



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ
ANABİLİMDALI**

**RATLARDA İNTRAPERİTONEAL YOLLA UYGULANAN
KURSETİN HİDRATIN SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ramazan GÜNDOĞDU

KAYSERİ- 2013



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ
ANABİLİMDALI**

**RATLARDA İNTRAPERİTONEAL YOLLA UYGULANAN
KUERSETİN HİDRATIN SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ramazan GÜNDOĞDU

Danışman

Prof. Dr. Mustafa ERKAN

**Bu Uzmanlık Tezi Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi
Tarafından TSU-12-4120 No'lu Proje ile Desteklenmiştir.**

KAYSERİ- 2013

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sürecinde ve ihtisas eğitimim boyunca ilgi ve katkılarını esirgemeyip yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Mustafa Erkan'a, ihtisas hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hocalarım; Prof. Dr. Ercihan Güney'e, Prof. Dr. Yaşar Ünlü'ye, Prof. Dr. İsmail Külahlı'ya, Doç. Dr. Mehmet Akif Somdaş'a, Doç. Dr. Sedat Çağlı'ya, Doç. Dr. İmdat Yüce'ye ve Doç. Dr. İbrahim Ketenci'ye, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Aynur Akın'a

Gerek asistanlık hayatım boyunca gerekse de tez döneminde ilgi ve desteklerini esirgemeyen Öğr. Gr. Dr. M. İlhan Şahin ve birlikte aynı ortamı ve havayı paylaşmaktan onur duyduğum başta Dr. Mesut Aydın ve Dr. Alperen Vural olmak üzere çok değerli KBB Anabilim dalı araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tezime katkılarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Üyesi Doç. Dr. M. Fatih Sönmez'e, tezimin uygulama işlemlerinde başta Abdulcelil Ünver olmak üzere büyük yardımları dokunan DEKAM çalışanlarına,

Her zaman desteklerini hissettiğim ve hiçbir zaman emeklerini ve fedakarlıklarını ödeyemeceğim anneme-babama ve çok değerli kardeşlerime, en sıkıntılı zamanlarımda bana karşı daima anlayışlı olan ve bu tezin oluşmasında büyük katkısı olan biricik eşim Dr. Kıymet Gündoğdu'ya en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İŞİTME SİSTEMİ	2
2.1.1. İç Kulak.....	2
2.1.2. Koklea ve İşitme	3
2.1.3. Korti Organı ve Stria Vaskülaris	3
2.2. OTOTOKSİSİTE.....	5
2.2.1. Ototoksitenin Tarihsel Süreci ve Ototoksositeye Neden Olan Ajanlar.....	5
2.2.2. Ototoksosite Mekanizması.....	6
2.2.3. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Ürünleri	7
2.3. OTOTOKSİSİTENİN TANISI VE İZLEMİ	8
2.3.1. Saf Ses Odyometrisi	9
2.3.2. Yüksek Frekans Odyometri	9
2.3.3. Beyin Sapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller	9
2.3.4. Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar	9
2.4. SİSPLATİN	11
2.4.1. Sisplatinin Tarihçesi	11
2.4.2. Sisplatinin Antitümöral Etkisi	11
2.4.3. Sisplatinin Klinik Kullanımı ve Yan Etkileri	11

2.4.4. Sisplatin Farmakokinetiği	12
2.4.5. Sisplatin Ototoksisitesi	12
2.4.6 Sisplatin Ototoksisindeki Hedef Organlar	13
2.4.7. Sisplatin Ototoksisitesine Karşı Koruyucu Ajanlar	13
2.5. BİOFLAVONOİDLER	15
2.5.1. Kuersetin ve Türevi Ajanların Genel Özellikleri.....	15
2.5.2. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI	19
3.2. ANESTEZİ UYGULAMASI	20
3.3. DPOAE TESTİ UYGULANMASI	20
3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	22
3.5. İSTATİKSEL ANALİZ.....	22
4. BULGULAR	23
4.1. DPOAE CEVAPLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	23
4.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI.....	27
5. TARTIŞMA	31
6.SONUÇLAR	41
KAYNAKLAR	42
TEZ ONAY SAYFASI	56

KISALTMALAR

ABR	: İşitsel beyin sapı yanıtı
ASHA	: Amerikan Konuşma Dil ve İşitme Birliği
Bcl-2	: B-hücreli lenfoma 2
CCPA	: 2-kloro-N-siklopentiladenozin
dB	: Desibell
DKY	: Dış kulak yolu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPOAE	: Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon
DTH	: Dış tüylü hücre
EOAE	: Uyarılmış otoakustik emisyon
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
HFA	: Yüksek frekans odyometri
Hz	: Hertz
i.p.	: İntraperitoneal
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İTH	: İç tüylü hücre
JNK	: c-jun n-terminal kinaz
kHz	: Kilo Hertz
NADPH	: Nikotanamid adenin dinükleotid fosfat
NO	: Nitrik oksit
NOX	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
OAE	: Otoakustik emisyon
PTO	: Saf ses odyometrisi
RNÜ	: Reaktif nitrojen ürünleri

ROÜ	: Reaktif oksijen ürünleri
R-PIA	: R-fenillizopropiladenozin
SNR	: Sinyal - gürültü oranı
SOAE	: Spontan otoakustik emisyon
TEOAE	: Transient uyarılmış otoakustik emisyon
TNF-R	: Tümör nekrozis faktör reseptörü
ve ark.	: ve arkadaşları
yy.	: Yüzyıl

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Ototoksisiteye neden olan ajanlar	6
Tablo 2. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri	8
Tablo 3. Kobaylarda cisplatin ototoksisitesinde kullanılmış ajanlar (Rybak ve Witworth'un "Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention" adlı yazısından uyarlanmıştır	14
Tablo 4. 1. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri.....	23
Tablo 5. 2. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri.....	24
Tablo 6. 3. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri.....	25
Tablo 7. 4. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri.....	26

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Korti organı.....	4
Şekil 2. 1. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği.....	24
Şekil 3. 2. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği.....	24
Şekil 4. 3. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği.....	25
Şekil 5. 4. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği.....	26

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Çalışmada kullanılan ajanlar	19
Resim 2. Anestezi injeksiyonlarının yapılması	20
Resim 3. Çalışmada kullanılan otomikroskopi ve OAE ölçüm düzeneği	21
Resim 4. Proben rat kulağına yerleştirilmesi.....	21
Resim 5. Stria vaskularise ait görüntü.....	28
Resim 6. Korti organına ait görüntü.	29
Resim 7. Spiral gangliona ait görüntü.	30

RATLARDA İNTRAPERİTONEAL YOLLA UYGULANAN KUERSETİN HİDRAT'IN SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Amaç: Sisplatin sık kullanılan kemoterapötik bir ajan olmasıyla beraber, ototoksosite dahil olmak üzere ciddi yan etkileri mevcuttur. Kuersetin hidrat serbest radikal temizleme ve nöroprotektif etkileri olan bioflavonoid türevi bir antioksidandır. Çalışmamızın amacı, kuersetin hidratin koklear fonksiyon ve morfolojisi üzerine etkisinin ve sisplatin ile indüklenmiş ototoksitede olası koruyucu etkisinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve yöntem: Çalışmamız prospektif ve kontrollü hayvan çalışması şeklinde yapıldı. Deneide kullanılan Wistar albino ratları dört gruba ayrıldı. İlaç uygulamalarından önce her bir gruptaki ratların her iki kulağına distorsiyon ürünü otoakustik emisyon testi yapıldı. 1. Gruptaki ratlara ($n = 8$), 3 gün boyunca serum fizyolojik (% 0.09) intraperitoneal (i.p.) yoldan verilirken, 2. gruptaki ratlara ($n = 8$), 16 mg/kg/gün olacak şekilde tek doz sisplatin i.p. olarak verildi. Üçüncü gruptaki ratlara ($n = 8$), 50 mg/kg/gün dozunda 3 gün süreyle kuersetin hidrat i.p. olarak verildi. Dördüncü gruptaki ratlara ($n = 8$), 16 mg/kg/gün şeklindeki tek doz sisplatin uygulamasından 2 gün önce başlamak üzere kuersetin hidrat 50 mg/kg/gün dozunda 5 gün süreyle günlük tek doz halinde i.p. olarak verildi. Kontrol otoakustik emisyon ölçümleri 1., 2., ve 3. gruplar için ilk uygulamalardan sonraki 3. günde yapılırken bu süre 4. grup için 5 gündü. Çalışmanın sonunda ratlar derin anesteziyle dekapitize edilip kokleadaki histolojik değişiklikler ışık mikroskopisiyle değerlendirildi.

Bulgular: 1. grup (Kontrol grubu) ve 3. grupta (Kuersetin hidrat grubu) işlem öncesi ve sonrası DPOAE ölçümleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. İkinci grupta (Sisplatin grubu) ilk ve ikinci ölçümlerde bütün frekanslarda anlamlı fark mevcuttu. Dördüncü grupta (Kuersetin hidrat ve Sisplatin grubu) ilk ve ikinci ölçümler arasında hiçbir frekansta anlamlı fark yoktu. Gruplar arası DPOAE değişim farklarına bakıldığında 4. grupla 1 ve 3. grup arasında sırasıyla 8000 ve 6000 Hz frekanslarında anlamlı fark mevcuttu. İkinci gruba DPOAE değişim farkları açısından bakıldığında

Özellikle yüksek frekanslarda diğer gruplara göre anlamlı fark mevcuttu. Morfolojik olarak 1. grup ve 3. grupta akut değişiklikler saptanmadı. İkinici ve 4. grupta stria vaskulariste ve spiral gangliyonda dejenerasyon ve dış tüylü hücrelerde kayıp gözlenirken, hasar miktarı 4. grupta 2. gruba göre daha azdı.

Sonuç: Kuersetin hidratin koklea üzerine olumsuz etkisi yoktur ve sisplatin ototoksisitesinde parsiyel koruyucu etkisi mevcuttur.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, ototoksisite, antioksidanlar, flavonoidler, kuersetin,

**ASSESSMENT OF EFFECTIVENES OF INTRAPERITOENALLY
ADMINISTRATED QUERCETIN HYDRATE ON CISPLATIN INDUCED
OTOTOXICITY IN RATS**

ABSTRACT

Aim: Cisplatin, a widely used chemotherapeutic agent, has serious side effects, including ototoxicity. Quercetin hydrate is an antioxidant bioflavonoid agent that exerts radical scavenger and neuroprotective effects. The purpose of this study was to evaluate the effect of quercetin hydrate on cochlear function and morphology and its possible protective effect against acute cisplatin-induced ototoxicity in rats.

