) otoakustik emisyon cihazı ile yapıldı. TEOAE 1500, 2000, 3000 ve 4000 Hz frekansta 70 dB SPL uyararla ölçüm yapılarak, bahsi geçen her bir frekans için SNR değerleri elde edildi. DPOAE çekimi; DP-Gram modunda 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz için 65 dB SPL şiddetinde uyarın verilerek yapıldı ve her frekans için SNR değerleri saptandı.



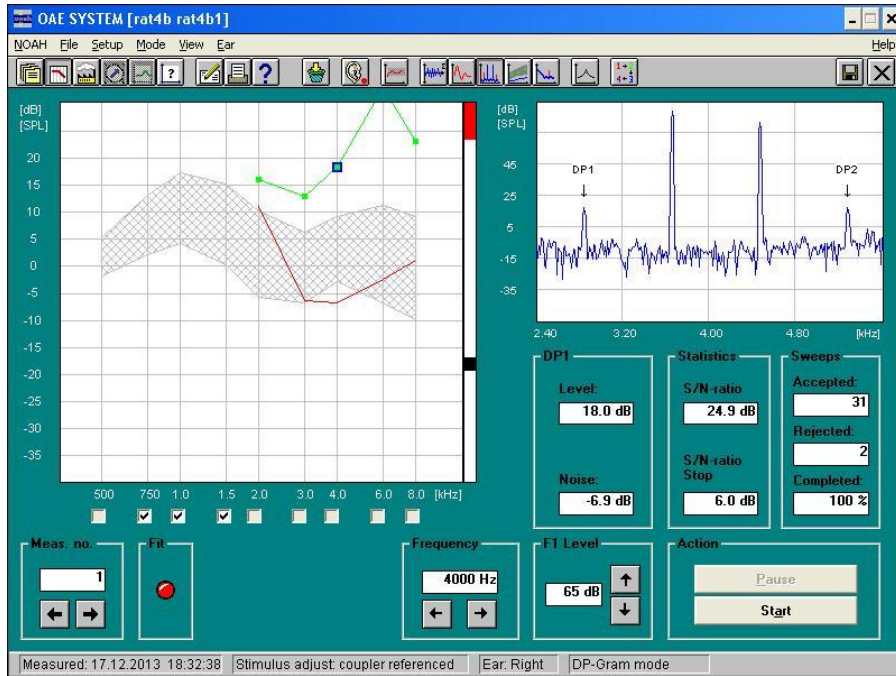
Fotoğraf 3. OAE kayıt alınması.



Fotoğraf 4. TEOAE ve DPOAE probu



Fotoğraf 5. TEOAE kayıt örneği



Fotoğraf 6. DPOAE (DPgram) kayıt örneği

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 20 paket programı aracılığı ile analiz edilmiştir. Verilerin normallik testleri sonucunda gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis H testi, grup içi karşılaştırmalarda ise Wilcoxon işaret testi kullanılmıştır. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup, $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı olduğu, $p \geq 0,05$ olması durumunda ise anlamlı olmadığı belirtilmiştir.

4. BULGULAR

Tüm ratlara ilaç öncesi ve sonrası TEOAE ve DPOAE ölçümleri yapılmıştır. Tablo 2’de tüm gruplardaki ilaç öncesi ve sonrası TEOAE ile 1500, 2000, 3000 ve 4000 Hz frekansta ölçülen sinyal gürültü oranları ortalamaları özetlenmiştir. Tablo 3’te tüm gruplardaki ilaç öncesi ve sonrası DPOAE ile 3, 4, 6 ve 8 kHz frekansta ölçülen sinyal gürültü oranları ortalamaları gösterilmiştir.

Tablo 2. Ratlarda TEOAE sinyal gürültü oranları.

| | | Grup 1 | Grup 2 | Grup 3 | Grup 4 | Grup 5 |
|---------|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | Ort ± SD | Ort ± SD | Ort ± SD | Ort ± SD | Ort ± SD |
| 1500 Hz | pre | 2,36±1,83 | 2,49±1,29 | 2,04±1,06 | 2,18±1,01 | 1,96±0,98 |
| | post | 2,54±1,22 | 1,28±1,84 | 1,46±0,98 | 1,96±0,98 | 1,48±1,12 |
| 2000 Hz | pre | 2,53±2,12 | 1,73±1,45 | 2,07±0,94 | 2,19±1,06 | 2,19±0,90 |
| | post | 2,18±1,51 | 0,99±1,69 | 0,99±0,83 | 1,81±0,81 | 1,08±1,24 |
| 3000 Hz | pre | 1,96±1,42 | 2,06±1,36 | 1,91±0,74 | 2,08±0,86 | 2,02±1,1 |
| | post | 1,98±1,41 | 0,72±1,47 | 1,06±0,73 | 1,56±0,76 | 0,54±1,33 |
| 4000 Hz | pre | 2,27±0,86 | 2,88±1,99 | 1,9±0,73 | 2,11±1,17 | 2,23±1,17 |
| | post | 2,21±1,52 | 0,21±1,93 | 1,11±1,01 | 1,7±0,84 | 0,63±1,21 |

İlaç uygulamaları öncesi ve sonrası ortalama değerler±SD

Tablo 3. Ratlarda DPOAE sinyal gürültü oranları.

| | | Grup 1 | Grup 2 | Grup 3 | Grup 4 | Grup 5 |
|----------------|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | Ort ± SD | Ort ± SD | Ort ± SD | Ort ± SD | Ort ± SD |
| 3000 Hz | pre | 10,01±3,99 | 8,11±3,19 | 8,44±3,13 | 10,71±7,39 | 6,73±4,29 |
| | post | 10,89±7,2 | -2,88±7,4 | 5,64±10,71 | 9,76±4,05 | -0,98±6,05 |
| 4000 Hz | pre | 14,58±6,19 | 10,86±10,01 | 9,54±6,97 | 16,23±9,26 | 8,17±7,32 |
| | post | 16,06±7,87 | 1,36±7,54 | 5,9±7,93 | 14,15±7,35 | -0,16±4,39 |
| 6000 Hz | pre | 21,04±8,04 | 20,66±12,13 | 15,02±8,31 | 18,29±10,07 | 13,88±8,23 |
| | post | 21,38±8,3 | 7,71±7,11 | 12,66±10,79 | 15,9±8,61 | 1,73±5,27 |
| 8000 Hz | pre | 25,86±12,35 | 28,01±12,32 | 20,79±13,42 | 24,19±14,54 | 17,94±13,76 |
| | post | 22,46±10,01 | 12,16±8,61 | 13,98±14,87 | 15,37±7,61 | 7,03±8,34 |

İlaç uygulamaları öncesi ve sonrası ortalama değerler±SD

1.GRUP

İntratimpanik salin solüsyonu enjeksiyonu öncesi ve sonrası tüm ratlardan TEOAE ve DPOAE kayıtları alınmıştır (Tablo 2,3). Bu grupta ilaç öncesi ve sonrası TEOAE ve DPOAE değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4,5).

Tablo 4. 1.grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 1 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|-------------------|--------|------|--------|---------|---------|-----|-----------------------|-------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| teoae 1500SNR/ön | 16 | 2,4 | 2,3 | -0,7 | 6,4 | 1,8 | -0,313 | 0,755 |
| teoae 1500SNR/son | 16 | 2,5 | 2,4 | 0,3 | 4,5 | 1,2 | | |
| teoae2000SNR/ön | 16 | 2,5 | 2,6 | -0,3 | 5,5 | 2,1 | -0,931 | 0,352 |
| teoae2000SNR/son | 16 | 2,2 | 2,2 | -0,3 | 4,2 | 1,5 | | |
| teoae 3000SNR/ön | 16 | 2,0 | 2,2 | -0,7 | 4,8 | 1,4 | -0,078 | 0,938 |
| teoae 3000SNR/son | 16 | 2,0 | 1,9 | 0,1 | 4,6 | 1,4 | | |
| teoae4000SNR/ön | 16 | 2,3 | 2,3 | 0,7 | 3,5 | 0,9 | -0,078 | 0,938 |
| teoae4000SNR/son | 16 | 2,2 | 2,5 | -1,0 | 4,6 | 1,5 | | |

Tablo 5. 1. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 1 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|------------------|--------|------|--------|---------|---------|------|-----------------------|-------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| dpoae3000SNR/ön | 16 | 10,0 | 9,1 | 4,4 | 17,7 | 4,0 | -0,181 | 0,856 |
| dpoae3000SNR/son | 16 | 10,9 | 7,1 | 3,3 | 25,0 | 7,2 | | |
| dpoae4000SNR/ön | 16 | 14,6 | 14,2 | 1,0 | 25,7 | 6,2 | -0,595 | 0,552 |
| dpoae4000SNR/son | 16 | 16,1 | 13,6 | 6,2 | 37,0 | 7,9 | | |
| dpoae6000SNR/ön | 16 | 21,0 | 21,9 | 6,6 | 33,5 | 8,0 | -0,052 | 0,959 |
| dpoae6000SNR/son | 16 | 21,4 | 21,4 | 6,1 | 36,1 | 8,3 | | |
| dpoae8000SNR/ön | 16 | 25,9 | 26,1 | 7,8 | 42,9 | 12,4 | -0,724 | 0,469 |
| dpoae8000SNR/son | 16 | 22,5 | 22,2 | 3,8 | 37,8 | 10,0 | | |

2. GRUP

Intraperitoneal cisplatin enjeksiyonu öncesi ve sonrası tüm ratlardan TEOAE ve DPOAE kayıtları alınmıştır (Tablo 2,3). Bu grupta ilaç sonrası 3,4,6 ve 8 kHz frekansındaki DPOAE değerlerindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). TEOAE kayıtlarında yalnızca 4 kHz frekanstaki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 6,7).

Tablo 6. 2. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 2 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|------------------|--------|------|--------|---------|---------|------|-----------------------|---------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| dpoae3000SNR/ön | 16 | 8,1 | 7,8 | 2,1 | 13,2 | 3,2 | -3,5 | 0,0001* |
| dpoae3000SNR/son | 16 | -2,9 | -1,3 | -15,4 | 10,4 | 7,4 | | |
| dpoae4000SNR/ön | 16 | 10,9 | 7,8 | -4,7 | 29,6 | 10,0 | -2,7 | 0,007* |
| dpoae4000SNR/son | 16 | 1,4 | 2,9 | -12,6 | 13,1 | 7,5 | | |
| dpoae6000SNR/ön | 16 | 20,7 | 19,1 | 5,1 | 42,1 | 12,1 | -3,3 | 0,001* |
| dpoae6000SNR/son | 16 | 7,7 | 7,3 | -8,0 | 23,5 | 7,1 | | |
| dpoae8000SNR/ön | 16 | 28,0 | 28,3 | 7,6 | 43,5 | 12,3 | -3,2 | 0,001* |
| dpoae8000SNR/son | 16 | 12,2 | 8,4 | 3,1 | 34,5 | 8,6 | | |

* $p<0,05$

Tablo 7. 2. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 2 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|-------------------|--------|------|--------|---------|---------|-----|-----------------------|--------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| teoae 1500SNR/ön | 16 | 2,5 | 2,1 | 0,6 | 4,9 | 1,3 | -1,7 | 0,074 |
| teoae 1500SNR/son | 16 | 1,3 | 1,6 | -1,4 | 4,7 | 1,8 | | |
| teoae2000SNR/ön | 16 | 1,7 | 1,2 | 0,4 | 5,9 | 1,5 | -1,1 | 0,289 |
| teoae2000SNR/son | 16 | 1,0 | 1,5 | -2,5 | 3,0 | 1,7 | | |
| teoae 3000SNR/ön | 16 | 2,1 | 1,7 | 0,3 | 4,2 | 1,4 | -1,8 | 0,071 |
| teoae 3000SNR/son | 16 | 0,7 | 1,4 | -1,9 | 2,6 | 1,5 | | |
| teoae4000SNR/ön | 16 | 2,9 | 2,4 | 0,7 | 9,2 | 2,0 | -3 | 0,003* |
| teoae4000SNR/son | 16 | 0,2 | 0,5 | -2,9 | 2,6 | 1,9 | | |

*p<0,05

3.GRUP

İntraperitoneal E vitamini ve cisplatin enjeksiyonu öncesi ve sonrası tüm ratlardan TEOAE ve DPOAE kayıtları alınmıştır (Tablo 2,3). Bu grupta ilaç sonrası 3 kHz frekansındaki DPOAE değerlerindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunurken TEOAE kayıtlarında yalnızca 2, 3 ve 4 kHz frekanstaki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Diğer frekanslardaki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 8,9).