Material and Methods: This prospective, controlled animal study was conducted with Wistar albino rats which were divided into four groups. Before the drug administration, distortion product otoacoustic emission (DPOAE) tests were performed in both ears of each rat. Group 1 ($n = 8$), received intraperitoenal (i.p.) saline infusion for 3 consecutive day, Group 2 ($n = 8$) received single dose of cisplatin at 16 mg/kg/day, Group 3 ($n = 8$) received quercetin hydrate at 50 mg/kg/day for 3 consecutive days and Group 4 ($n = 8$) received not only single dose of cisplatin at 16 mg/kg/day, but also received i.p. quercetin hydrate, 2 days prior to the cisplatin injection at 50 mg/kg/day for consecutive 5 days. Control otoacoustic emission measures were performed 3 days after the first infiltration in Groups 1 ,2 and 3. This interval was 5 day for Group 4. At the end of study the rats were decapitated with deep anesthesia and histological changes in the cochleas were observed by light microscopy.

Results: There were no statistically significant differences in DPOAE measures between the first and second measures in Group 1 (Control group) and Group 3 (Quercetin hydrate). Group 2 (Cisplatin) revealed significant differences between the first and second measures in all frequencies. The comparison of basal and control DPOAE values revealed no significant decrease in Group 4 (Quercetin Hydrate and Cisplatin) in all frequencies. When comparing difference of the changes of DPOAE values, there were significant differences in 8000, 6000 Hz frequencies between Group 4 and Groups 1,3 respectively. The difference of the changes in Group 2 was statistically significantly decreased, especially in higher frequencies, when compared to

other group. Morphologically there were no acute changes in Group 1 and Group 3. Outer hair cell loss and the degeneration of stria vascularis and spiral ganglion were observed in both Groups 2 and 4, the damages in the latter were lesser.

Conclusions: Quercetin hydrate does not have negative effect on cochlea and partially protects against cisplatin-induced ototoxicity.

Key Words: cisplatin, ototoxicity, antioxidants, flavonoids, quercetin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sisplatin baş - boyun, testis, over, meme, akciğer gibi bölgelerin solid tümörlerinin tedavisinde sık kullanılan deoksiribonükleik asit (DNA) alkilleyici antineoplastik bir ajandır (1). Sisplatinin ototoksosite, nörotoksosite, nefrotoksosite, kemik iliği toksisitesi ve gastrointestinal toksisite gibi ciddi yan etkileri mevcuttur. Sisplatinin toksik potansiyeli klinik kullanımında sınırlamalar getirmektedir.

Özellikle nefrotoksosite ve ototoksosite en önemli doz kısıtlayıcı etkenlerdir. Nefrotoksosite hidrasyon ile kontrol altında tutulabilirken, geri dönüşümsüz olan ototoksosite hala sisplatin kemoterapisinde engel teşkil edici bir sebep olmaktadır. Sisplatin kullanımı ile her iki kulağı tutan, progresyon gösteren, geri dönüşümsüz ve özellikle yüksek frekansları etkileyen sensörinöral işitme kaybı oluşur. Koklear hasar ve dış tüylü hücrelerin (DTH) kaybı birçok kimyasal olayla ilişkilidir. Reaktif oksijen ve nitrojen cisimlerinin artışı, tüylü hücre membranında ciddi hasarlar oluştururlar (2).

Bu çalışmada, deneysel çalışmalarda antiinflamatuvar, antiallerjenik, antiviral ve antikarsinojenik özelliklerini ortaya konulan ve reaktif oksijen cisimlerinin etkilerini azaltan güçlü antioksidan etki gösteren bioflavonoid türevi kuersetin hidratın (3), hem iç kulak üzerine ototoksik tesirinin hem de sisplatin ototoksitesine karşı koruyucu etkisinin olup olmadığını deneysel olarak otoakustik emisyon testi ve histopatolojik yöntemle gösterilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İŞİTME SİSTEMİ

İşitme sistemi birbirinden bağımsız ve işbirliği içinde çalışan birçok özelleşmiş hücre ve yapıdan oluşur. Kulak, işitme ve denge fonksiyonlarının periferik organı olup, temporal kemik içerisine yerleşmiştir. Kendi içerisinde dış kulak, orta kulak ve iç kulak diye üç kısma ayrılır (4). Ototoksik ajanların hedef organları iç kulak yapıları olmasından dolayı, iç kulak ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

2.1.1. İç Kulak

İç kulağı morfolojik veya fonksiyonel olarak alt bölümlere ayırmak mümkündür. Morfolojik olarak kemik ve membranöz labirent olmak üzere ikiye ayrılır. Kemik labirent; vestibulum, kemik semisirküler kanallar, koklea, akuaduktus vestibüli ve akuaduktus kokleadan oluşur. Membranöz labirent ise kemik labirentin içinde aynı şekli alır ve kemik labirentin ancak 1/3'lük kısmını doldurur. Utrikulus, sakkulus, duktus semisirkularis, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis ve korti organı membranöz labirenti oluşturur (4,5).

İç kulağa fonksiyonel olarak bakıldığında iki kısımdan oluşur; işitmeye ilgili bölüm koklea iken dengeyle ilgili bölüm vestibüler sistemdir. Vestibüler sistem semisirküler kanallar ile vestibüle açılan utrikül ve sakkülden meydana gelir. Normal koşullarda bu sistem denge ile ilişkili olmakla beraber, ana sistemin bir parçası olarak işitme sisteminin end-organ patolojilerinden de etkilenebilirler.

2.1.2. Koklea ve İşitme

Koklea, iç kulağın ön kısmında bulunan, 2 ¾ defa kendi etrafında kıvrılan salyangoz biçimindeki kemik bir tüptür. Yuvarlak ve oval pencereler kokleanın orta kulağa açıldıkları kemik ve membranöz kapılardır ve stapes tabanı ve yuvarlak pencere membranı ile örtülüdürler. Kokleada membranöz koklea adı verilen ve işitsel reseptör organını (korti organı) barındıran bölme (skala media), kemik labirenti üç bölüme ayırır. Üstteki bölüme skala vestibüli, alttaki bölüme ise skala timpani adı verilir. Bu iki kanal kokleanın tepe noktasında helicotrema adı verilen bölgede birbiriyle bağlantıdadır. Oval pencerede oluşan titreşimler, vestibüler kanalda hareketlenmeye neden olur. Kokleanın geniş çaplı taban kıvrımlarındaki vestibüler kanalda ortaya çıkan sıvı titreşimleri önce perilenfte, ardından orta bölmede yer alan endolenfte mikroskobik düzeyde dalgalar oluşturur. Bu dalgalar baziller membranı titreştirerek, üzerinde bulunan bazal kısımdan apekse doğru uzanan DTH uzantılarının (stereosilya) tektoriyal membrana doğru hareketlenmesine neden olur. Bu alandaki mekanik enerji hücre içerisine elektriksel enerji olarak iletilir. Hücre içerisindeki elektriksel enerji nöral kodlara dönüştürülüp işitme sinirine intikal ettirilir. Bu dönüşümlerde asetilkolin kimyasal mediatör olarak başrolü oynamaktadır. Böylece işitme siniri aracılığıyla iletilen işitsel uyarılar, beyinde algılanacak hale gelir (4-6).

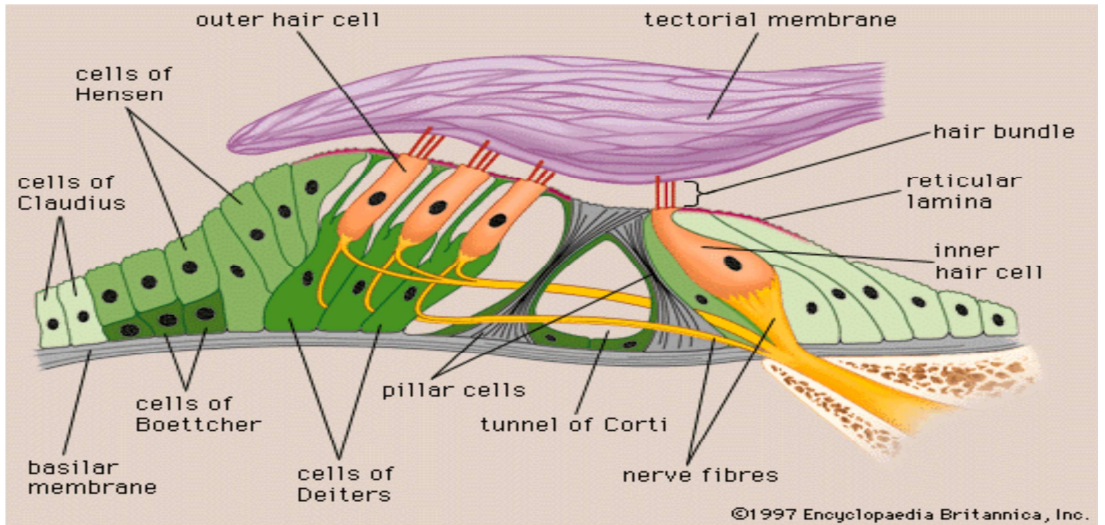
Özet olarak kulak zarının titreşimiyle kemikçik zincirin titreşmesi, kemikçik zincirin titreşiminin stapes ve oval pencerede oluşturduğu etki, vestibüler kanaldaki sıvıya basınç değişiklikleri şeklinde iletilir. Vestibüler kanaldaki basınç değişiklikleri, doğrudan reissner membrana aktarılır. Bu aşamada membranöz kokleadaki baziller membranın üstünde yer alan korti organı, basınç değişikliklerini sinirsel uyarıma dönüştürür ve uyarılar işitme siniri ve santral yollarla işitme korteksine iletilir.

2.1.3. Korti Organı ve Stria Vaskülaris

Korti organı baziller membran, üzerine dayanmış destek hücreleri, spiral şeklinde dizilmiş çeşitli sensöriyal hücreler ve bunların üzerini örten tektoriyal membrandan oluşur. Sensöriyal hücreler iç tüylü hücreler (İTH) ve DTH olmak üzere iki gruptur. Tüylü hücre sayıları toplamı 16.000 civarındadır ve bunların yaklaşık % 80'ini DTH'ler oluşturur (12.500 hücre). Sensöriyal hücreler, mekanik enerjiyi elektrik potansiyellerine

çevirirler. Bu aksiyon potansiyelleri beyin sapındaki akustik nükleuslara ve beyindeki akustik merkezlere iletilirler. Destek hücrelerinden Deiters hücreleri tüylü hücrelerin altında bulunurlar ve her bir tüylü hücreye bir Deiters hücresi düşer. Deiters hücresinin üst ucu çanak şeklinde bir yapı oluşturur ve buraya da tüylü hücrenin tabanı oturur. Deiters hücresinin gövdesi baziller membrana oturur. Bu yolla korti organına, beslenme ve destek için çok nazik bir hücresel destek sistemi sağlamış olur. Bunların yanı sıra Hensen, Claudius, Boettcher hücreleri gibi farklı destek hücreleri vardır. Bu hücrelerden özellikle Claudius hücresi baziller membranının dış tarafında endolenfle temas eder ve kübik küçük mikrovilluslu hücrelerden oluşur ve büyük moleküllerin geçisine izin vermez. Boettcher hücresi tek katlı küboid hücrelerden oluşur ve fibronektin üretmesi ve karbonik anhidraz içermesinden dolayı iyon ve sıvı transportunda etkili olduğu düşünülmektedir. Bu yapılardan farklı olarak korti organında, ayrıca pillar hücreleri, falangeal parmaksı hücreler ve tektoriyal membran bulunur (**Resim 1**) (4-6).

Koklear duktusun dış duvarında bulunan stria vaskularis, endolenfe komşu hücrelerdir ve çok vaskülarize bir yapıda olup elektriksel aktivite açısından çok önemlidir. Stria vaskulariste marjinal, intermediate, ve bazal hücreler şeklinde üç tip hücre tanımlanmıştır. Bunlar arasında marjinal hücreler stria vaskularisin esas fonksiyonel hücreleridir. Endolenfatik elektrik potansiyelini oluştururlar (6). Bu nedenle kokleanın temel metabolik kontrolünü sağlar. Stria vaskulariste harabiyet oluşturan etkiler doğal olarak korti organında da bozukluklara neden olurlar.



Şekil 1. Korti organı

2.2. OTOTOKSİSİTE

Ototoksisite genel tabirle, kullanılan kimyasal veya farmakoterapötik ajanlara bağlı olarak kokleada, koklear sinirde ve vestibüler sistemde yapısal hasar veya fonksiyonel kayıp oluşmasıdır (7). İç kulağın çeşitli kimyasal maddelere karşı duyarlılığı yüzyıllardan beri bilinmektedir. Günümüzde özellikle kanser ve enfeksiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar iç kulak dokularına karşı toksik etki gösterirler. Geçici ve kalıcı ototoksisiteye neden olan birçok ajan tarif edilmiştir. Bu toksik etkiler özellikle koklea ve vestibüler sistemle ilgili sorunlar oluştururlar. Kokleotoksisite problemleri açısından bakıldığında işitme kaybı, tinnitus, konuşmayı ayırt etmede - algılamada bozukluk, hiperakuzi ön plana çıkan problemlerdir. Vestibüler hasar ile ilgili sorunlarda vertigo, dizziness, dengesizlik hali ve bakışta fiksasyon bozuklukları ön plandadır (8,9).

Ototoksisitenin odyolojik karakterine bakacak olursak, genellikle bilateral sensörinöral işitme kaybı görülür. İşitme kaybı özellikle 8000 Hz üzerindeki frekanslarda başlar, zamanla konuşma seviyesindeki frekanslarda kayıp oluşur. Ototoksisite ilk dozdan hemen sonra başlayabilir. Kullanılan ilacın dozuna ve süresine bağlı olarak, işitme kaybı ve vestibüler kayıp kalıcı hale gelebilir. Bu nedenle hekimlerin ve hastanın ototoksisite bulgu ve semptomlarını erkenden tanıyıp ona göre monitörizasyon yapılması çok önemlidir (7).

2.2.1. Ototoksisitenin Tarihsel Süreci ve Ototoksisiteye Neden Olan Ajanlar

İlk olarak Scwabach, 19. yy. başlarında kinin ve salisilatların tinnitusa, işitme azlığına ve vestibüler bozukluğa yol açtığını bildirmiştir. 1940'ta Werner literatürü yeniden gözden geçirerek arsenil, etil alkol, metil alkol, nikotin, bakteriyel toksin ve ağır metal bileşikleri gibi değişik ajanların ototoksik etkisini tanımlamıştır. Antibiyotik ve tüberküloza karşı ilk etkin kemoterapötik ajan streptomisin'in bulunmasından sonra bu ajanın ototoksik etkisi 1946 yılında bildirilmiştir. Sonrasında streptomisin gibi klinik kullanıma giren diğer aminoglikozidlerin de streptomisin gibi ototoksik potansiyeli olduğu ortaya konulmuştur. 1982'de aminoglikozidlerden farklı bir mekanizmayla iç kulak hasarı oluşturan loop diüretiklerin ototoksik potansiyelleri gösterilmiştir (10). Sisplatinin ototoksik potansiyeli ise ilk kez 1974 yılında Piel ve ark. tarafından rapor edilmiştir (10,11). Tablo 1'de ototoksisiteye neden olan ajanlar özetlenmiştir.

Tablo 1. Ototoksisiteye neden olan ajanlar

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

2.2.2. Ototoksisite Mekanizması

İç kulak toksisitesi bir çok nedene bağlı olarak gelişebilir. Yaşlanma, şiddetli ya da uzamış akustik travmaya maruz kalma ve ototoksik ajanların kullanılması koklear hücrelerde harabiyet oluşturabilir. Hücresel planda nekroz ve apoptoz mekanizmaları diğer birçok organ hasarında rol aldığı gibi koklear ve vestibüler harabiyette de önemli yer alır.

Nekroz pasif bir olay olup, aşırı stres maruziyetinde ortaya çıkar. Örneğin akustik travma durumunda koklear nekroz görülebilir. Nekrozun karakteristik bulguları arasında sitoplazmanın yaygın vakuolizasyonu, mitokondrinin şişmesi, endoplazmik retikulumun dilatasyonu ve nihayetinde plazma membranının rüptürü görülür. Hücre içeriğinin

dağılmasıyla da komşu hücrelerde harabiyet gelişir ve hücre gruplarında ölüm gözlenir (12,13). Apoptoz ise ototoksisteyi oluşturan temel mekanizmadır ve yaşlanma, gürültü, ilaç maruziyeti ve radyasyon gibi etkiler sonrası indüklenebilir (14,15). Apoptoz, nekrozun aksine aktif bir olaydır ve morfolojik olarak nükleer ve sitoplazmik yoğunlaşma, intranükleozomal DNA'ların ayrışması ve hücrelerin fagositik cisimlere dönüştürülüp fagositler tarafından yutulması süreçleriyle son bulur. Nekrozun aksine apoptozda hücre içi materyallerin salınması söz konusu değildir (16). Apoptozu oluşturan 4 ana moleküler grup mevcuttur. Bunlar kaspazlar, adaptör proteinler, tümör nekrozis faktör reseptör (TNF-R) süper ailesi ve B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ailesi proteinleridir.

Apoptotik süreci başlatan 2 ana yol mevcuttur. Ekstrinsik (ekstraselüler) yol, hücre membranındaki TNF-R ailesine ait reseptörlerin aktive olması ve adaptör proteinler yardımıyla pro-kaspaz proteinlerini uyarmasıyla oluşur. İntrinsik (intraselüler) yol ise mitokondriyal yol olarak da bilinir. Dış stimulusların (iyonize radyasyon, kemoterapötik ajanlar) asıl olarak uyardığı yoldur (17). Bu yolda önemli olan moleküller Bcl-2 ailesine ait proteinlerdir ve sitokrom c salınımının yanı sıra mitokondriyal permeabiliteyi etkileyerek dolayısıyla transmembran potansiyeli değiştirerek kaspazları uyarır ve apoptotik süreci başlatırlar (18).

2.2.3. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Ürünleri

Serbest radikaller apoptozda çok önemli bir yere sahiptir ve oksijen ya da nitrojen kaynaklı olabilirler. Fizyolojik ve patolojik reaksiyonlar sonucu oluşabilirler ve dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron, bileşiklere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik yapıya zarar vermelerine neden olmaktadır (19).

Reaktif oksijen ürünleri (ROÜ), serbest radikallerin oluşmasını sağlayan temel biyolojik kaynaktır ve bu cisimler normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (20). Oksijen, yaşam için çok önemli bir moleküldür ve normal metabolizma sırasında %2-3'lük oranda vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahip reaktif oksijen türleri oluşur (21-23). Normalde vücut

içerisinde serbest radikallerin oluşma hızı ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur.

Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, yaşlanma, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları gibi birçok etken oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; tekli oksijen, süperoksit anyonu, hidroksi, peroksi ve alkoksi radikalleridir (Tablo 2) (24). Bu radikaller hücre hasarı yaparak birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynarlar (25).

Tablo 2. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri

Biyolojik Önemi Olan Reaktif Ürünler		
	Serbest Radikaller	Non Radikaller
Reaktif oksijen ürünleri (ROÜ)	Süperoksit (O_2)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
	Hidroksil (OH)	Hidroklorous asit (HOCl)
	Peroksil (RO_2)	Ozon, (O_3)
	Alkoksil (RO)	Singlet oksijen (1O_2)
	Hidroperoksil (HO_2)	
Reaktif nitrojen ürünleri (RNÜ)	Nitrik Oksit (NO)	Nitrozil, (NO)
	Nitrojen Dioksit (NO_2)	Nitroz Oksit (HNO_2)
		Nitrojen Oksit (N_2O_3)
		Peroksinitrit, (OONO)
	Alkilperoksinitrit, (ROONO)	

2.3. OTOTOKSİSİTENİN TANISI VE İZLEMİ

Odyolojik tetkikler ototoksitenin tanı ve takibinde kullanılırlar. Başlangıçta özellikle yüksek frekanslarda sensörinöral işitme kaybı gözlenirken, ilerlemiş olgularda düşük frekanslarda da işitme kaybı görülür. Ototoksiste tayini ve takibinde en sık kullandığımız testler şunlardır:

- Saf ses odyometrisi
- Yüksek frekans odyometrisi
- İşitsel uyarılmış potansiyeller

- Uyarılmış otoakustik emisyon
 - I) Transient otoakustik emisyon (TOAE)
 - II) Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE)

2.3.1. Saf Ses Odyometrisi

Temel bir odyolojik değerlendirme yöntemi olan saf ses odyometrisi, ototoksisite monitörizasyonunun önemli bir basamağıdır. Saf ses odyometrisi ile hastanın konuşma frekanslarındaki işitmesi, konuşmayı algılama skoru ve işitmenin havayolu iletimi ile ilgili komponenti hakkında bilgi edinilebilir. Amerikan Konuşma Dil ve İşitme Birliği'nin (ASHA) yayınladığı kriterlere göre, saf ses odyometrisinde; 1) herhangi bir frekansta 20 dB veya üzeri düşüş, 2) komşu iki frekansta 10 dB veya üzeri düşüş ve 3) 3 ardışık frekansta önceki ölçüme göre düşüş saptanması ototoksisite için anlamlıdır (26).