Tablo 8. 3. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 3 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|-------------------|--------|------|--------|---------|---------|-----|-----------------------|--------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| teoae 1500SNR/ön | 16 | 2,0 | 1,8 | 0,4 | 4,6 | 1,1 | -1,6 | 0,109 |
| teoae 1500SNR/son | 16 | 1,5 | 1,5 | 0,0 | 3,2 | 1,0 | | |
| teoae2000SNR/ön | 16 | 2,1 | 2,3 | 0,8 | 3,6 | 0,9 | -3,3 | 0,001* |
| teoae2000SNR/son | 16 | 1,0 | 1,2 | -1,1 | 2,3 | 0,8 | | |
| teoae 3000SNR/ön | 16 | 1,9 | 1,8 | 0,6 | 3,2 | 0,7 | -2,5 | 0,012* |
| teoae 3000SNR/son | 16 | 1,1 | 1,1 | -0,1 | 2,5 | 0,7 | | |
| teoae4000SNR/ön | 16 | 1,9 | 1,8 | 0,5 | 3,2 | 0,7 | -1,9 | 0,04* |
| teoae4000SNR/son | 16 | 1,1 | 1,1 | -1,7 | 2,8 | 1,0 | | |

*p<0,05

Tablo 9. 3. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 3 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|------------------|--------|------|--------|---------|---------|------|-----------------------|--------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| dpoae3000SNR/ön | 16 | 8,4 | 9,2 | 3,0 | 16,0 | 3,1 | -2,4 | 0,015* |
| dpoae3000SNR/son | 16 | 4,6 | 5,2 | -11,0 | 13,3 | 5,6 | | |
| dpoae4000SNR/ön | 16 | 9,5 | 7,8 | 0,0 | 25,7 | 7,0 | -1,8 | 0,071 |
| dpoae4000SNR/son | 16 | 5,9 | 6,0 | -6,8 | 24,9 | 7,9 | | |
| dpoae6000SNR/ön | 16 | 15,0 | 11,7 | 2,7 | 29,0 | 8,3 | -0,8 | 0,408 |
| dpoae6000SNR/son | 16 | 12,7 | 9,4 | -0,5 | 35,0 | 10,8 | | |
| dpoae8000SNR/ön | 16 | 20,8 | 23,2 | 2,5 | 42,3 | 13,4 | -1,3 | 0,179 |
| dpoae8000SNR/son | 16 | 14,0 | 10,3 | -13,0 | 41,2 | 14,9 | | |

*p<0,05

4. GRUP

İntraperitoneal curcumin (curcuma longa) ve cisplatin enjeksiyonu öncesi ve sonrası tüm ratlardan TEOAE ve DPOAE kayıtları alınmıştır (Tablo 2,3). Bu grupta ilaç öncesi ve sonrası DPOAE ve TEOAE kayıtlarındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 10,11).

Tablo 10. 4. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 4 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|------------------|--------|------|--------|---------|---------|------|-----------------------|-------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| dpoae3000SNR/ön | 16 | 10,7 | 8,1 | 0,2 | 25,7 | 7,4 | -0,052 | 0,959 |
| dpoae3000SNR/son | 16 | 9,8 | 8,1 | 6,2 | 19,3 | 4,1 | | |
| dpoae4000SNR/ön | 16 | 16,2 | 17,0 | 3,7 | 31,4 | 9,3 | -0,569 | 0,569 |
| dpoae4000SNR/son | 16 | 14,2 | 11,2 | 4,1 | 27,1 | 7,4 | | |
| dpoae6000SNR/ön | 16 | 18,3 | 19,4 | 2,3 | 35,4 | 10,1 | -0,751 | 0,453 |
| dpoae6000SNR/son | 16 | 15,9 | 14,1 | 6,4 | 35,5 | 8,6 | | |
| dpoae8000SNR/ön | 16 | 24,2 | 25,3 | 1,5 | 41,9 | 14,5 | -1,6 | 0,121 |
| dpoae8000SNR/son | 16 | 15,4 | 13,9 | 6,1 | 30,4 | 7,6 | | |

Tablo 11. 4. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 4 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|-------------------|--------|------|--------|---------|---------|-----|-----------------------|-------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| teoae 1500SNR/ön | 16 | 2,2 | 2,2 | 0,2 | 4,0 | 1,0 | -0,625 | 0,532 |
| teoae 1500SNR/son | 16 | 2,0 | 1,7 | 0,2 | 3,9 | 1,0 | | |
| teoae2000SNR/ön | 16 | 2,2 | 1,9 | 0,6 | 4,3 | 1,1 | -1,7 | 0,074 |
| teoae2000SNR/son | 16 | 1,8 | 1,6 | 0,5 | 3,7 | 0,8 | | |
| teoae 3000SNR/ön | 16 | 2,0 | 2,2 | 0,5 | 3,6 | 0,9 | -1,3 | 0,187 |
| teoae 3000SNR/son | 16 | 1,6 | 1,6 | 0,2 | 3,6 | 0,8 | | |
| teoae4000SNR/ön | 16 | 2,1 | 1,8 | 0,8 | 4,4 | 1,2 | -1,2 | 0,244 |
| teoae4000SNR/son | 16 | 1,7 | 1,6 | 0,6 | 3,5 | 0,8 | | |

5. GRUP

İntraperitoneal karboksi metilselüloz ve cisplatin enjeksiyonu öncesi ve sonrası tüm ratlardan TEOAE ve DPOAE kayıtları alınmıştır (Tablo 2,3). TEOAE kayıtlarında ilaç sonrası 2,3 ve 4 kHz'deki değerlerde düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 12). Bu grupta DPOAE kayıtlarında ilaç sonrası 3,4, 6 ve 8 kHz'de değerlerin düşük olduğu, 3,4 ve 6 kHz'deki düşmelerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 13).

Tablo 12. 5. grup ilaç öncesi ve sonrası TEOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 5 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|-------------------|--------|------|--------|---------|---------|-----|-----------------------|--------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| teoae 1500SNR/ön | 16 | 2,0 | 1,9 | 0,8 | 3,9 | 1,0 | -1,2 | 0,222 |
| teoae 1500SNR/son | 16 | 1,5 | 1,6 | 0,1 | 3,8 | 1,1 | | |
| teoae2000SNR/ön | 16 | 2,2 | 2,1 | 0,8 | 3,4 | 0,9 | -2,6 | 0,011* |
| teoae2000SNR/son | 16 | 1,1 | 1,2 | -1,5 | 2,7 | 1,2 | | |
| teoae 3000SNR/ön | 16 | 2,0 | 1,7 | 0,5 | 4,8 | 1,1 | -2,8 | 0,004* |
| teoae 3000SNR/son | 16 | 0,5 | 0,5 | -1,8 | 2,4 | 1,3 | | |
| teoae4000SNR/ön | 16 | 2,2 | 2,5 | 0,1 | 4,4 | 1,2 | -2,8 | 0,005* |
| teoae4000SNR/son | 16 | 0,6 | 1,3 | -1,5 | 2,0 | 1,2 | | |

* $p<0,05$

Tablo 13. 5. grup ilaç öncesi ve sonrası DPOAE SNR ortalamaları

| | GRUP 5 | | | | | | Wilcoxon İşaret Testi | |
|------------------|--------|------|--------|---------|---------|------|-----------------------|--------|
| | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | z | p |
| dpoae3000SNR/ön | 16 | 6,7 | 6,6 | -4,9 | 11,0 | 4,3 | -2,8 | 0,004* |
| dpoae3000SNR/son | 16 | -1,0 | -0,1 | -12,4 | 11,6 | 6,0 | | |
| dpoae4000SNR/ön | 16 | 8,2 | 7,1 | -5,9 | 23,5 | 7,3 | -2,7 | 0,005* |
| dpoae4000SNR/son | 16 | -0,2 | -0,3 | -7,8 | 6,7 | 4,4 | | |
| dpoae6000SNR/ön | 16 | 13,9 | 15,5 | -1,3 | 28,1 | 8,2 | -3,1 | 0,002* |
| dpoae6000SNR/son | 16 | 1,7 | 1,6 | -7,5 | 11,9 | 5,3 | | |
| dpoae8000SNR/ön | 16 | 17,9 | 13,4 | 0,4 | 42,6 | 13,8 | -1,7 | 0,088 |
| dpoae8000SNR/son | 16 | 7,0 | 6,8 | -4,8 | 27,1 | 8,3 | | |

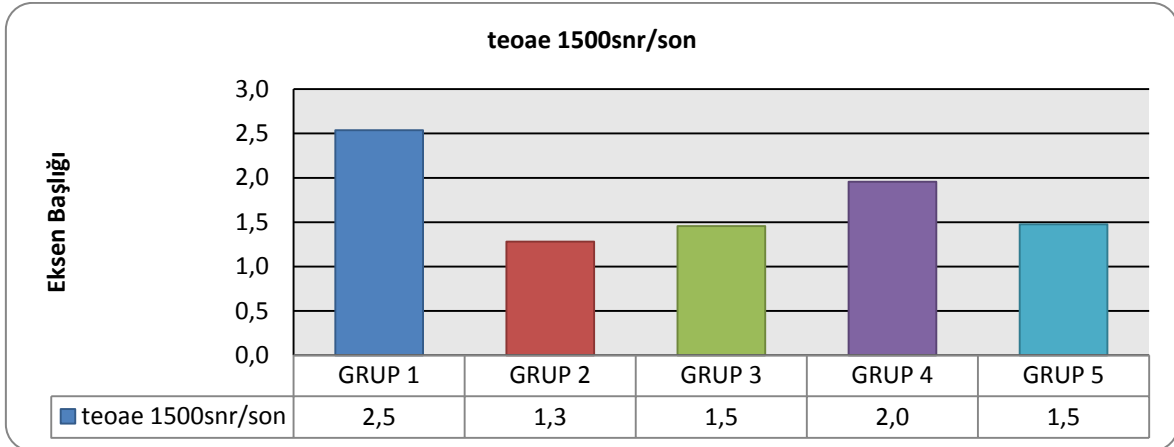
*p<0,05

4.1. Gruplar Arası TEOAE Ölçümlerinin Karşılaştırılması

TEOAE ilaç uygulamaları öncesi ve sonrası sinyal gürültü oranı değerleri karşılaştırıldığında, ilaç öncesi değerlerde, tüm frekanslarda gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. İlaç sonrası değerlerde ise 4 kHz'de 1. grup değerleri 2 ve 5. gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da 2,3 ve 4 kHz'de 4. grup son değerleri 2,3 ve 5. Gruba göre daha yüksek gözlenmiştir.