2.3.2. Yüksek Frekans Odyometri

Yüksek frekans odyometrisinde 8000 Hz ve üzerindeki frekanslardaki işitme değerlendirilir. Birçok ototoksik ilaç ilk olarak kokleanın bazal dönüşünü etkilediği için, bu yöntemle, konvansiyonel odyometriye yansımayan yüksek frekanstaki işitme kayıplarının erken tespiti mümkündür (27).

2.3.3. Beyin Sapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller

Klik tarzındaki ses stimuluslarına karşı işitme yollarında meydana gelen elektriksel aktivitenin baş bölgesine konulan elektrodlar yardımıyla objektif ve non-invaziv olarak kaydedilmesidir. Koopere olmayan veya cevap veremeyecek durumda olan hastaların işitmelerinin değerlendirilmesinde, 8. sinir ve beyin sapı lezyonlarının tespitinde faydalıdır (27).

2.3.4. Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

1948 yılında Gold tarafından ilk kez kokleada aktif bir enerjinin varlığı bazal membran hareketlerine dayanılarak öne sürülse de, David Kemp (28) 1974 yılında otoakustik emisyonları kaydederek bu görüşü kanıtlamıştır. Esas olarak DTH'lerin titreşimi otoakustik emisyonları oluşturmakta olup, emisyonlar kokleaya geliş yönünün tersi istikametinden kaydedilirler.

Tektoriyal membranın titreşimi DTH'in prestin adı verilen bir molekülünün oluşturduğu enerjiyle meydana gelir. Tektoriyal membrandaki titreşimler korti organında vibrasyonu

artırır ve koklea içerisinde pozitif bir ses kaynağı oluşumunu indükler. Buna koklear amplifikasyon denir. Bu nedenle ototoksistide OAE'deki azalma ya da alınmama genel olarak kokleanın motor fonksiyonunu sağlayan DTH hasarına bağlı olarak ortaya çıkar (29-31).

Otoakustik emisyonların sınıflandırılması dışarıdan verilen uyarana göre yapılır. Herhangi bir uyarı olmaksızın dış kulak yolundan (DKY) kayıt edilen emisyonlara spontan otoakustik emisyon (SOAE) denir. Dışarıdan stimülüs verilerek kayıt edilen emisyonlara uyarılmış otoakustik emisyonlar (EOAEs) denir. Uyarılmış otoakustik emisyonlar uyarının tipine göre ikiye ayrılır. Kısa süreli akustik stimuluslardan sonra kayıt edilen emisyonlara geçici uyarılmış akustik emisyonlar (TEOAE) denirken, iki farklı saf ses ile elde edilen emisyonlar distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE) olarak adlandırılırlar. DPOAE'ların alınabilmesi için iki minyatür hoparlör ve bir minyatür mikrofon kullanılır. Farklı şiddette ve frekansta iki saf ses uyarının (f1 ve f2) eş zamanlı olarak verilmesiyle birlikte kokleada iki farklı ilerleyen dalga oluşur. Bu dalgaların üst üste bindiği koklea bölgelerinde ortaya çıkan emisyonlar DPOAE'leri oluşturur. Sağlıklı koklea, iki farklı stimülasyon ile intermodülasyon ürünleri olarak isimlendiren ek frekansları ortaya çıkararak çok farklı distorsiyon ürünlerine neden olmaktadır. Ortaya çıkan bu emisyonlar matematiksel olarak ilişkilidir ve en belirgin emisyonlar $2f_1 - f_2$ frekansında ortaya çıkar. f_1 ve f_2 frekanslarının şiddetleri sırasıyla L1 ve L2 olarak gösterilir. En iyi kayıt L2'nin L1'den yaklaşık 10 dB daha düşük olduğu şiddetlerde elde edilmektedir. Önerilen şiddet L1 için 65 dB SPL iken L2 için 55 dB SPL'dir. Saf ses seviyesi sabitken $2f_1 - f_2$ formülüne uygun geometrik ortalamalarda farklı frekanslardaki lokalizasyonları ile 0.5 - 8 kHz aralığındaki geniş bir alanda DPOAE'ler elde edilir(29,31,32).

OAE kaydı yapılırken aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir.

- Sağlıklı bir orta kulak yapısı ve dış kulak yapısı önemlidir. Efüzyonlu otitler, otoskleroz, ventilasyon tüpü, DKY'nin dar olması ve buşon olması gibi durumlarda alınan emisyon cevapları etkilenir. Bu bazen cevabın hiç olmaması şeklinde olabileceği gibi amplitüdün değişmesi şeklinde de olabilir. Bu nedenle test yapılmadan önce ayrıntılı kulak muayenesi yapılmalıdır.

- DTH hasarı ve bağlantılı olarak korti organı bozukluklarında OAE elde edilemez. Ayrıca stria vaskularisin etkilendiği durumlarda DTH'lerin beslenmesi bozulacağından dolayı da OAE'lar bozular.
- DPOAE'larda özellikle 3000 kHz üzerindeki frekanslarda iyi yanıtlar alınırken TEOAE'da 1000 kHz altındaki frekanslarda daha iyi yanıtlar alınır. Özellikle ototoksisite tayininde yüksek frekanslardaki ölçümler daha fazla önem taşır (33).

2.4. SİSPLATİN

2.4.1. Sisplatinin Tarihçesi

Sisplatin ilk kez 1845 yılında Peyrone tarafından sentez edilmiştir. 1965 yılında elektriksel alanın bakteriyel büyüme etkisininin araştırıldığı deneysel çalışmada, E-coli bakterisinin hücre bölünmesinin inhibe olmasına rağmen hücre büyümesinin önemli derecede etkilenmediği ortaya çıkmıştır (34). Daha sonra yapılan çalışmalarda elektriksel alanın ortaya çıkardığı bu sitotoksik etkinin içeriğinde bulundurduğu platin ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (35). Antitümoral etkisi bulunan bu ajanla ilgili ilk klinik çalışma 1972 yılında Rossof ve arkadaşları tarafından yayınlandı (36). Sisplatinden farklı platin türevleri (karboplatin ve oksaliplatin) şu an klinik kullanımda yerini almasına rağmen sisplatin hala en faydalı ve en çok kullanılan platin bileşiğidir (37).

2.4.2. Sisplatinin Antitümöral Etkisi

Sisplatinin antitümöral etki mekanizması, sisplatinin kanser hücreleri tarafından alınıp kanser hücrelerinin sulu bileşiğine katılmasıyla başlar. Bu şekilde hedef hücreler için daha reaktif hale gelen sisplatin tümör DNA'sı pürin bazıyla N7 segmentinde kovalent bağ oluşturur. Ardından hücresel sinyal yolları uyarılarak DNA hasarı meydana gelir. Bu yol apoptozisi indüklerken, yüksek doz sisplatin kullanımıyla direkt olarak nekroz meydana gelebilir (38).

2.4.3. Sisplatinin Klinik Kullanımı ve Yan Etkileri

Sisplatin, çocukluk yaş grubu tümörleri dahil olmak üzere bütün yaş gruplarında kullanılabilen antineoplastik bir ajandır. Baş - boyun bölgesi skuamöz hücreli karsinomu, testiküler kanser, over karsinomu, mesane kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri gibi yumuşak doku kanserlerinde kullanılan potent bir kemoterapötik ajandır (1,39). Çocukluk yaş grubunda nöroblastoma, hepatoblastoma, kranial tümörler

ve osteosarkom; sisplatinin sıkça kullanıldığı malignitelere (40). Sisplatin yan etkilerine baktığımızda başlıca aşağıdaki yan etkiler ön plana çıkmaktadır.

Nefrotoksisite: Sisplatin kullanımı sonrası, biyokimyasal olarak artmış kreatinin seviyesi, azalmış klirens ve elektrolit dengesizliği nefrotoksisiteyi gösterir. Akut böbrek yetmezliği ya da elektrolit kaybının eşlik ettiği kronik hastalık şeklinde olabilir (41,42). Sisplatin nefrotoksisitesinde, sodyum klorür emiliminin en aktif olarak yapıldığı proksimal tübül bölgesi etkilenir (43). Nefrotoksisite bugün için hidrasyon ve diürez ile doz kısıtlayıcı bir yan etki olmaktan çıkmıştır.

Gastrointestinal toksisite: Gastrointestinal yan etkiler arasında bulantı, kusma, anoreksi başlıca yakınma nedenleridir. Serotonin reseptör antagonistlerinin sisplatin rejimine eklenmesiyle gastrointestinal yakınmalar minimize edilmiştir (44).

Nörotoksisite: Sisplatin kullanımının geri dönüşümsüz yan etkilerinden biridir ve doz kısıtlaması gerektirir. Daha çok distal duysal nöropati oluşturur. Kabaca doz miktarıyla nörotoksisitenin derecesi paralellik gösterir. Bilinen etkin bir tedavisi yoktur (45,46).

2.4.4. Sisplatin Farmakokinetiği

Vücut içerisinde sisplatinin iki formu bulunur. Proteinlere geri dönüşümsüz olarak bağlanan formu biyolojik olarak inaktiftir. İkinci formu ise serbest formdur ve biyolojik olarak aktiftir (47,48). Serbest formu membranlardan geçerek hedef reseptörlerle etkileşir. Matsumoto (49), intravenöz injeksiyon sonrası sisplatinin başlangıç pik konsantrasyonunu 3-5 µg/ml olarak ölçmüştür. Sisplatin yıkılımı ise 3 fazda gerçekleşir. Başlangıç fazı plazma yarı ömrü (t_{1/2}) 20 – 30 dakikadır. 2. fazda plazma yarı ömrü 60 dk olurken, 3. fazda yarılanma ömrü 24 saati geçerken, üriner yolla vücuttan atılırlar (50). Laurel ve ark. (51) Guinea piglerinde yaptığı çalışmada sisplatinin perilenfte en yüksek konsantrasyonuna, infüzyondan 20 dk sonra ulaştığını, tepe konsantrasyonunun 4µg/ml ve perilenf/plazma oranınının 0.40 olduğunu bildirmişlerdir.

2.4.5. Sisplatin Ototoksisitesi

Sisplatin bilinen en ototoksik ilaçlardan biri olup, kullanımı sonrası genellikle tinnitus şikâyetiyle başlayan, yüksek frekansları tutan ve zamanla konuşma frekanslarını içine alacak şekilde düşük frekanslara doğru yayılan işitme kaybı gelişir (39,52).

Sisplatin ototoksitesindeki temel mekanizmada reaktif oksijen ürünleri (ROÜ) önemli yer tutar (53). Hayvan modellerinde sisplatin uygulanması sonrası kokleada glutatyon ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzim miktarlarında azalma görülürken oksidatif stresi gösteren malondialdehit miktarında artış gözlenmiştir (2).

Sisplatin kullanımı sonrası oluşan süperoksit radikalleri hidrojen peroksiti Fe atomu (Fenton reaksiyonu) yardımıyla daha reaktif hidroksil radikallerine dönüştürebilir. Hidroksil radikalleri lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre membranlarında hasar oluşturur. Bu membran hasarları da doğal olarak tüylü hücre kayıplarına neden olur (54). Reaktif oksijen cisimleri hücre içi sinyal yollarını uyararak da ototoksiteye neden olabilir. Bu yolda özellikle sitozolik Bax, mitokondrial sitokrom c ve kaspazlar önemli rol oynar (55,56).

2.4.6 Sisplatin Ototoksitesindeki Hedef Organlar

Korti organı, stria vaskularis ve spiral ganglion hücreleri sisplatin maruziyeti sonrası en çok etkilenen organlardır. Akut veya kronik sisplatin kullanımı sonrası stria vaskulariste hasar oluşabilir. Morfolojik olarak stria vaskularis hasarında, ödem, scala mediaya doğru bombeleşme, marjinal hücrelerin rüptürü ya da kompresyonu ve sitoplazmik organellerde azalma görülebilir (57).

Korti organı hasarı 3 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada destek hücrelerinde (Hensen ve Deiters hücreleri) ödem meydana gelir. İkinci aşamada DTH'inde dejenerasyon görülür. Özellikle stereosilya kaybı ve intraselüler vakuolizasyon ön plandadır. Bu aşamada İTH'lerin tabanında vakuolleşmede görülebilir. Son aşamada ise bütün korti organının dejenerasyonu ve Reissner membranının kollapsı görülür (58). Spiral gangliondaki değişiklikler tip 1 spiral gangliyon hücrelerinin myelin tabakasının ayrışması şeklinde gözlenir (59).

2.4.7. Sisplatin Ototoksitesine Karşı Koruyucu Ajanlar

Sisplatin ototoksitesini önleyebilmek için birçok ajan kullanılmıştır. Bu ajanlar sistemik veya lokal olarak kullanılabilirler ve farklı etki mekanizmasıyla sisplatin ototoksitesine karşı koruma sağlayabilirler. Bununla beraber, sisplatinin antitümoral etkisini etkileyebileceğinden dolayı hali hazırda insanlarda, Amerikan Gıda ve İlaç

Dairesi (FDA) onayı almış terapötik ajan bulunmamaktadır. Tablo 3 de değişik hayvan modellerinde, sisplatin ototoksitesine karşı kullanılmış ajanlar gösterilmiştir.

Tablo 3. Kobaylarda sisplatin ototoksitesinde kullanılmış ajanlar (Rybak ve Witworth'un "Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention" adlı yazısından uyarlanmıştır (39).)

Ajan	Mekanizma	Uygulanma Şekli	Tür	Koruyucu Etkisi
Tiyosülfat (60)	Şelatör	Koklear perfüzyon	Guinea Pig	+++
Tiyosülfat (61)	Şelatör	Yuvarlak pencere	Guinea Pig	0
Amifostin (62)	Şelatör	i.p	Hamster	+++
Glutasyon Ester (63)	Antioksidan	i.p	Rat	+
Dietilditiyokarbamat (2)	Şelatör	i.p	Rat	++
Methyltiyobenzoik asid (2)	Şelatör	i.p	Rat	++
Ebselen (2)	Antioksidan	i.p	Rat	+++
Ebselen & Allopurinol (64)	Antioksidan	p.o	Rat	++
Salisilat (65)	Antioksidan	s.c.	Rat	++
Salisilat (66)	Antioksidan	s.c.	Rat	+++
Tokoferol (67)	Antioksidan	i.p	Rat	++
Tokoferol (68)	Antioksidan	i.p	Guinea Pig	++
Trolox (69)	Antioksidan	Yuvarlak pencere	Guinea Pig	++
Tokoferol + tiyopronin (70)	Şelatör + antioksidan	i.p	Guinea Pig	++
Tiyopronin (71)	Şelatör	i.p	Rat	++
Aminoguanidin (72)	iNOS inhibisyonu	i.p	Rat	++
R-PIA (73)	Antioksidan konstrasyonunu yükseltme	Yuvarlak pencere	Çinçilya	++
CCPA (73)	Adenozin reseptör düzenleyicisi	Yuvarlak pencere	Çinçilya	++
Z-DEVD-fluometri keton (kaspaz-3 inhibitörü) (55)	Apoptozu engelleme	Koklear perfüzyon	Guinea Pig	+++
Z- LEKD-fluometri keton (kaspaz-9 inhibitörü) (55)	Apoptozu engelleme	Koklear perfüzyon	Guinea Pig	+++
Pifitrin (74)	Apoptozu engelleme	in vitro		++
D-JNK1 1 (55)	Apoptozu engelleme	Koklear perfüzyon	Guinea Pig	0
M40403 (75)	Apoptozu engelleme	in vitro		0
D-methionin (76)	Antioksidan enzim azalmasını engelleme	i.p	Rat	+++

2.5. BİOFLAVONOİDLER

Flavonoidler, bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunan yararlı biyokimyasal ve antioksidan etkileri olan bileşiklerdir. 15 C atomlu 2 fenilbenzopiron (difenil propan) yapısı gösterirler. Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşikler olarak adlandırılırlar. Yapısal olarak genellikle C6-C3-C6 karbon iskeleti ve A, B, C halkaları vardır. Flavonoidler moleküler yapılarına göre başlıca antosiyoninler, flavonlar, flavonoller, flavonlar, flavonoller ve isoflavonoidler şeklinde sınıflandırılır. Yaklaşık olarak 4000'den fazla flavonoid türü belirlenmiştir (77,78) Flavonoidler başlıca sebzeler, meyveler, çay, soğan baklagillerde bulunur ve çoğu çiçeklerin, meyvelerin rengini verir.

Flavonoidlerle ilk kez 1930'lu yıllarda ilgilenilmeye başlanmış, 1960'lı yıllarda ise gıda koruyucu olarak kullanılmışlardır. Flavonoidlerin en önemli etkilerinden birisi serbest radikalleri temizleme özellikleridir. Hemen her flavonoid grubunun en iyi tanımlanmış özelliği antioksidan kapasiteleridir. Serbest radikallerin üretim artışı bu endojen temizleyici bileşiklerin (süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimler) kullanılıp azalmasına yol açar. Flavonoidler, endojen temizleyici bileşikler benzeri etki oluşturarak endojen antioksidan savunma sistemlerini desteklerler (3,77,78).

2.5.1. Kuersetin ve Türevi Ajanların Genel Özellikleri

Çalışmamızda kullandığımız kuersetin hidrat, esas maddesi kuersetin sayesinde biyolojik etkilerini gösterir. Kuersetin, en iyi tanımlanmış flavonoidlerden biri olup (3,5,7,3',4' pentahidroksiflavon) sebze ve meyvelerde bulunan bir bileşiktir. Başlıca elma, soğan, brokoli, çilekçiller, yeşil bezelye ve çayda bulunur. Flavonoidler ve kuersetin gıdalarda genellikle glikozid şeklinde bulunan büyük moleküllü yapılardır. Bu özelliklerinden dolayı barsaklarda emilmeleri zordur. Gastrointestinal sistemde serbest fenolik kısım ayrılır. Çünkü bunların bağırsaktan emilebilmesi için küçük molekül ağırlıklı formlara dönüşmeleri gerekir. Bağırsaklarda bulunan mikroorganizmalar, flavonoid glikozitlerinin çözülmesini gerçekleştirirler. Yaklaşık %1'i bozulmadan, büyük bir kısmı ise çeşitli hidroksiaromatik asitlere dönüştürülerek böbreklerden atılır (77,79,80) Kuersetinin distribüsyon yarı ömrünün 3.8 saat, eliminasyon yarı ömrünün 16.8 saat olduğu bildirilmiştir (3)

2.5.2. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

Kuersetinin diğer flavonoidlere göre antioksidan etkinliği oldukça güçlüdür. Flavonoidlerin serbest radikalleri temizleme ve antioksidan özellikleri, yapılarında bulunan üç gruptan ileri gelmektedir (81). Bu yapısal gruplar şunlardır; A halkasındaki 3 ve 5 hidroksil grupları, B halkasındaki o-dihidroksi (katesol) grubu, C halkasındaki karbonil grubunun 4-okzo grubu ile 2, 3 çift bağın konjugasyonu. Özellikle B halkasındaki hidroksilasyon, antioksidan aktiviteye katkıda bulunur. Tüm flavonoidler 3'-4' dihidroksi konfigürasyonu ile antioksidan aktiviteye sahiptir.

Polifenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri molekül içerisindeki hidroksil grubu sayısına bağlıdır. Flavonoidlerin elektron verici özellikleri yoğun bir şekilde araştırılmış ve antioksidan özelliklerinin açıklanmasında kullanılmıştır (79,82). Kuersetin yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve hücrede serbest radikalleri aşağıda belirtilen yollarla temizleyebilir.

a) Süperoksit ve hidroksil radikallerinin temizlenmesi: Bu etkilerini metal iyonlarının şelasyonu aracılığıyla gerçekleştirirler (3,78,83-85).

b) Nitrik oksit (NO), süperoksit radikali ile etkileşmesi sonucu peroksinitrit meydana gelir. Kuersetin, süperoksit radikalini temizleyerek peroksinitrit radikalini üretimini baskılayabilir. NO moleküllerinin flavonoidler tarafından direkt olarak temizlendikleri de bildirilmiş olmasına rağmen bunun tam aksi olarak endotelial NO seviyesini artırıp ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin olduğuna dair yayınlar da mevcuttur (86,87).

c) Lipid peroksil radikali ile reaksiyona girerek zincir kırıcı bir etki ile lipid peroksidasyon inhibisyonunu yaparlar. Kuersetin, lipid peroksil radikali ile reaksiyona girerek onu indirgerken kendisi daha kararlı bir radikal yapıya dönüşür (3,78,79).

d) Kuersetin lipofilik bir antioksidandır ve lipid tabakalarının arasına yerleşerek lipid hasarını önleyici etkiye sahiptir (3).

Flavonoidlerin serbest radikalleri temizleme özelliklerine ilave olarak antiinflamatuvar, antiviral, antialerjik, antitrombotik, antiaterosklerotik, antitümoral etkileri içeren çeşitli biyolojik özellikleri de vardır (3,78,79,82,88). Flavonoidler, fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu, lökosit adhezyonun ve

aktivasyonunun azaltılması, mast hücresi degranülasyonunun inhibisyonu gibi etkileriyle antiinflamatuvar özellik gösterirler (3,78).