Tablo 14. Tüm gruplarda TEOAE 1500 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

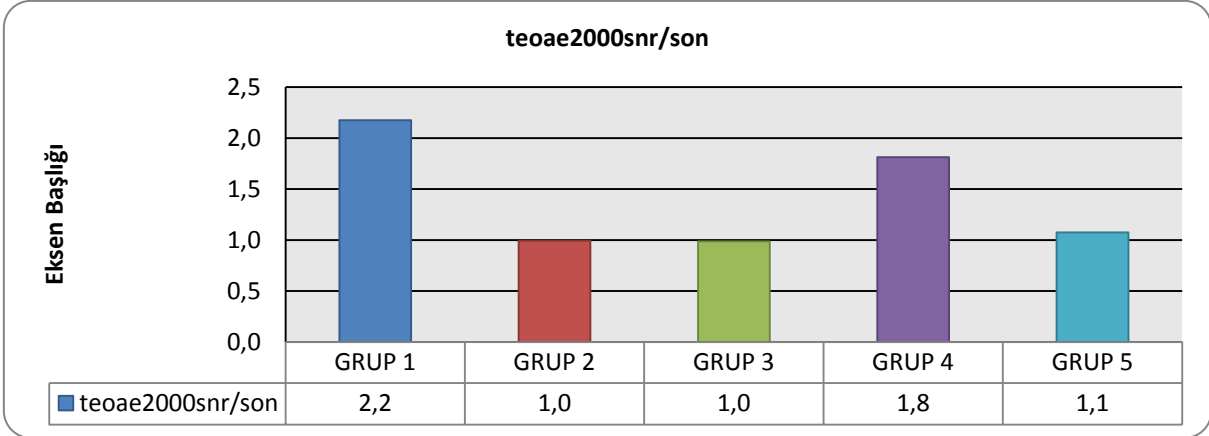
| | Grup | N | Me an | Medi an | Minimu m | Maxim um | SS | Kruskall-Wallis H Testi | | | | |
|----------------------|--------|----|-------|---------|----------|----------|-----|-------------------------|-----|-------|---------------------|---|
| | | | | | | | | Sıra Ort. | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| teoae 1500SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 2,4 | 2,3 | -0,7 | 6,4 | 1,8 | 42,0 | 1,8 | 0,781 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 2,5 | 2,1 | 0,6 | 4,9 | 1,3 | | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 2,0 | 1,8 | 0,4 | 4,6 | 1,1 | | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 2,2 | 2,2 | 0,2 | 4,0 | 1,0 | | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 2,0 | 1,9 | 0,8 | 3,9 | 1,0 | | | | | |
| teoae 1500SNR/son | GRUP 1 | 16 | 2,5 | 2,4 | 0,3 | 4,5 | 1,2 | 55,1 | 8,9 | 0,057 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 1,3 | 1,6 | -1,4 | 4,7 | 1,8 | | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 1,5 | 1,5 | 0,0 | 3,2 | 1,0 | | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 2,0 | 1,7 | 0,2 | 3,9 | 1,0 | | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 1,5 | 1,6 | 0,1 | 3,8 | 1,1 | | | | | |



Grafik 1. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 1500 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

Tablo 15. Tüm gruplarda TEOAE 2000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

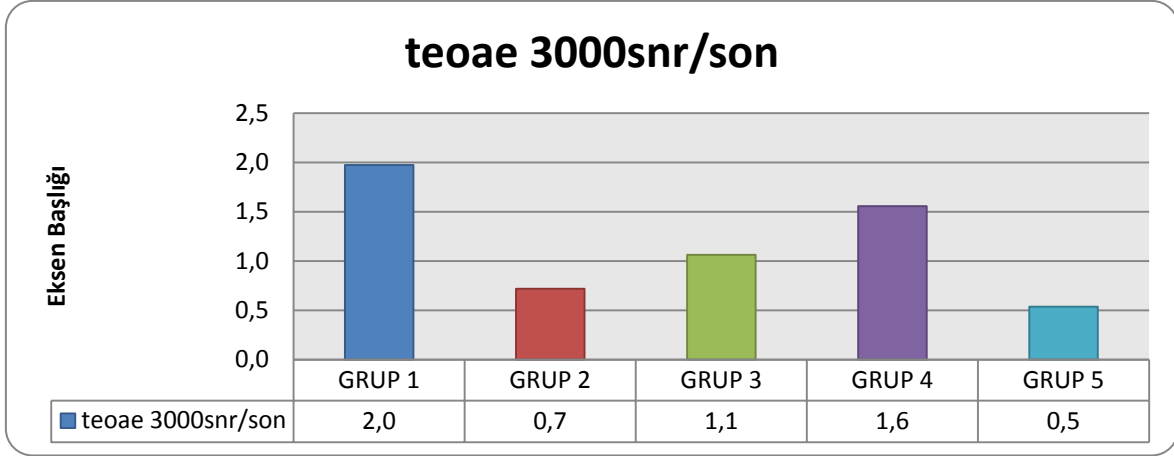
| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Kruskall-Wallis H Testi | | | | |
|----------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|-----|-------------------------|-----|-------|-----------------------|---|
| | | | | | | | | Sıra Ort. | H | p | İkili Karşılaştırma p | |
| teoae2000 SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 2,5 | 2,6 | -0,3 | 5,5 | 2,1 | 43,4 | 3,4 | 0,497 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 1,7 | 1,2 | 0,4 | 5,9 | 1,5 | 31,1 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 2,1 | 2,3 | 0,8 | 3,6 | 0,9 | 41,3 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 2,2 | 1,9 | 0,6 | 4,3 | 1,1 | 42,8 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 2,2 | 2,1 | 0,8 | 3,4 | 0,9 | 43,9 | | | | |
| teoae2000 SNR/son | GRUP 1 | 16 | 2,2 | 2,2 | -0,3 | 4,2 | 1,5 | 50,7 | 8 | 0,093 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 1,0 | 1,5 | -2,5 | 3,0 | 1,7 | 37,7 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 1,0 | 1,2 | -1,1 | 2,3 | 0,8 | 30,9 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 1,8 | 1,6 | 0,5 | 3,7 | 0,8 | 47,2 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 1,1 | 1,2 | -1,5 | 2,7 | 1,2 | 36,1 | | | | |



Grafik 2. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 2000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

Tablo 16. Tüm gruplarda TEOAE 3000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

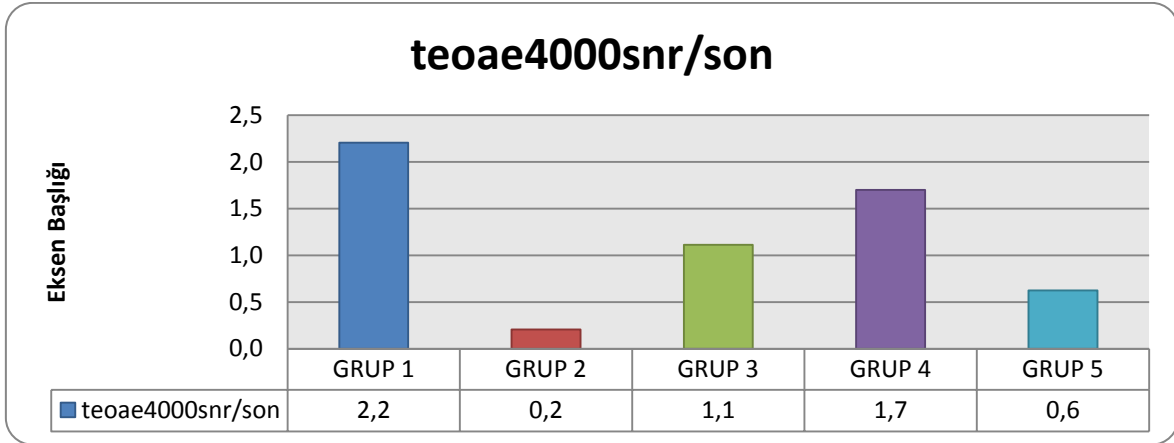
| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Sıra Ort. | Kruskal-Wallis H Testi | | | |
|----------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|-----|-----------|------------------------|-------|---------------------|---|
| | | | | | | | | | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| teoae 3000SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 2,0 | 2,2 | -0,7 | 4,8 | 1,4 | 40,6 | 0,1 | 0,998 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 2,1 | 1,7 | 0,3 | 4,2 | 1,4 | 40,8 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 1,9 | 1,8 | 0,6 | 3,2 | 0,7 | 39,2 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 2,0 | 2,2 | 0,5 | 3,6 | 0,9 | 42,0 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 2,0 | 1,7 | 0,5 | 4,8 | 1,1 | 40,0 | | | | |
| teoae 3000SNR/son | GRUP 1 | 16 | 2,0 | 1,9 | 0,1 | 4,6 | 1,4 | 52,1 | 8,7 | 0,056 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 0,7 | 1,4 | -1,9 | 2,6 | 1,5 | 35,4 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 1,1 | 1,1 | -0,1 | 2,5 | 0,7 | 36,9 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 1,6 | 1,6 | 0,2 | 3,6 | 0,8 | 47,7 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 0,5 | 0,5 | -1,8 | 2,4 | 1,3 | 30,4 | | | | |



Grafik 3. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

Tablo 17. Tüm gruplarda TEOAE 4000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Sıra Ort. | Kruskall-Wallis H Testi | | | |
|----------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|-----|-----------|-------------------------|-------|---------------------|-------|
| | | | | | | | | | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| teoae4000 SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 2,3 | 2,3 | 0,7 | 3,5 | 0,9 | 42,7 | 3,2 | 0,519 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 2,9 | 2,4 | 0,7 | 9,2 | 2,0 | 47,5 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 1,9 | 1,8 | 0,5 | 3,2 | 0,7 | 33,6 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 2,1 | 1,8 | 0,8 | 4,4 | 1,2 | 37,9 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 2,2 | 2,5 | 0,1 | 4,4 | 1,2 | 40,8 | | | | |
| teoae4000 SNR/son | GRUP 1 | 16 | 2,2 | 2,5 | -1,0 | 4,6 | 1,5 | 55,5 | 14,8 | 0,005 | 1--2 | 0,005 |
| | GRUP 2 | 16 | 0,2 | 0,5 | -2,9 | 2,6 | 1,9 | 29,1 | | | 1--5 | 0,006 |
| | GRUP 3 | 16 | 1,1 | 1,1 | -1,7 | 2,8 | 1,0 | 38,3 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 1,7 | 1,6 | 0,6 | 3,5 | 0,8 | 48,2 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 0,6 | 1,3 | -1,5 | 2,0 | 1,2 | 31,4 | | | | |



Grafik 4. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen TEOAE 40000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

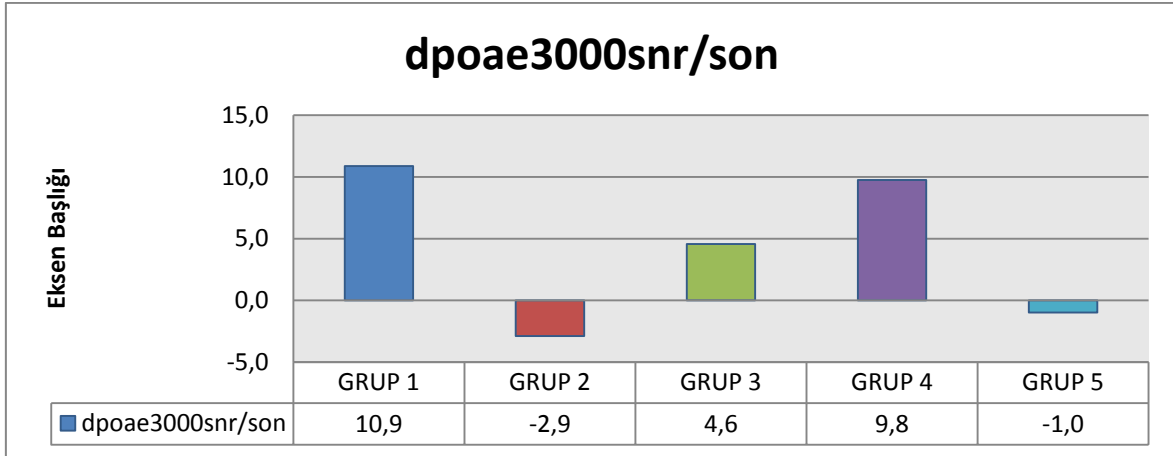
4.2. Gruplar Arası DPOAE Ölçümlerinin Karşılaştırılması

DPOAE 3000 SNR/son değerleri grup 1’de, grup 2 ve grup 5’ten anlamlı derecede yüksek görülmüştür ($p < 0,05$). Grup 2’de, grup 3 ve 4’ten anlamlı derecede düşük, grup 5’te, grup 3 ve 4’ten anlamlı derecede düşük olarak görülmüştür (Tablo 18).