Flavonoidler ve özellikle kuersetin, karsinogenlerin biyoaktivasyon sürecini inhibe ederek ve LDL oksidasyonunun engellenmesi yoluyla antikarsinogenik ve antiaterosklerotik etkilidirler (3,78,79,81,89). Flavonoidlerin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir ve flavonoid alımının mortalite ile ters ilişkili olduğu bulunmuştur (3). Radikal aracılı hasar sonucu oluşması muhtemel pek çok hastalıktan korunmada flavonoidlerin etkin bir rol oynayabilecekleri düşünülebilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından TSU-12- 4120 proje kodu ile desteklenmiş ve 12/78 no'lu etik kurul onayı alındıktan sonra Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi laboratuvarında yürütülmüştür.

Çalışmada ortalama 222 g (190-269 g) ağırlığında olan, eşit şartlarda ve standart diyetle yetiştirilmiş 32 adet erişkin, dişi Wistar Albino cinsi rat kullanılmıştır. Ratlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21C° ±1 sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri bir ortamda barındırılmıştır. Deneklere uygulanan tüm girişimler Helsinki deklarasyonu ve uluslararası hayvan araştırmaları ilkeleri rehberine uygun olarak yapılmıştır.

Toplam 32 ratın 64 kulağı çalışmaya alındı. Çalışma öncesinde bütün deneklere otomikroskopik bakı (Opmi 1, Zeiss, Germany) yapılarak DKY ve kulak zarları değerlendirildi. Hiperemi, ödem, enfeksiyon gibi herhangi bir DKY patolojisi olan, kulak zarı matlaşması, hiperemisi gibi orta kulak patolojisi göstergesi taşıyan hayvanlar çalışma dışı bırakıldı. Takip sırasında ölen ratlar çalışma dışı bırakılarak yeni ratlar grup sayısını tamamlamak için çalışmaya dahil edildi Çalışmaya alınan deneklerin hiçbirinde otitis media bulguları gözlenmedi.

Çalışmanın başında tüm ratların her iki kulağına DPOAE testi uygulandı. İşlemler öncesi DPOAE testine yanıt alınamayan ratlar çalışma dışı bırakıldı. Tüm ölçümler tamamlandıktan sonra, ratlar derin anesteziye alınarak dekapitasyon yapıldı ve temporal kemikler histolojik değerlendirme için formol içinde tespit edildi.

3.1. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI

Çalışmada her biri 8 rattan oluőmak üzere toplam 4 grup oluőturuldu. Çalışma grupları aşağıdaki gibi belirlendi:

1. Kontrol Grubu (n=8): Bu gruba 3 gün süre ile i.p. olarak 1,5 ml serum fizyolojik (SF) uygulandı.

2. Sisplatin Grubu (n=8): Bu gruba tek doz 16 mg/kg sisplatin (Faulding Pharmaceuticals, Warwickshire, UK) i.p. olarak verildi.

3. Kuersetin Hidrat Grubu (n=8): Bu gruba 3 gün süre ile 50 mg/kg kuersetin hidrat (Sigma Aldrich, Germany) serum fizyolojikte hazırlanarak i.p. olarak verildi.

4. Kuersetin Hidrat + Sisplatin Grubu (n=8): Bu gruba sisplatin öncesi 2 gün süre ile 50 mg/kg kuersetin hidrat + 3.günde tek doz 16 mg/kg sisplatin ve 50 mg/kg kuersetin hidrat + 4. ve 5. günlerde 50 mg/kg kuersetin hidrat i.p. olarak verildi (**Resim 1**).



Resim 1. Çalışmada kullanılan ajanlar

3.2. ANESTEZİ UYGULAMASI

Tüm ratlara intramuskuler ketamin hidroklorür 50 mg/kg (Ketalar flk, Pfizer İlaç) ve ksilazin 5 mg/kg (Rompun %2, Bayer İlaç) intraperitoneal yolla verilerek anestezi sağlandıktan sonra uygulamalar yapıldı (**Resim 2**).



Resim 2. Anestezi enjeksiyonlarının yapılması

3.3. DPOAE TESTİ UYGULANMASI

Bu çalışmada emisyonların incelenmesi için DPOAE kullanılmıştır. İlk 3 gruba çalışma başlangıcında ve ilk ölçümden 3 gün sonra tüm kobayların her iki kulağına DPOAE testi uygulandı. Son gruba ise çalışma başlangıcında ve ilk ölçümden 5 gün sonra DPOAE testi uygulandı (**Resim3**). Testin değerlendirilmesinde desibel cinsinden alınan distorsiyon ürünü emisyon değerinden ortam gürültüsünün çıkarılması ile elde edilen sinyal gürültü oranı kullanıldı. DPOAE ölçümü Madsen (Capella / Danimarka) otoakustik emisyon ölçüm cihazı ile yenidoğan probu kullanılarak yapıldı (**Resim 4**). f2 ve f1 frekansları arasındaki oran ($f2/f1$) 1.22 olacak şekilde tutuldu. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL ($L1 = 65$ dB SPL, $L2 = 55$ dB SPL) düzeyinde tutuldu. DPOAE'lar, $2f1-f2$ frekansında ölçüldü. DPOAE, f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz'deki sinyal-gürültü oranları (SNR) kaydedildi.



Resim 3. Çalışmada kullanılan otomikroskopi ve OAE ölçüm düzeneği



Resim 4. Probun rat kulağına yerleştirilmesi

3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Alınan temporal kemikler 15 gün %4'lük formaldehit solüsyonu içinde tutularak tespit edildi. Daha sonra %10'luk formik asit solüsyonu içinde 15 gün boyunca dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon işleminden sonra rutin histolojik doku takip aşamalarında geçirilen dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5µm'lik kesitlere histopatolojik inceleme için Hematoksilen&Eozin ile boyama yapıldı.

3.5. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için SPSS for Windows 16.0 programı kullanıldı. Çalışmanın başında her 4 gruba alınan ratların DPOAE değerleri açısından rastgele örnekler olup olmadığı Kruskal-Wallis yöntemi ile test edildi. Ayrıca, yine çalışmanın başında ratların DPOAE değerleri açısından sağ ve sol kulaklar arasında anlamlı fark olup olmadığı da bu yöntemle analiz edildi. Başlangıçtaki ve sonraki DPOAE değerleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığını test etmek için her bir grup ve frekans düzeyi için ayrı ayrı Paired t-testi (Wilcoxon signed rank testi) uygulandı. Yine her grubun ilk ve ikinci ölçümleri arasındaki değişim farkları da gruplar arasında ANOVA testi ile karşılaştırıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

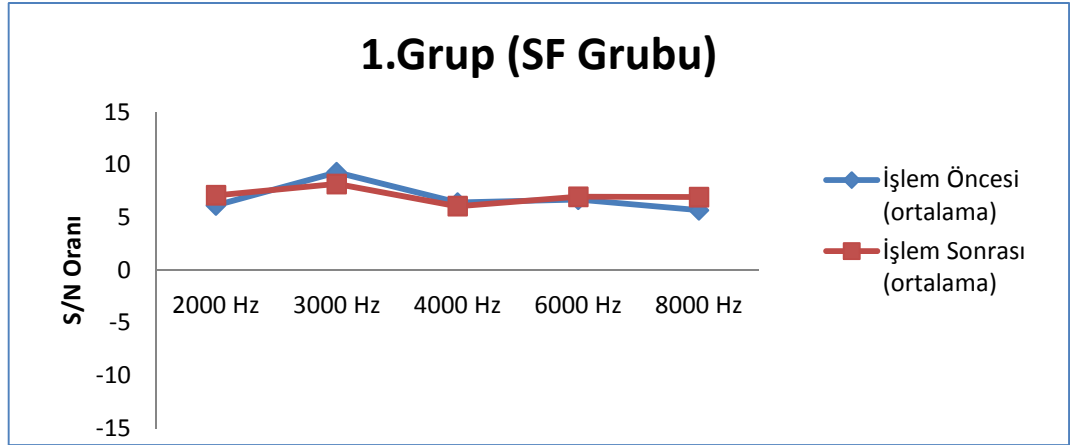
4.1. DPOAE CEVAPLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

İstatiksel analize öncelikle ortalama değeri ve ortalama değerlerinin standart hata ortalamaları bulunarak başlandı. Çalışma öncesi bütün grupların ortalama değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Aynı şekilde deneklerin sağ kulakları ve sol kulakları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). 1500 Hz'deki bazal ölçüm değerleri her grup için hem amplitüd hem de SNR değerleri açısından düşük olduğundan çalışmaya alınmadı.

1. Grup (Kontrol Grubu): SF uygulanan bu grupta tüm frekanslarda DPOAE sonuçları açısından ilaç uygulaması öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 4 ve Şekil 2).

Tablo 4. 1. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri

Frekans	İşlem Öncesi (ortalama± Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası (ortalama± Std. Hata ort.)	P
2000 Hz	6,138±0,831	7,087± 0,769	>0.05
3000 Hz	9,275±1,258	8,163±0,458	>0.05
4000 Hz	6,406±1,582	6,056±1,223	>0.05
6000 Hz	6,681±0,928	6,956±0,956	>0.05
8000 Hz	5,688± 0,841	6,919±0,923	>0.05

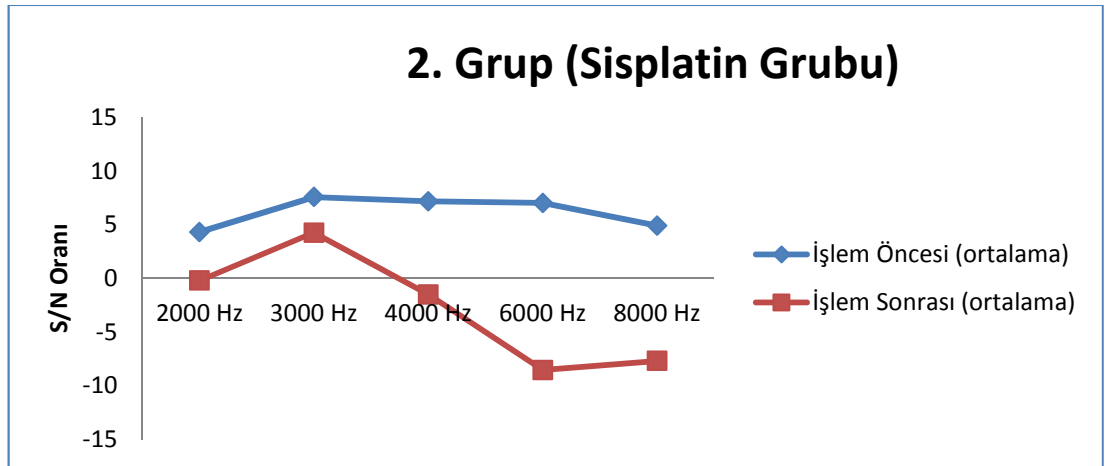


Şekil 2. 1. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği

2. Grup (Sisplatin Grubu): Tek doz 16 mg/kg sisplatin uygulanan grupta tüm frekanslarda, ilaç uygulaması sonrası ölçülen SNR değerleri ilk ölçümle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşüş saptandı ($p < 0.05$) (Tablo 5 ve Şekil 3).

Tablo 5. 2. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri

Frekans	İşlem Öncesi (ortalama± Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası (ortalama± Std. Hata ort.)	P
2000 Hz	4,313±0,810	-0,194±1,423	<0.05
3000 Hz	7,581±0,308	4,256±1,317	<0.05
4000 Hz	7,169±0,638	-1,500±1,555	<0.05
6000 Hz	7,025±1,071	-8,525±1,218	<0.05
8000 Hz	4,913±1,000	-7,675±1,301	<0.05

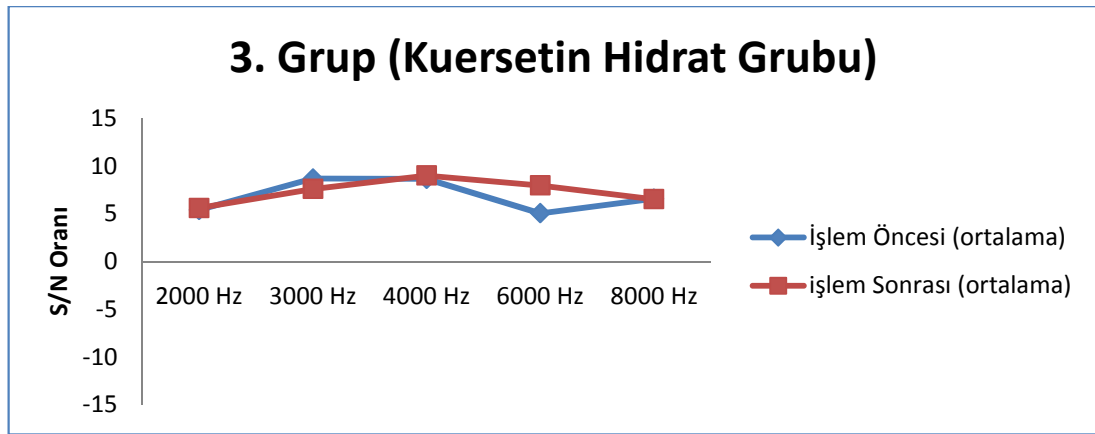


Şekil 3. 2. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği

3. Grup (Kuersetin Hidrat Grubu): 50 mg/kg kuersetin hidrat uygulanan grupta tüm frekanslarda DPOAE sonuçlarında ilaç uygulaması öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 6 ve Şekil 4).

Tablo 6. 3. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri

Frekans	İşlem Öncesi (ortalama± Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası (ortalama± Std. Hata ort.)	P
2000 Hz	5,419±0,831	5,619±0,730	>0.05
3000 Hz	8,706±0,590	7,613±0,925	>0.05
4000 Hz	8,669±1,755	9,031±1,438	>0.05
6000 Hz	5,069±3,021	7,988±1,904	>0.05
8000 Hz	6,594±2,777	6,550±1,086	>0.05

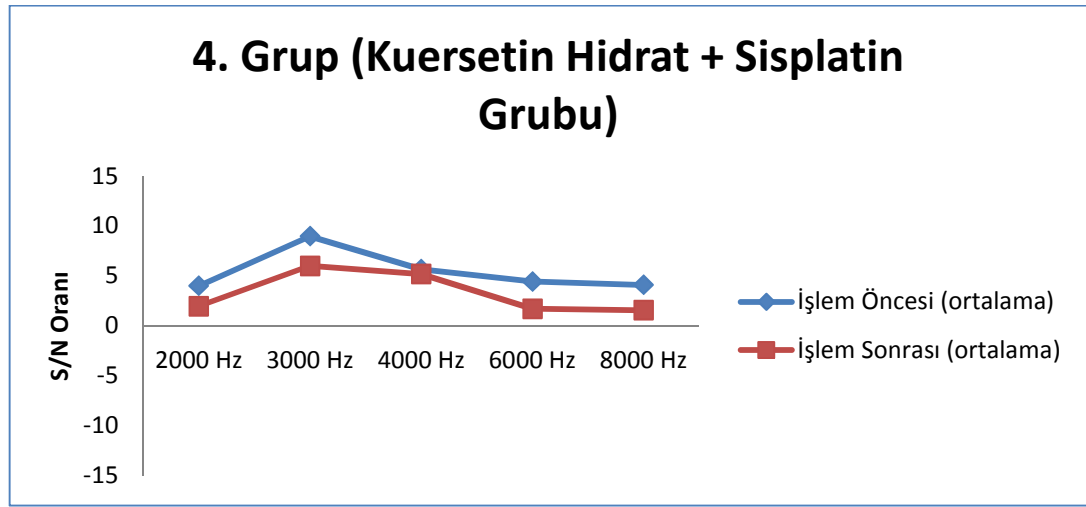


Şekil 4. 3. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği

4. Grup (Kuersetin Hidrat + Sisplatin Grubu): Sisplatin toksisitesine karşı kullanılan kuersetin hidrat tedavi grubunda, i.p. enjeksiyonlar öncesi ve sonrası SNR değerleri karşılaştırıldığında hiçbir frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 7 ve Şekil 5).

Tablo 7. 4. grubun ortalama ve ortalama standart sapma değerleri

Frekans	İşlem Öncesi (ortalama± Std. Hata ort.)	İşlem Sonrası (ortalama± Std. Hata ort.)	P
2000 Hz	4,006±1,790	1,981±1,311	>0.05
3000 Hz	8,969±1,306	6,019±0,924	>0.05
4000 Hz	5,681±1,273	5,194±1,067	>0.05
6000 Hz	4,444±1,459	1,719±1,349	>0.05
8000 Hz	4,100±1,670	1,569±1,581	>0.05



Şekil 5. 4. grubun işlem öncesi ve sonrası SNR oranlarını gösteren çizgi grafiği

İ.p. enjeksiyonlar sonrası her grup kendi içinde değerlendirildiğinde sağ kulak ve sol kulak arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

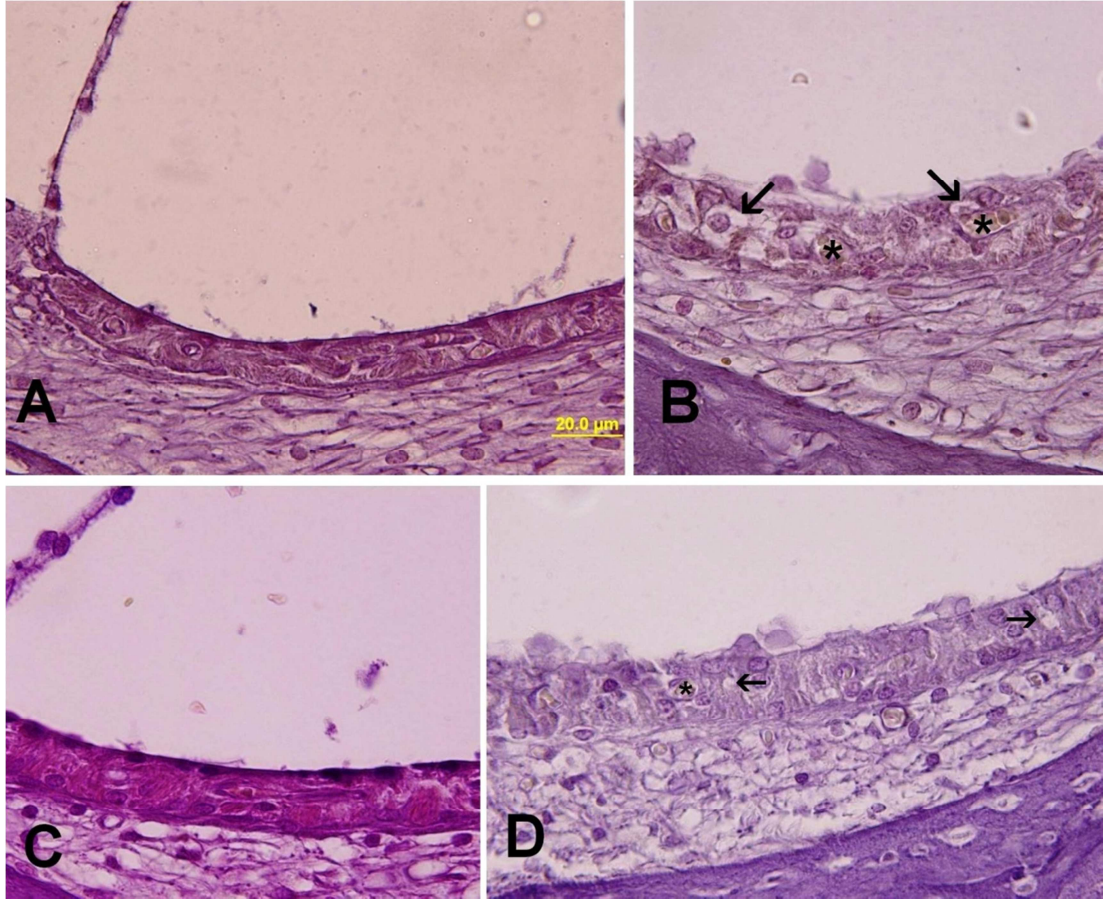
İ.p. enjeksiyonlar sonrası gruplar kendi aralarında değişim farkı açısından karşılaştırıldığında 1. grup (SF Grubu) ile 3. grup (Kuersetin hidrat Grubu) arasında hiçbir frekansta anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Dördüncü grup (Kuersetin hidrat + Sisplatin Grubu), 1. ve 3. grupla değişim farkı açısından karşılaştırıldığında 2000, 3000 ve 4000 Hz'de anlamlı fark bulunmazken 3. grup ile 6000 Hz de, 1. grup ile 8000 Hz de anlamlı fark tespit edildi. İkinci grup (Sisplatin Grubu) ile diğer gruplar karşılaştırıldığında sadece 3000 Hz'de bütün gruplarla anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Ayrıca sadece 4. grupla 2000 Hz'de değişim farkı açısından anlamlı fark saptanmazken yüksek frekanslarda belirgin olmak üzere diğer frekanslarda bütün gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