Tablo 18. Tüm gruplarda DPOAE 3000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Sıra Ort. | Kruskall-Wallis H Testi | | | |
|----------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|-----|-----------|-------------------------|--------|---------------------|--------|
| | | | | | | | | | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| dpoae3000 SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 10,0 | 9,1 | 4,4 | 17,7 | 4,0 | 47,2 | 3,6 | 0,463 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 8,1 | 7,8 | 2,1 | 13,2 | 3,2 | 39,2 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 8,4 | 9,2 | 3,0 | 16,0 | 3,1 | 40,1 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 10,7 | 8,1 | 0,2 | 25,7 | 7,4 | 43,6 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 6,7 | 6,6 | -4,9 | 11,0 | 4,3 | 32,4 | | | | |
| dpoae3000 SNR/son | GRUP 1 | 16 | 10,9 | 7,1 | 3,3 | 25,0 | 7,2 | 56,6 | 41,1 | 0,0001 | 1-2* | 0,0001 |
| | GRUP 2 | 16 | -2,9 | -1,3 | -15,4 | 10,4 | 7,4 | 20,3 | | | 1-5* | 0,0001 |
| | GRUP 3 | 16 | 4,6 | 5,2 | -11,0 | 13,3 | 5,6 | 42,7 | | | 2-3* | 0,003 |
| | GRUP 4 | 16 | 9,8 | 8,1 | 6,2 | 19,3 | 4,1 | 60,3 | | | 2-4* | 0,0001 |
| | GRUP 5 | 16 | -1,0 | -0,1 | -12,4 | 11,6 | 6,0 | 22,5 | | | 3-5* | 0,004 |
| | | | | | | | | | | | 4-5* | 0,0001 |

* $p < 0,05$



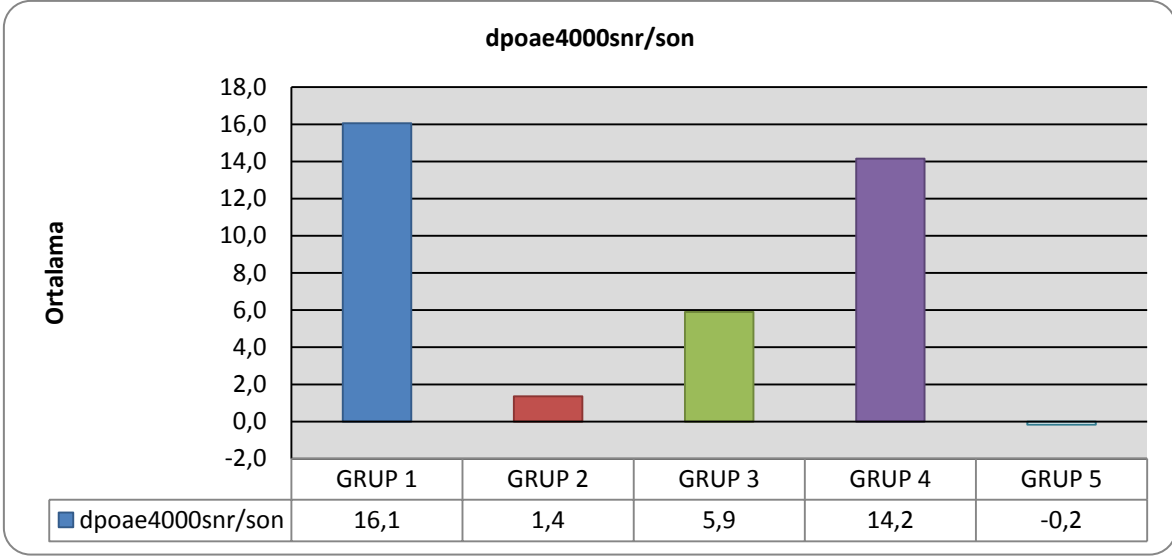
Grafik 5. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 3000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

DPOAE 4000 SNR/son değerleri grup 1’de, grup 2,3 ve 5’ten anlamlı derecede yüksek, grup 4’te, grup 2 ve 3’ten anlamlı derecede yüksek, grup 5’te, grup 3 ve 4’ten anlamlı derecede düşük görülmüştür (Tablo 19).

Tablo 19. Tüm gruplarda DPOAE 4000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Sıra Ort. | Kruskall-Wallis H Testi | | | |
|----------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|------|-----------|-------------------------|--------|---------------------|--------|
| | | | | | | | | | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| dpoae4000 SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 14,6 | 14,2 | 1,0 | 25,7 | 6,2 | 50,3 | 10,4 | 0,054 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 10,9 | 7,8 | -4,7 | 29,6 | 10,0 | 37,1 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 9,5 | 7,8 | 0,0 | 25,7 | 7,0 | 33,8 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 16,2 | 17,0 | 3,7 | 31,4 | 9,3 | 50,7 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 8,2 | 7,1 | -5,9 | 23,5 | 7,3 | 30,7 | | | | |
| dpoae4000 SNR/son | GRUP 1 | 16 | 16,1 | 13,6 | 6,2 | 37,0 | 7,9 | 62,3 | 44,1 | 0,0001 | 1-2* | 0,0001 |
| | GRUP 2 | 16 | 1,4 | 2,9 | -12,6 | 13,1 | 7,5 | 26,5 | | | 1-3* | 0,001 |
| | GRUP 3 | 16 | 5,9 | 6,0 | -6,8 | 24,9 | 7,9 | 36,2 | | | 1-5* | 0,0001 |
| | GRUP 4 | 16 | 14,2 | 11,2 | 4,1 | 27,1 | 7,4 | 58,6 | | | 2-4* | 0,0001 |
| | GRUP 5 | 16 | -0,2 | -0,3 | -7,8 | 6,7 | 4,4 | 18,8 | | | 3-4* | 0,002 |
| | | | | | | | | | | | 3-5* | 0,007 |
| | | | | | | | | | 4-5* | 0,0001 | | |

*p<0,05



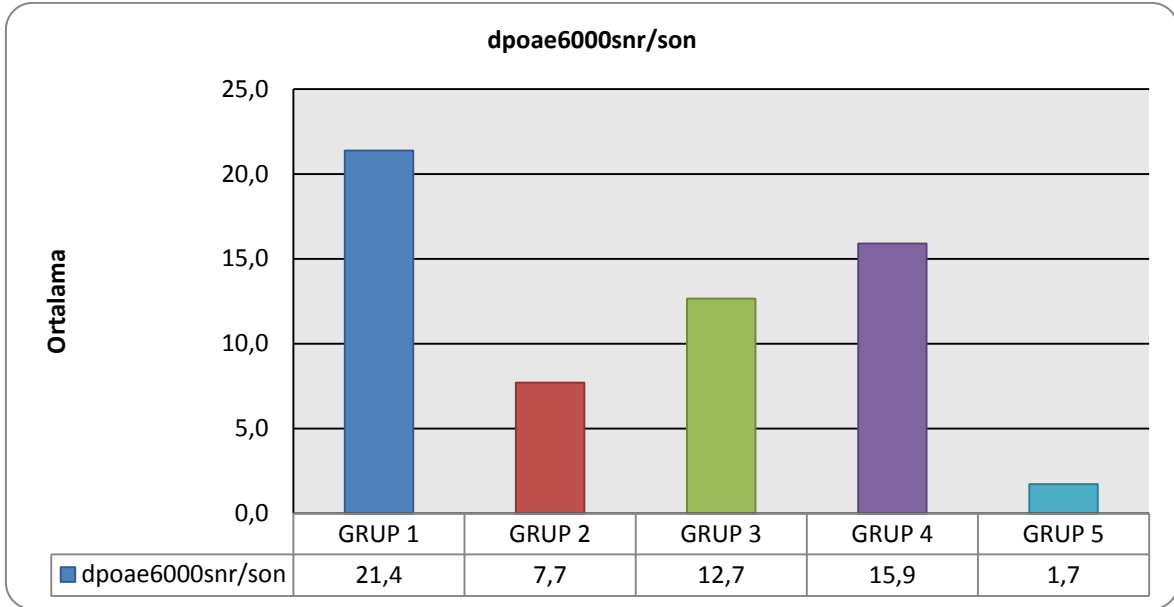
Grafik 6. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 4000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

DPOAE 6000 SNR/son değerleri, grup 1’de, grup 2 ve 5’ten anlamlı derecede yüksek, grup 2’de, grup 4 ve 5’ten anlamlı derecede düşük, grup 5’te, grup 3 ve 4’ten anlamlı derecede düşük görülmüştür ($p < 0,05$) (Tablo 20).

Tablo 20. Tüm gruplarda DPOAE 6000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Sıra Ort. | Kruskall-Wallis H Testi | | | |
|--------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|------|-----------|-------------------------|--------|---------------------|--------|
| | | | | | | | | | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| Dpoae 6000 SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 21,0 | 21,9 | 6,6 | 33,5 | 8,0 | 48,5 | 5,9 | 0,204 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 20,7 | 19,1 | 5,1 | 42,1 | 12,1 | 45,7 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 15,0 | 11,7 | 2,7 | 29,0 | 8,3 | 35,1 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 18,3 | 19,4 | 2,3 | 35,4 | 10,1 | 41,6 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 13,9 | 15,5 | -1,3 | 28,1 | 8,2 | 31,6 | | | | |
| Dpoae 6000 SNR/son | GRUP 1 | 16 | 21,4 | 21,4 | 6,1 | 36,1 | 8,3 | 61,7 | 37,3 | 0,0001 | 1-2* | 0,0001 |
| | GRUP 2 | 16 | 7,7 | 7,3 | -8,0 | 23,5 | 7,1 | 32,9 | | | 1-5* | 0,0001 |
| | GRUP 3 | 16 | 12,7 | 9,4 | -0,5 | 35,0 | 10,8 | 41,4 | | | 2-4* | 0,007 |
| | GRUP 4 | 16 | 15,9 | 14,1 | 6,4 | 35,5 | 8,6 | 51,2 | | | 2-5* | 0,006 |
| | GRUP 5 | 16 | 1,7 | 1,6 | -7,5 | 11,9 | 5,3 | 15,3 | | | 3-5* | 0,001 |
| | | | | | | | | | | | 4-5* | 0,0001 |

* $p < 0,05$



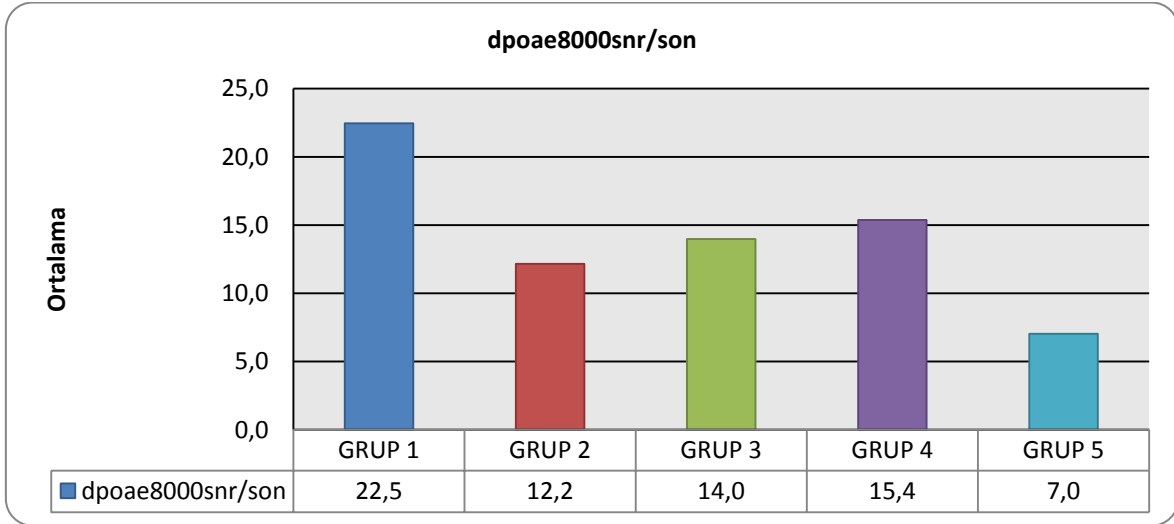
Grafik 7. Tüm gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 6000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

DPOAE 8000 SNR/son değerleri, grup 1’de, grup 2 ve 5’ten anlamlı derecede yüksek, grup 4’te ise grup 5’ten anlamlı derecede yüksek görülmüştür ($p < 0,05$) (Tablo 21).

Tablo 21. Tüm gruplarda DPOAE 8000 Hz SNR ortalamaları ve karşılaştırılması

| | Grup | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SS | Sıra Ort. | Kruskal-Wallis H Testi | | | |
|--------------------|--------|----|------|--------|---------|---------|------|-----------|------------------------|-------|---------------------|---------|
| | | | | | | | | | H | p | İkili Karşılaştırma | p |
| Dpoae 8000 SNR/ön | GRUP 1 | 16 | 25,9 | 26,1 | 7,8 | 42,9 | 12,4 | 45,7 | 6,2 | 0,183 | - | - |
| | GRUP 2 | 16 | 28,0 | 28,3 | 7,6 | 43,5 | 12,3 | 49,3 | | | | |
| | GRUP 3 | 16 | 20,8 | 23,2 | 2,5 | 42,3 | 13,4 | 34,7 | | | | |
| | GRUP 4 | 16 | 24,2 | 25,3 | 1,5 | 41,9 | 14,5 | 40,8 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 17,9 | 13,4 | 0,4 | 42,6 | 13,8 | 32,0 | | | | |
| Dpoae 8000 SNR/son | GRUP 1 | 16 | 22,5 | 22,2 | 3,8 | 37,8 | 10,0 | 57,8 | 17,8 | 0,001 | 1--2 | 0,005* |
| | GRUP 2 | 16 | 12,2 | 8,4 | 3,1 | 34,5 | 8,6 | 35,9 | | | 1--5 | 0,0001* |
| | GRUP 3 | 16 | 14,0 | 10,3 | -13,0 | 41,2 | 14,9 | 39,6 | | | 4--5 | 0,009* |
| | GRUP 4 | 16 | 15,4 | 13,9 | 6,1 | 30,4 | 7,6 | 44,7 | | | | |
| | GRUP 5 | 16 | 7,0 | 6,8 | -4,8 | 27,1 | 8,3 | 24,4 | | | | |

* $p < 0,05$



Grafik 8. Tüm gruptaki ratların ilaç uygulaması sonrası ölçülen DPOAE 8000 Hz SNR değerleri ortalamaları ve karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Bir ilacın veya kimyasal ajanın, işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkarması ototoksikite olarak tanımlanmaktadır (9). İki ya da daha fazla birbirini takip eden frekansta, 20 dB veya daha fazla işitme kaybı gelişmesi, diğer kayıp nedenleri ekarte edildikten sonra ilaca bağlı işitme kaybı olarak kayıt altına alınmalıdır (9). Herhangi bir ajanın ototoksik sayılabilmesi için, uygulama sonrasında saf ses odyometrisinde bilateral 250–8000 frekansları arasında en az 10 dB kayıp olması kabul edilmiş bir kriterdir (60).

Klinik kullanımda OAE ölçümleri, invaziv olmaması, ağrısız olması, anestezi gerektirmemesi, hastanın genel durumundan bağımsız olup, çocuk ve mental retarde hastalara rahatlıkla uygulanabilmesi, objektif bir test olması, hassas bir ölçüm olması, sonucun kesin olması, test süresinin kısa olması ve geniş hasta gruplarının taranabilmesi gibi avantajları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle yenidoğanlarda, koklear fonksiyonları değerlendirmede faydalıdır. Sağlıklı koklea, belli bir uyarı ile akustik enerji yayar. Bu akustik enerji objektif olarak dış kulak yolundan ölçülebilir. Koklear hasarın en kolay görülebildiği yapılar olan kokleanın dış tüy hücrelerinin durumu OAE’la monitorize edilebilmektedir (13,16,61).

Otoakustik emisyonlar, dış tüylü hücreler tarafından üretilir. Ototoksik ilaçların, hipoksinin ve akustik travmanın dış tüy hücrelerde oluşturduğu hasar, otoakustik emisyonların üretimine engel olmaktadır. İç kulakta oluşan otoakustik emisyonların kaydedilebilmesi için sağlıklı bir orta kulak yapısı ve açık bir dış kulak yolu gereklidir (62).

Uyarılmış otoakustik emisyonlar, ototoksik ilaçların etkisinin erken dönemde tespit edilmesi için kullanılabilir (63). Otoakustik emisyonlar frekans spesifiktir. Eğer bir ilaç kokleada hasar oluşturursa etkilenen frekans bandına spesifik OAE’lerdeki bozulma hemen ölçülebilir (64). Brown ve arkadaşları (65), yaptıkları bir çalışmada, kobaylar üzerinde uzun süreli gentamisin uygulaması sonrası dış kulak kanalından akustik distorsiyonları

ölçmüşlerdir. Histopatolojik incelemede ilaç uygulanan ve fonksiyonel değişiklikler gösteren tüm hayvanlarda kokleada dış tüy hücre morfolojisinde değişiklikler bulmuşlardır. Daha da önemlisi distorsiyon değişikliklerini yüzey tüy hücrelerinin morfolojisindeki değişiklikler görülmeden önce saptamışlardır. Bu sonuçlara dayanarak, OAE ölçümünün, ototoksisitenin erken aşamalarında Korti organının hassas kısımlarındaki fonksiyonel bozulmaya eşlik eden altta yatan yapısal değişiklikleri ortaya çıkarmak için gerekli bir yöntem olduğunu ileri sürmüşlerdir (65).

Otoakustik emisyonların varlığı, normal şekilde çalışabilen iç kulağın genel anatomik ve fizyolojik yapısını doğrulamaktadır. Bu; baziller membran, Korti organı, stria vaskularis hareketine bağlı endolenfin ve dış tüylü hücrelerin sağlığını gerektirmektedir. OAE'lar bu sistemler zarar gördüğünde baskılanmaktadır. Bununla birlikte OAE kullanılarak, koklear disfonksiyon veya patolojilerin tipleri arasındaki fark tespit edilememektedir (13,16).

Kokleada tüylü hücrelerdeki erken dönem hasara bağlı minimal fonksiyon kayıpları DPOAE ile daha pür ton odyogramda belli olmadan yakalanabilmektedir. Arnold ve arkadaşları (66), azalmış koklear fonksiyonu tespit etmek için DPOAE testini kullanmışlardır. DPOAE ve yüksek frekans işitme arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, 4–8 kHz'de DPOAE seviyelerinin saf ses ortalamaları ile önemli ölçüde uyumlu olduğunu, bununla birlikte 4–8 kHz frekans bandında DPOAE seviyelerindeki değişikliklerin yaklaşık %14'ünün saf ses ortalama değerlerine yansıdığını ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak yüksek frekans işitmenin DPOAE'ları etkilediğini ve bu bölgede saf ses eşik ölçümü ile henüz tespit edilmemiş olan dış tüylü hücrelerdeki küçük değişikliklere emisyonların daha hassas olduğunu bildirmişlerdir (66).

Kim ve arkadaşları (67), bir kulağın test frekansındaki DPOAE seviyesini saf ses duyma eşiğiyle karşılaştırmışlardır. Testin özgünlüğünü 6000 ve 4000 Hz'de %85–89, 2000 Hz'de %82–83 ve 1000 Hz'de %78–79 olarak bulmuşlardır. Koklear fonksiyonların değerlendirmesinde, DPOAE'nin frekansa spesifik özelliği ile yararlı bir objektif test olabileceğini bildirmişlerdir (67). Otoakustik emisyonların bu özellikleri göz önünde bulundurularak, çalışmamızda cisplatinin iç kulak ve işitme üzerine olan etkileri araştırılırken TEOAE ve DPOAE ölçümlerinden yararlanılmıştır.

Wit ve Ritsma (68) deney hayvanlarında kokleanın kısa olması nedeniyle emisyon latansının çok kısa olacağını ve emisyonların alınamayacağını iddia etmişlerdir. Buna

karşılık yapılan diğer çalışmalarda deney hayvanlarında TEOAE başarıyla alınabilmiştir (69,70). DPOAE için ise bu tartışma söz konusu değildir. Küçük deney hayvanlarında bile rahatlıkla DPOAE'ler ölçülebilmektedir (71,72). Ancak ratlarda otoakustik emisyon ölçümü yaparken karşılaşılan en önemli sorun, dış kulak yolunun çok dar olması nedeniyle probun yerleştirilmesindeki zorluktur.

Cisplatin daha çok kokleotoksiktir. Vestibulotoksitesisi nadirdir. Cisplatinin ototoksik etkisi geri dönüşümsüz, bilateral, progresif, yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ve tinnitus ile karakterizedir. Bu ototoksisite insidansını kümülatif doz, verilmiş yolu, yaş, diyet faktörleri, genetik faktörler, serum protein düzeyleri, diğer ototoksik ajanların birlikte kullanılması, gürültü, düşük renal fonksiyon, daha önce işitme kaybı olması, kranial radyoterapi öyküsü gibi faktörler etkilemektedir (21-23). Cisplatin tedavisi alan hastaların yaklaşık %60-80'inde işitme eşiklerinde yükselme ve yaklaşık %15'inde de anlamlı işitme kaybı görülmektedir (73).

Cisplatin ototoksitesisinin histopatolojisi iyi tanımlanmıştır. Cisplatin kokleanın bazal kıvrımındaki ilk sıra hücrelerden başlayıp koklea apeksindeki dış tüy hücrelere doğru ilerleyen ve aynı zamanda iç tüylü hücreleri de etkileyen Korti organ hasarına neden olmaktadır. Cisplatin, Korti organını, spiral ganglionu ve stria vaskularisi etkilemektedir (73-76).

Cisplatin iyon kanalı blokajı ile dış tüy hücrelerinin membranındaki tüylü hücre hiperpolarizasyonuna ve işitme eşığında yükselmeye neden olan iyon transdüksiyon kanallarının blokajına neden olmaktadır (43,48). Bununla birlikte cisplatin ototoksitesinde ön planda rol oynadığı düşünülen reaktif oksijen ürünleri (22,27,73) hücrelerde normal selüler metabolizma, enflamasyon ve radyoterapi sonucunda oluşabilirler. Moleküler seviyede, cisplatin, süperoksit anyonu gibi reaktif oksijen radikallerinin oluşmasına sebep olmaktadır (73,77,78). Artan reaktif oksijen ürünleri ile glutatyon ve antioksidan enzimler tükenmektedir (78). Antioksidan enzimlerin tükenmesiyle süperoksit, hidrojen peroksit ve toksik lipidler, koklear hücrelere kalsiyum girişine neden olmakta ve apoptozisi tetiklemektedir (73,78).

Çalışmamızda cisplatin grubunda ilaç uygulaması sonrası ölçülen değerler incelendiğinde özellikle 4,6 ve 8 kHz de kontrol grubuna göre anlamlı düşüş saptanmıştır. Bu da cisplatin'e bağlı koklear fonksiyonlardaki bozulmayı göstermektedir.

Literatürdeki bilimsel çalışmalar, cisplatin ile ilişkili işitme kaybının, kokleadaki reaktif oksijen radikallerinin fazla oluşumuna bağlı olduğunu göstermektedir. Çeşitli endojen sitoprotektif mekanizmalar (Glutasyon peroksidaz ve diğer antioksidan enzimler, ısı şok proteini, A1 Adenozin reseptörleri vd.) bulunmasına karşın, bu mekanizmaların kapasitesini aşan durumlarda hücre hasarı kaçınılmaz olabilmektedir. Bu sebeptendir ki, yıllardır cisplatin ototoksitesinden korunmanın yollarını bulabilmek için bir çok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmaların odağında antioksidan uygulamaları yer almıştır.

İdeal bir iç kulak koruyucu ajan eğer sistemik olarak uygulanacaksa aşağıda sayılan 3 özelliğe sahip olmalıdır:

- 1- Toksik olmamalıdır.
- 2- İç kulakta yeterli konsantrasyona ulaşmalıdır.
- 3- Antitümör etkinliği etkilememelidir.

Eğer koruyucu ajanın iç kulakta yüksek bir konsantrasyona ulaşması isteniyorsa, transtimpanik uygulama da düşünülebilir. Bu uygulama yolunun avantajları; iç kulakta yüksek ilaç konsantrasyonunun sağlanabilmesi ve sistemik yan etkilerden kaçınarak, direk hedef organ tedavisi yapılabilmesidir. Fakat invazif bir işlem olması ise dezavantajdır. Günümüzde iç kulak hücrelerini cisplatin ototoksitesinden koruyan ideal bir ajan klinik kullanımda mevcut değildir (73). Bu sebeple, cisplatin ototoksitesinden korunmada etkin ve güvenli bir ajana ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyacın karşılanması adına cisplatin ototoksitesinden korunmada, başta antioksidan özelliği bilinen moleküller olmak üzere bir çok ajan kullanılarak çalışmalar yapılmıştır.

Cisplatin ototoksitesinden korunmada kullanılan serbest radikal bağlayıcı ve potansiyel iç kulak koruyucu etkili ajanlardan birisi de E vitaminidir. E vitamini tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamin olup, biyolojik aktif formu tokoferoldür. Doğal olarak mevcut olan 8 tane tokoferol vardır ve bunlardan antioksidan aktivitesi en yüksek olanı α -tokoferoldür. Lipofilik özelliğinden dolayı membran spesifik antioksidan olup, plazma membranı, mikrozom ve mitokondri gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunmaktadır. Lipid peroksil radikalini ortadan kaldırarak, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sona erdirmektedir. Bu özelliğinden dolayı zincir kırıcı antioksidan olarak bilinmektedir (25,41).

Kalkanis ve arkadaşları (79) cisplatin ototoksitesisi üzerine E vitamininin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Yapılan bu deneysel çalışmada denekler 3 gruba ayrılmıştır.

Birinci gruba cisplatin uygulamasından 30 dakika sonra E vitamini, 2. gruba cisplatin uygulamasından 30 dakika sonra soya yağı, 3. gruba salin solüsyonu uygulamasından 30 dakika sonra soya yağı verilmiştir. Deneyin başlangıcında ve tedavinin 3. gününde ABR kayıtları yapılmış ve daha sonra elektron mikroskobu incelemesi için kokleaları alınmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonunda 1. gruptaki hayvanların işitme eşikleri 2. grup ile kıyaslandığında daha yüksek bulunmuş, elektron mikroskobik taramalarında da koklear hasarın daha az olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (79).

Teranishi ve Nakashima (25) kobaylarda uyguladıkları bir çalışmada, cisplatin enjeksiyonu yapılacak hayvanlarda yuvarlak pencereleri postauriküler yaklaşımla açarak ortaya koymuşlardır. Trolox (α -tokoferolün suda eriyebilen sentetik analogu) solüsyonunu direkt yuvarlak pencere üzerine uygulanırken eş zamanlı olarak cisplatin enjeksiyonu yaptıkları bu hayvanlarda, cisplatinin tek başına uygulandığı hayvanlara göre ABR eşiklerinde önemli ölçüde düzelmeler görmüşlerdir (25).

Fetoni ve arkadaşları (26) bir araştırmalarında intramusküler uygulanan E vitamini ve tioproninin cisplatin ototoksitesisi üzerine etkilerini elektrofizyolojik ve morfolojik olarak incelemişlerdir. Cisplatin grubunda ABR eşiklerinde ciddi düşüşler görülmüş ve kokleanın özellikle bazal kıvrımında dış tüy hücrelerinde önemli kayıplar saptanmıştır. E vitamininin ve tioproninin ayrı ayrı verildiği gruba göre, E vitamininin ve tioproninin birlikte verildiği grupta ABR eşiklerinde daha fazla düzelmeye olduğu ve koklear hasarın daha az olduğu görülmüş ve birlikte kullanımının daha etkin olduğunu göstermişlerdir (26).

Çalışmamızda E vitamini grubundaki 8 rata cisplatin enjeksiyonundan 30 dakika önce 50 mg/kg i.p. E vitamini enjeksiyonu yapılmıştır. Bu grupta 4,6 ve 8 kHz DPOAE ölçümlerinde ilaç öncesi ve sonrası değerler arasında anlamlı farklılık çıkmaması, ek olarak bu frekanslarda cisplatin grubuyla kıyaslandığında ilaç sonrası değerlerin anlamlı derecede yüksek olması, E vitamininin cisplatin ototoksitesisinden koruyucu özelliğini desteklemektedir ki bu da literatürle uyumludur.

N-Asetil sistein hem serbest radikalleri bağlayıcı özelliği olan hem de intraselüler GSH seviyesinde artış sağlayarak antioksidan etki gösteren bir madde olup, cisplatinle bağlı ototoksitesiden korunmadaki etkinliği bir çok çalışmanın konusu olmuştur. Feghali ve arkadaşları (27) in vitro çalışmalarında L-N-asetil sisteinin, cisplatinin dış tüy hücrelerinde ve işitme sinirinde oluşturduğu hasardan koruyucu etkinlik gösterdiğini bulmuşlardır (27).

Dickey ve arkadaşları (80) tarafından ratlarda yapılan bir çalışmada N-asetil sistein (NAC)'in cisplatin ototoksitesinde koruyucu etkisi test edilmiştir. Ratlara cisplatin tedavisinden 15 dakika önce intravenöz (i.v) NAC verildikten sonra kontrol grubunda özellikle yüksek frekanslarda belirgin ototoksitesite izlenirken, çalışma grubunda işitsel beyin sapı yanıtı (ABR) ölçümlerinde anlamlı korunma izlenmiştir (80).

Daldal ve arkadaşları (21), kobaylarda intratimpanik deksametazonun cisplatin ototoksitesinden koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında 4 grup oluşturmuşlardır. Birinci grupta yalnızca cisplatin, ikinci grupta yalnızca deksametazon enjeksiyonu yapılırken, üçüncü grupta cisplatin öncesi ve takip eden 3 gün intratimpanik deksametazon, dördüncü grupta cisplatin öncesi ve takip eden 3 gün intratimpanik salin solüsyonu enjekte edilerek, enjeksiyonlardan önce ve sonra 1-6 kHz arası frekanslarda DPOAE çekimleriyle işitme değerlendirmesi yapılmıştır. İntratimpanik deksametazon ve cisplatin enjeksiyonu yapılan grubun işitmesinde yalnızca cisplatin yapılan gruba göre anlamlı korunma olduğu bulunmuştur (21).

Cisplatine bağlı işitme kaybından korunmada, dolaylı ve doğrudan antioksidan etkinliği bulunan D-metiyoninin kullanımı bir çok çalışmanı araştırılmıştır. Sistemik veya lokal uygulamanın, her iki şekilde de, cisplatin ototoksitesine karşı etkin bir şekilde koruyuculuk sağladığı bildirilmiştir. D-metiyoninin aynı zamanda antioksidan enzim seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir (73,82).

Sodyum tiyosülfat iç kulak koruyucu etkisi bilinen bir ajan olup, bu etkisini cisplatinle kompleks oluşturup böbreklerden atılması ile oluşturmaktadır. Bu durum cisplatinin antitümöral etkinliğini azalttığı için lokal kullanıma uygun bir ajandır (73). Wang ve arkadaşları (82) ratlarda cisplatin uygulanımı esnasında sodyum tiyosülfatı klinik olarak yüksek terapötik dozda intrakoklear perfüzyon şeklinde uygulamışlardır. Bu strateji oldukça başarılı olmuş ve işitme kaybına dair herhangi bir bulgu izlememişlerdir. Histolojik analizlerde, yalnızca cisplatinle tedavi edilen grupta dış tüy hücrelerde belirgin kayıp izlenirken, çalışma grubunda Korti organındaki dış tüylü hücrelerde neredeyse tam bir korunma izlenmiştir (82).

CUR'un biyolojik etkileri son zamanlarda birçok araştırmacı tarafından in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (43,44). "Curcuma longa" bitkisinin yumrusundan elde edilen, sarı renkte ve oldukça lipofilik bir pigmenttir (45). Literatürde CUR'un antioksidan ajan olarak cisplatine bağlı ototoksitesite modelinde kullanımı ve etkilerine yönelik bir

çalışma bulunmamakla beraber, CUR'un antioksidan özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, immunomodulatuvar, antitümoral ve antipsöriyatik etkinliği olduğu da bildirilmiştir. CUR'un antioksidan etkinliği ile böbrek, kalp, beyin ve karaciğer dokularında oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarı modellerinde oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (43-45,48,49). CUR'un bu özelliklerini de göz önünde bulunarak bu çalışma planlanırken uygun iç kulak koruyucu ajan olabileceğini düşündüren nedenler;

- 1- Kolay ulaşılabilir bir ajan olması
- 2- Kanıtlanmış antioksidan etkilerinin bulunması
- 3- Bilinen bir yan etkisi olmaması
- 4- Düşük molekül ağırlıklı olması ve lipofilik özellikleri sayesinde koklear geçişinin kolaylığı olarak özetlenebilir.

Bu nedenlerle çalışmamızda oluşturulan curcumin grubunda, cisplatin enjeksiyonundan 30 dakika önce, karboksi metilselüloz çözeltisinde hazırlanan curcumin, intraperitoneal 200 mg/kg dozda uygulanmıştır. TEOAE ile 4 kHz, DPOAE ile 8 kHz'e kadar yapılan ölçümlerin analizinde curcumin grubunda (grup 4), sinyal gürültü oranları özellikle 4,6 ve 8 kHz frekanslarda cisplatin grubu değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulunurken, kontrol grubu ile anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu bulgular CUR'un iç kulak koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir. Bu koruyucu etki, muhtemelen CUR'un antioksidan etkisine bağlı olarak görülmektedir. CUR'un benzen halkaları üzerindeki fenolik ve metoksi grupları ile 1,3 beta-diketon sistemini içeren önemli yapısal özellikleri, antioksidan özelliklerine katkıda bulunmaktadır (84). Curcumin, kuvvetli hidroksil radikal temizleyicisi olduğu gibi, süperoksit radikallerini de yakalamaktadır. Serbest radikalleri tutma özelliğinden dolayı DNA'yı oksidatif hasarlardan korumaktadır (84). Mevcut antioksidan enzimlerin etkinliğini arttırması da antioksidan özelliğine katkıda bulunmaktadır. CUR'un iNOS regülasyonu ile NO seviyelerini aşağı çekmesi ve cisplatin ototoksitesindeki basamaklardan birisi olan NF&B aktivasyonunu regüle etmesinin (58) yanı sıra; bahsedilen antioksidan etkilerinin bir sonucu olarak cisplatin ototoksitesinde önemli rolü olan reaktif oksijen ürünlerini de azaltması ve bu sayede kokleada DTH apopitozunu önlemesi, CUR'un bu çalışmada ortaya çıkan iç kulak koruyucu etkilerini açıklayabilecek özellikleri olarak görülmektedir.

Curcumin enjeksiyonu hazırlanırken çözücü olarak karboksi metilselüloz kullanılmıştır. Karboksi metilselülozün olası etkilerinin tespiti için, ayrı bir karboksi

metilselüloz grubu oluşturulmuştur. Literatürde karboksi metilselülozün, cisplatin ototoksisitesinde kullanımıyla ilgili bir veri bulunmamaktadır. Çalışmamızda sonuçlar değerlendirildiğinde, hem ilaç sonrası değerlerde, ilaç öncesi değerlere göre anlamlı düşmenin olması, hem de ilaç sonrası değerlerin, cisplatin grubu ilaç sonrası değerler ile kıyaslandığında anlamlı farklılığın olmaması ile karboksi metilselülozün herhangi bir koruyucu etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, curcumin grubundaki bulguların karboksi metilselülozden bağımsız olduğu ortaya koyulmuştur.

Genel olarak tüm bulgular değerlendirildiğinde ilaç öncesi yapılan bazal işitme değerleri gruplar arasında benzer olarak bulunmuştur. İlaç uygulamaları sonrası cisplatin grubu (grup 2) ve karboksi metilselüloz grubu (grup 5) işitme değerlendirmelerinde 3,4,6 ve 8 kHz'de, işitme kaybı saptanmıştır. Curcumin grubu SNR ortalama değerleri, E vitamini grubundan daha yüksek olmakla beraber iki grup arasında, TEOAE 4 kHz SNR değerleri dışında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmaması, her iki grubun SNR ortalama değerlerinin cisplatin grubundan yüksek olması ile her iki ilacın iç kulak koruyucu etkisi gösterilmiştir, bununla beraber bu bulgular ile curcuminin E vitaminine göre cisplatin ototoksisitesinden korunmada daha etkin olduğu düşünülmüştür.

Literatürde curcuminin cisplatin ototoksisitesi modelinde iç kulak koruyucu etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız bu konuda bir ilk olarak curcuminin cisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir. Ancak ileride yapılacak çalışmalarda, daha yüksek frekansları (12,16 kHz) da içeren DPOAE ve/veya ABR ile yapılacak değerlendirmelere ek olarak iç kulak histopatolojisinin de değerlendirilmesi ile curcuminin iç kulak koruyucu etkisi daha detaylı ele alınabilecektir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Cisplatin ve karboksi metilselüloz grubunda özellikle 4, 6 ve 8 kHz frekanslardaki SNR değerlerindeki belirgin düşme cisplatine bağlı işitme kaybını doğrulamamıza yardımcı olmuştur.
2. Curcumin ve E vitamini grubunda DPOAE ve TEOAE SNR değerlerinde, cisplatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekliğinin bulunması, ek olarak salin grubu ile değerler arasında anlamlı farklılık çıkmaması ile her iki ajanın da iç kulak koruyucu etkisi ortaya koyulmuştur.
3. Curcumin grubu değerlerinin, E vitamini grubu değerlerinden daha iyi olduğunu gözlemlense de, istatistiksel olarak 4 kHz değeri dışında anlamlı farklılık saptanmaması, iki ajanın da etkilerinin benzer olduğunu, muhtemelen curcuminin daha etkin olduğunu düşündürmektedir.
4. İç kulak histopatolojisinin ve yüksek frekans işitme eşiklerinin değerlendirildiği ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir.

7. ÖZET

RATLARDA CISPLATİNE BAĞLI OTOTOKSİSİTEDE CURCUMİNİN KORUYUCU ETKİSİ

Amaç: Cisplatin, çeşitli neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılan, güçlü alkilleyici özelliği olan bir antineoplastik ilaçtır. Bununla birlikte, bu ajanın kullanımında nefrotoksisite, ototoksisite, miyelotoksisite, gastrointestinal toksisite, periferik nöropati gibi ciddi yan etkiler ortaya çıkmaktadır. ototoksik etkisi geri dönüşümsüz, bilateral, progresif, yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ve tinnitus ile karakterizedir. Bu çalışmanın amacı antioksidan özellikleri bilinen ve doğal bir madde olan curcuminin ve E vitamininin cisplatin ototoksisitesine karşı koruyuculuğunu araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada, curcumin ve E vitamininin, cisplatin ototoksisitesinden korunmadaki etkinliklerini araştırmak ve bu ajanların etkilerini karşılaştırmak için 5 grup (n=8) oluşturulmuştur. 1. gruptaki ratlara 1.5 ml serum fizyolojik, 2. gruptakilere 15 mg/kg cisplatin i.p. yolla verilmiştir. Üçüncü grupta bulunan ratlara 50 mg/kg i.p. E vitamini takiben 30 dk sonra i.p. 15mg/kg cisplatin, 4.gruptaki ratlara 200 mg/kg i.p. curcumin verildikten 30 dk sonra 15mg/kg cisplatin , 5. Gruptaki ratlara %0.5'lik karboksi metilsellüloz çözeltisi 1.5 ml i.p. verildikten 30 dk sonra i.p. 15mg/kg cisplatin enjeksiyonu yapılmıştır. Tüm ratlarda bazal işitme için ilaç uygulaması öncesi ve ilaçlar verildikten 72 saat sonra TEOAE ve DPOAE ölçümleri yapılmıştır.

Bulgular: Cisplatin ve karboksi metilsellüloz grubunda özellikle 4,6 ve 8 kHz frekanslardaki SNR değerlerindeki belirgin düşme cisplatine bağlı ototoksik etkiyi göstermektedir. Bunun yanı sıra curcumin ve E vitamini grubunda DPOAE ve TEOAE SNR değerlerinde, cisplatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekliğinin bulunması, ek olarak salin grubu ile değerler arasında anlamlı farklılık çıkmaması her iki ajanın da iç kulak koruyucu etkisini ortaya koymuştur.

Sonuç: Literatür gözden geçirildiğinde, bu çalışmanın, cisplatinin ototoksik etkisinden korunmada curcumin kullanımını değerlendiren ilk çalışma olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, CUR'un, cisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etkileri olan bir madde olduğu gösterilmiştir. İç kulak histopatolojisinin ve daha yüksek frekans işitme eşiklerinin de değerlendirildiği ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir.

8. SUMMARY

PROTECTIVE EFFECTS OF CURCUMIN IN THE PREVENTION OF CISPLATIN INDUCED OTOTOXICITY IN RATS

Aim: Cisplatin is an antineoplastic agent with an effective alkylating property used in the treatment of various neoplastic diseases. However, serious side effects like nephrotoxicity, ototoxicity, myelotoxicity, gastrointestinal toxicity and peripheral neuropathy occur with the use of this agent. Ototoxicity caused by cisplatin use is characterized by irreversible, bilateral, progressive high-frequency sensorineural hearing loss and tinnitus. The aim of the study is to investigate the protective effects of Curcumin known as an antioxidant and a natural agent and Vitamin E in cisplatin ototoxicity.

Material and Methods: Five groups of 8 rats were used to investigate the protective effects of curcumin and Vitamin E in cisplatin ototoxicity. One and half ml of saline solution was administered to Group 1. Group 2 received cisplatin 15 mg/kg i.p. In group 3, 15 mg/kg cisplatin was administered i.p to rats 30 minutes after 50mg/kg i.p Vit E injection. In Group 4, cisplatin 15 mg/kg was administered i.p 30 minutes after 200 mg/kg i.p curcumin injection. In group 5, 15mg/kg cisplatin was administered 30 minutes after 1.5 ml 5% carboxymethylcellulose solution was injected by i.p route. TEOAE and DPOAE measurements were done before any agent was injected and repeated 72 hours after the administration of drugs.

Results: The decrease in SNR values particularly in 4,6 and 8 khz frequencies demonstrates the ototoxic effects of cisplatin. Statistically significantly high SNR values in TEOAE and DPOAE measurements in curcumin and Vit E groups and insignificant differences found when compared with saline group demonstrates the otoprotective effects of both agents.

Conclusion: To our knowledge, this is the first study investigating the protective effects of curcumin in cisplatin ototoxicity. In conclusion, curcumin is a protective agent against the ototoxic effects of cisplatin. Further studies implementing higher frequency analyses and histopathologic examination of cochlear cells are needed to confirm the results of our study.

9. KAYNAKLAR

- 1) Bisht M, Bist SS: Ototoxicity: The Hidden Menace. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg., 63(3):255–259, 2011.
- 2) Alicura TS, Vuralkan E, Sonbay ND, Çalışkan M, Saka C, Beşaltı Ö, Akın İ: Protective Effects of Vitamins E, B and C and L-carnitine in the Prevention Of Cisplatin-Induced Ototoxicity in Rats. The Journal of Laryngology & Otology, 126(5):464-9, 2012.
- 3) El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH: Cadmium-Induced Changes in Lipid Peroxidation, Blood Hematology, Biochemical Parameters and Semen Quality of Males: Protective Role of Vitamin E and Beta-Carotene. FoodChemToxicol, 42(10):1563-71; 2004.
- 4) Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A: The Curcuma Antioxidants: Pharmacological Effects and Prospects for Future Clinical Use. Arch Gerontol Geriatr, 34(1):37-46, 2002.
- 5) Thiyagarajan M, Sharma SS: Neuroprotective Effect of Curcumin in Middle Cerebral Artery Occlusion Induced Focal Cerebral Ischemia in Rats. Life Sci., 74(8):969-85, 2004.
- 6) Akyıldız N: Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2002, s 87-113.
- 7) Aslan A, Belgin E: Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi. Koç C, editör. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2004, s. 45–71.
- 8) McGee J, Walsh E J: Koklear Transdüksiyon ve Periferik İşitsel Patolojilerin Moleküler Temeli. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE. Editors. Koç C, Çev. Editörü. Cummings

- Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, 4. baskı. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2007, s. 3402-150.
- 9) Rybak LP: Vestibüler ve İşitsel Toksikite. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. Koç C, Çev. Editörü. Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, 4. baskı. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara. 2007, s 2933–130.
 - 10) Wackym PA, Storper IS, Newman AN: Cochlear and Vestibular Ototoxicity. In: Canalis RF, Lambert PR, Editors. The Ear Comprehensive Otology. Lippincott Williams & Wilkins, Philedelphia, 2000, p.571-85.
 - 11) Abdullah Taş, Yağız R: Ototoksisitenin Odyolojik Monitörizasyonu. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 22(1):37-41, 2005.
 - 12) Kemp DT: Exploring Cochlear Status with Otoacoustic Emissions. In: Robinette MS, Gattke TJ, editors. Otoacoustic Emissions. Thieme Medical Publishers, New York, 2002. p. 1-47.
 - 13) Johnson KC: Audiologic Assessment of Children with Suspected Hearing Loss. Otolaryngol Clin North Am , 35: 711-32, 2002.
 - 14) Harris FP, Probst R: Otoacoustic Emissions and Audiometric Outcomes. In: Robinette MS, Gattke TJ, editors. Otoacoustic Emissions. Thieme Medical Publishers, New York: 2002. p. 213-42.
 - 15) Singh P P, Gupta N, Verma P: Transient Evoked and Distortion Product Otoacoustic Emission Profile in Patients of Otosclerosis: A Preliminary Report. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg, 64(1):25–30, 2012.
 - 16) Brown J C: İşitmenin Elektrofizyolojik olarak Belirlenmesi, CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. Koç C, Çev. Editörü. Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, 4. baskı. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2007, s. 3466-151.
 - 17) Khvoles R, Freeman S, Sohmer H: Transient Evoked Otoacoustic Emissions Can Be Recorded in the Rat. Hear Res., 97(1-2):120-6, 1996.

- 18) Hatzopoulos S, Stefano M. Di, Campbell K C M, Falgione D, Ricci D, Rosignoli M, Finesso M, Albertin A, Previati M, Capitani S, Martini A: Cisplatin Ototoxicity in the Sprague Dawley Rat Evaluated by Distortion Product Otoacoustic Emissions. *International Journal of Audiology*, 40(5) , 253-264, 2001.
- 19) Bayındır T, Filiz A, Iraz M, Kaya S, Tan M, Kalcıoğlu M T: Evaluation of the Protective Effect of Beta Glucan on Amikacin Ototoxicity Using Distortion Product Otoacoustic Emission Measurements in Rats. *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*, 6(1) 1-6, 2013.
- 20) Whitehead M, Lonsbury-Martin BL, Martin G: Evidence for Two Discrete Sources of 2f1-f2 Distortion Product Otoacoustic Emission in Rabbit. II: Differential Dependence on Stimulus Parameters. *J Acoust Soc Am.*, 91:1587-1607, 1992.
- 21) Daldal A, Odabaşı O, Şerbetçioğlu B: The Protective Effect of Intratympanic Dexamethasone on Cisplatin-Induced Ototoxicity in Guinea Pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 137(5):747-52, 2007.
- 22) Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V: Mechanisms of Cisplatin Induced Ototoxicity and Prevention. *Hear Res.* 226(1-2):157-67, 2007.
- 23) Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B: The Protective Role of Tiopronin in Cisplatin Ototoxicity in Wistar Rats. *Int J Audiol.*, 43(8):465-70, 2004.
- 24) van den Berg JH, Beijnen JH, Balm AJ, Schellens JH: Future Opportunities in Preventing Cisplatin Induced Ototoxicity. *Cancer Treat Rev.*, 32(5):390-7, 2006.
- 25) Teranishi MA, Nakashima T: Effects of Trolox, Locally Applied on Round Windows, on Cisplatin-Induced Ototoxicity in Guinea Pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*, 67(2):133-9, 2003.
- 26) Fetoni AR, Sergi B, Ferraresi A, Paludetti G, Troiani D: Protective Effects of Alphatocopherol and Tiopronin Against Cisplatin-Induced Ototoxicity. *Acta Otolaryngol.*, 124(4):421-6, 2004.

- 27) Feghali JG, Liu W, Van De Water TR. L-N-Acetyl-Cysteine Protection Against Cisplatin Induced Auditory Neuronal and Hair Cell Toxicity. *Laryngoscope*, 111(7):1147-55, 2001.
- 28) Lin E, Lowry SF, Calvano SE: Systemic Response to Injury and Metabolic Support. Brunnicardi FC, Andersen AD, Billiar TR. Editors. *Schwartz's principles of surgery*. Mc Graw-Hill, New York, 2005, pp 3-41.
- 29) Ertan T, Soran A, Kılıç M: Kan Malondialdehid ve Total Antioksidan Seviyesinin Önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2: 154- 67, 2001.
- 30) Girotti AW: Lipid Hydroperoxide Generation, Turnover, and Effector Action in Biological Systems. *J Lipid Res.*, 39: 1529- 42, 2000.
- 31) Haga S, Remington SJ, Morita N, Terui K, Ozaki M: Hepatic Ischemia Induced Immediate Oxidative Stress After Reperfusion and Determined the Severity of the Reperfusion-Induced Damage. *Antioxid Redox Signal*, 11: 2563-72, 2009.
- 32) Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, İstanbul, 2000, s 1-124.
- 33) Huang HY, Helzlsouer KJ, Appel LJ: The Effects of Vitamin C and Vitamin E on Oxidative DNA Damage: Results From A Randomized Controlled Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9: 647- 52, 2000.
- 34) Marnett LJ: Oxyradicals and DNA Damage. *Carcinogenesis*, 21: 361- 370, 2000.
- 35) Unno N, Fink MP: Nutritional, Physiologic, and Pathophysiologic Considerations of the Gastrointestinal Tract. Intestinal Epithelial Hyperpermeability. Mechanisms and Relevance to Disease. *Gastroenterol Clin North Am.*, 27: 289- 307, 1998.
- 36) Gutteridge JMC: Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clinical Chemistry* ,41: 1819-1828, 1995.
- 37) Urso ML, Clarkson PM: Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. *Toxicol.*, 189: 41-54, 2003.

- 38) Halliwell B: Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause or Consequence? *Lancet*. 10: 721-4, 1994.
- 39) Chen HF, Kou YR: Vagal and Mediator Mechanisms Underlying the Tachypnea Caused by Pulmonary Air Embolism in Dogs. *J Appl Physiol.*, 88: 1247- 53, 2000.
- 40) Battioni JP, Fontecave M, Jaouen M, Mansuy D: Vitamin E Derivatives as New Potent Inhibitors of Microsomal Lipid Peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 174(3):1103-8, 1991.
- 41) Frank J: Beyond Vitamin E Supplementation: an Alternative Strategy to Improve Vitamin E Status. *JPlantPhysiol*. 162(7):834-43, 2005.
- 42) Kayaalp O: *Tıbbi Farmakoloji*. Hacettepe-Taş Kitabevi, Ankara, 2002, s. 1484-1489.
- 43) Balasubramanyam M, Koteswari A A, Kumar R S, Monickaraj S F, Maheswari J U, Mohan V: Curcumin-Induced Inhibition of Cellular Reactive Oxygen Species Generation: Novel Therapeutic Implications. *J Biosci.*,28: 715- 21, 2003.
- 44) Maheshwari R K, Singh A K, Gaddipati J, Srimal R C: Multiple Biological Activities of Curcumin: A Short Review. *Life Sci.*, 78: 2081- 7, 2006.
- 45) Jayaprakasha G K, Rao L J M, Sakariah K: Chemistry and Biological Activities of *Curcuma Longa*. *Trends Food Sci. Tech.*, 16: 533- 48, 2005.
- 46) Araujo C C, Leon L L: Biological Activities of *Curcuma Longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96: 723- 8, 2001.
- 47) Ung VY, Foshaug RR, MacFarlane SM, Churchill TA, Doyle JS, Sydora BC, Fedorak RN: Oral Administration of Curcumin Emulsified in Carboxymethyl Cellulose Has a Potent Anti-inflammatory Effect in the IL-10 Gene-Deficient Mouse Model of IBD. *Dig Dis Sci*, 55:1272–1277, 2010.
- 48) Duvoix A, Blasius R, Delhalle S: Chemopreventive and Therapeutic Effects of Curcumin. *Cancer Lett*, 223: 181-90, 2005.

- 49) Sharma RA, Ireson CR, Verschoyle RD, Hill KA, Williams ML, Leuratti C: Effects of Dietary Curcumin on Glutathione S-Transferase and Malondialdehyde-DNA Adducts in Rat Liver and Colon Mucosa: Relationship with Drug Levels. *ClinCancerRes*, 7 (5): 1452-1458, 2001.
- 50) Aggarwal B, Bhatt ID, Ichikawa H, Ahn KS, Sethi G, Sandur SK: Curcumin Biological and Medicinal Properties. 2006: p. 297-367.
- 51) Lin JK, Lin-Shiau SY: Mechanisms of Cancer Chemoprevention by Curcumin. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*, 25 (2): 59-66, 2001.
- 52) Wang X, Jiang Y, Wang YW, Huang MT, Ho CT, Huang Q: Enhancing Antiinflammation Activity of Curcumin Through O/W Nanoemulsions. *FoodChemistry*, 108: 419-424, 2008.
- 53) Tohda C, Nakayama N, Hatanaka F, Komatsu K: Comparison of Antiinflammatory Activities of Six Curcuma Rhizomes: A Possible Curcuminoid- Independent Pathway Mediated by Curcuma Phaeocaulis Extract. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 3 (2): 255-260, 2006.
- 54) Scartezzini P, Speroni E: Review on Some Plants of Indian Traditional Medicine with Antioxidant Activity. *J Ethnopharmacol.*, 71: 23-43, 2000.
- 55) Devasena T, Rajasekaran KN, Menon VP. Bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione (a Curcumin Analog) Ameliorates DMH-Induced Hepatic Oxidative Stress During Colon Carcinogenesis. *Pharmacol Res.*, 46: 39-45, 2002.
- 56) Araújo CAC, Leon LL: Biological Activities of Curcuma Longa L. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96(5): 723-728, 2001.
- 57) Piper JT, Singhal SS, Salameh MS, Torman RT, Awasthi YC, Awasthi S: Mechanisms of Anticarcinogenic Properties of Curcumin: The Effect of Curcumin on Glutathione Linked Detoxification Enzymes in Rat Liver. *Int J Biochem Cell Biol.* 30: 445- 56, 1998.

- 58) Venugopal PM, Sudheer AR. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties Of Curcumin. *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 595, 105-125, 2007.
- 59) Bhaumik S, Jyothi MD, Khar A: Differential Modulation of Nitric Oxide Production by Curcumin in Host Macrophage Sand NK Cells. *FEBS Lett*, 483, 78-82, 2000.
- 60) Akyıldız N: Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. *Bilimsel Tıp Yayınevi*, Ankara 2002, s 415-425.
- 61) Stavroulaki P, Apostolopoulos N, Segas J, Tsakanikos M, Adamopoulos G: Evoked Otoacoustic Emissions an Approach for Monitoring Cisplatin Induced Ototoxicity in Children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 47-57,2001.
- 62) Janfaza P, Nadol JB: Temporal kemik. Janfaza P, Nadol JB, Gala R, Fabian RL, Montgomery WW, editors, Cansız H, çev. ed. *Baş Boyun Cerrahi Anatomisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002. s. 420–79.
- 63) Özturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR: Monitoring of Cisplatin Ototoxicity by Distortion Product Otoacoustic Emissions. *Auris Nasus Larynx*, 23: 147–51, 1996.
- 64) Lafraniere D, Smurzynski J, Jung MS, Leonard G, Kim DO: Otoacoustic Emissions in Full-Term Newborns at Risk for Hearing Loss. *Laryngoscope*, 103: 1334-41, 1993.
- 65) Brown AM, McDowell B, Forge A: Acoustic Distortion Products Can Be Used to Monitor the Effects of Chronic Gentamicin Treatment. *Hear Res.*,42: 143–56, 1989.
- 66) Arnold DJ, Losbury-Martin B, Martin GK: High-Frequency Hearing Influences Lower Frequency Distortion-Product Otoacoustic Emissions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery*, 125: 215–22, 1999.
- 67) 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.*, 116: 3–11, 1996.

- 68) Wit HP, Ritsma RJ: Evoked Acoustical Emissions from the Human Ear: Some Experimental Results. *Hear Res.*, 2: 253–61, 1980.
- 69) Khvoles R, Freeman S, Sohmer H: Transient Evoked Otoacoustic Emissions in Laboratory Animals. *Audiology*, 38(3):121-6, 1999.
- 70) Hatzopoulos S, Petruccelli J, Laurell G, Finesso M, Martini A: Evaluation of Anesthesia Effects in a Rat Animal Model Using Otoacoustic Emission Protocols. *Hear Res.*, 170(1-2):12-21, 2002.
- 71) Mesbahzadeh B, Ajalloueyan M, Kaka GR, Askari A, Hasanalifard M: A Model Portraying Experimental Loss of Hair Cell: The Use of Distortion Product Otoacoustic Emission in the Assessment of Rat's Ear. *Pak J Pharm Sci.*, 26(4):767-71, 2013.
- 72) Kapusuz Z, Ozkırış M, Kala M, Saydam L: Protective Role of Bilberry Extract Against Cisplatin Induced Ototoxicity in Rats. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.*, 65(4):339-44, 2013.
- 73) Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V: Cisplatin Ototoxicity and Protection: Clinical and Experimental Studies. *Tohoku J Exp Med.*, 219(3): 177–186, 2009.
- 74) van Ruijven MW, De Groot JC, Smoorenburg GF: Time Sequence of Degeneration Pattern in the Guinea Pig Cochlea During Cisplatin Administration. A Quantitative Histological Study. *Hear Res.*, 197: 44–54, 2004.
- 75) Cardinaal RM, De Groot JC, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF: Cisplatin Induced Ototoxicity: Morphological Evidence of Spontaneous Outer Hair Cell Recovery in Albino Guinea Pigs. *Hear Res.*, 144:147–56, 2000.
- 76) van Ruijven MW, De Groot JC, Klis SF, Smoorenburg GF: The Cochlear Targets of Cisplatin: An Electrophysiological and Morphological Time-Sequence Study. *Hear Res.*, 205:241–8, 2005.
- 77) Dehne N, Lautermann J, Petrat F: Cisplatin Ototoxicity: Involvement of Iron and Enhanced Formation of Superoxide Anion Radicals. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 174:27, 2001.

- 78) Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S: Effect of Protective Agents Against Cisplatin Ototoxicity. *Am J Otol.*, 21:513-20, 2000.
- 79) Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP: Vitamin E Reduces Cisplatin Ototoxicity. *Laryngoscope*, 114(3):538-42, 2004.
- 80) Dickey DT, Muldoon LL, Kraemer DF, Neuwelt EA: Protection Against Cisplatin Induced Ototoxicity by N-Acetylcysteine in a Rat Model. *Hear Res.*, 193: 25–30, 2004.
- 81) Campbell KC, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF: The Effect of D-Methionine on Cochlear Oxidative State With and Without Cisplatin Administration: Mechanisms of Otoprotection. *J Am Acad Audiol.*, 14(3):144-56, 2003.
- 82) Wang J, Lloyd Faulconbridge RV, Fetoni A: Local Application of Sodium Thiosulfate Prevents Cisplatin-Induced Hearing Loss in the Guinea Pig. *Neuropharmacology*, 45: 380–93, 2003.
- 83) Eybl V, Kotyzova D, Bludovska M: The Effect of Curcumin on Cadmium-Induced Oxidative Damage and Trace Elements Level in the Liver of Rats and Mice. *Toxicol Lett.*, 151(1):79-85, 2004.
- 84) Akpolat M, Tarladaçalışır YT, Kanter M: İyonizan Radyasyonun Neden Olduğu İnce Bağırsak Hasarına Karşı Curcumin ve C Vitamininin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 6(2),77-85, 2008.