4.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI

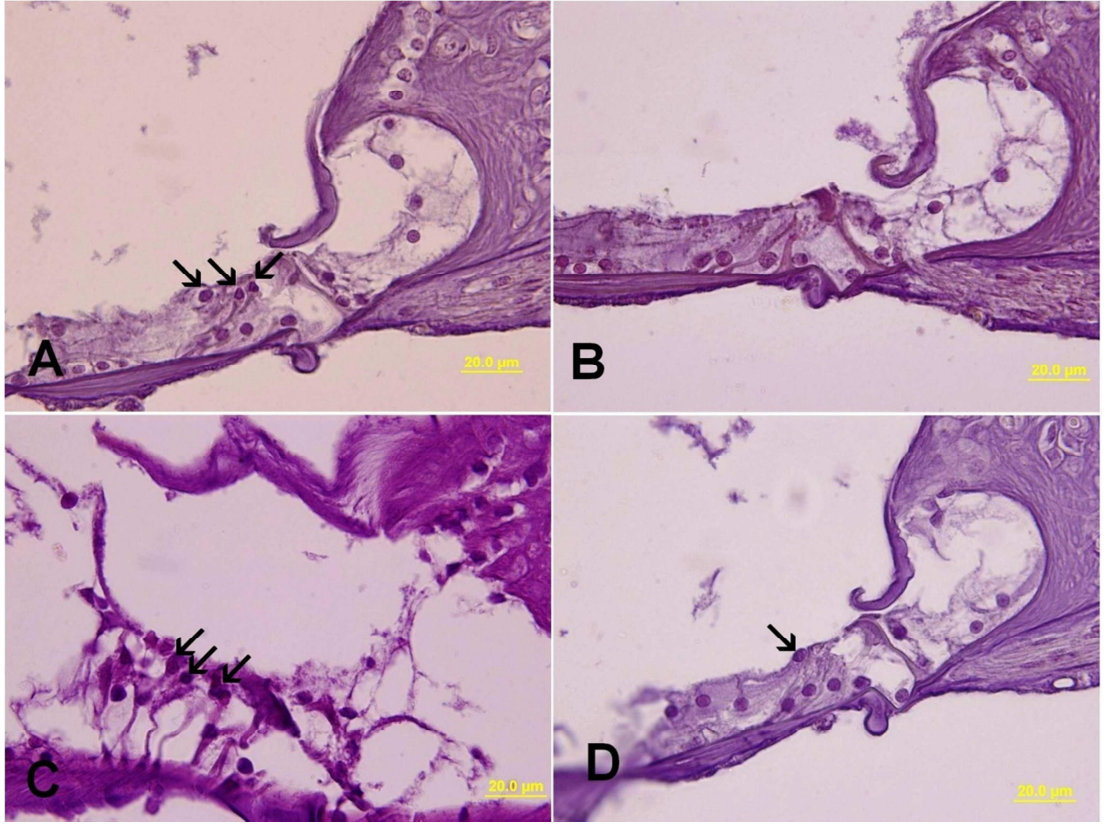
Işık mikroskopik incelemede stria vaskülaris, korti organı ve spiral gangliyon değerlendirildi. Yapılan incelemede sisplatin uygulanan grupta stria vaskülariste marjinal hücrelerde vakuolizasyona, dilate ve konjesyone damarlara ve duvar kalınlığında artışa rastlandı. Sisplatin ile birlikte uygulana kuersetin hidrat grubunda da bu histolojik bulgularda azalma olmakla birlikte devam etmekteydi. Kontrol grubu ve sadece kuersetin hidrat uygulanan grupta ise normal stria vaskülaris yapısı gözlemlendi **(Resim 5)**.

Sisplatin uygulanan grupta korti organında DTH'lerde kayıp gözlemlendi. Sisplatin ile birlikte kuersetin hidrat uygulanan grupta bu kayıp daha azdı. Sadece kuersetin hidrat uygulanan grup ise kontrol grubuna benzerdi **(Resim 6)**.

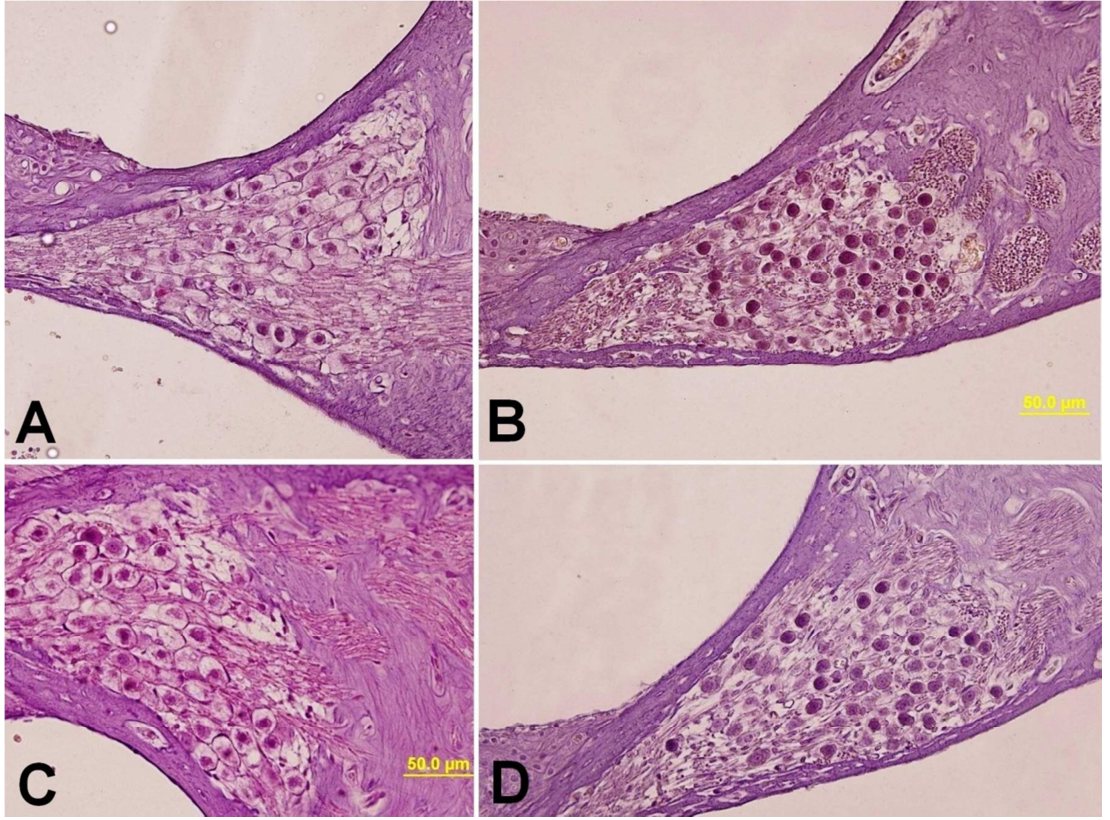
Sisplatin uygulanan grupta eozinofilik boyanan dejenere spiral gangliyon hücrelerine rastlandı. Sisplatin ile birlikte kuersetin hidrat uygulanan grupta da dejenere gangliyon hücreleri vardı, ancak sayısı daha az miktardaydı. Sadece kuersetin hidrat uygulanan grup ise kontrol grubuna benzerdi **(Resim 7)**.



Resim 5. Stria vaskularise ait görüntü. (A) Kontrol, (B) Sisplatin uygulanan grup, konjesyone dilate damarlar (*) ve marjinal hücrelerde vakuolizasyon (ok), (C) Sadece Kuersetin hidrat uygulanan grup, (D) Sisplatin ile birlikte kuersetin hidrat uygulanan grup, konjesyone dilate damarlar (*) ve marjinal hücrelerde vakuolizasyon (ok) sisplatin grubuna göre daha az görülmekte, (Hematoksilen & Eozin boyama. Ölçü çubuğu= 20µm).



Resim 6. Korti organına ait görüntü. (A) Kontrol, dış tüy hücreleri (ok) ayırt edilmekte, (B) Sisplatin uygulanan grup, DTH'ler hasar nedeniyle ayırt edilememekte, (C) Sadece kuersetin hidrat uygulanan grup, DTH'ler (ok) ayırt edilmekte, (D) Sisplatin ile birlikte kuersetin hidrat uygulanan, bir tane DTH (ok) ayırt edilmekte, (Hematoksilen & Eozin boyama. Ölçü çubuğu = 20µm).



Resim 7. Spiral gangliona ait görüntü. (A) Kontrol, (B) Sisplatin uygulanan grup, koyu eozinofilik boyanan dejenere nöronlar, (C) Sadece kuersetin hidrat uygulanan grup, (D) Sisplatin ile birlikte kuersetin hidrat uygulanan grup, sisplatin grubuna göre daha az olmakla beraber koyu eozinofilik boyanan dejenere nöronlar görülmekte, (Hematoksilen & Eozin boyama. Ölçü çubuğu= 50µm).

5. TARTIŞMA

Sisplatin 1970'li yıllarda klinik kullanıma giren etkili antineoplastik bir ajandır. Yaygın olarak neoadjuvan veya konkomitant palyatif amaçlarla kemoterapötik olarak kullanılırlar (36). Sisplatin etkili bir antineoplastik bir ajan olmasına karşın, ciddi yan etkilere sahiptir. Bunlar arasında ototoksisite, Kulak Burun Boğaz ve Baş -Boyun Cerrahisi pratiğinde önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ototoksisite birçok nedene bağlı olarak ortaya çıkar. Ototoksite insidansını etkileyen faktörler arasında uygulanma şekli, doz miktarı, ileri yaş, diyet faktörleri, serum protein seviyeleri, genetik faktörler, diğer ototoksik ajanların birlikte kullanılması, gürültü, düşük renal fonksiyon, karaciğer yetmezliği, daha önce sensörinöral işitme kaybı olması, koklear implant takılması ve baş- boyun bölgesine radyoterapi alınması gibi nedenler yer almaktadır (7,39,90-93).

Sisplatinin kullanımı sonrası ortaya çıkan ototoksik etki, hem yaşam kalitesini sınırlayan hem de tedavi şemasını değiştirebilen bir yan etkidir. Ototoksisite yaşa ve doza bağlı olarak belirgin hal alır ve özellikle çocuklarda öğrenme ve konuşma güçlüğüne neden olabilir (94). Sisplatin kullanımına bağlı olarak hastaların % 60 - % 80'inde işitme eşiklerinde yükselme gözlenir (95,96). Sisplatin ototoksisitesi nedeniyle yetişkinlerde % 49 oranında işitme cihazı ihtiyacı olduğu bildirilmektedir (90).

Sisplatin ototoksisitesinde daha çok koklea olmak üzere vestibüler sistem de etkilenir. Sıklıkla görülen yakınmalar, işitme kaybı, kulak çınlaması ve kulak ağrısıdır. Nadir

vakalarda baş dönmesi de saptanabilir (10,97,98). Çınlama genellikle ilk ve en sık rastlanan yakınma olup, oluşabilecek toksik etkinin erken habercisidir (92). Çınlama genellikle 4 ile 6 kHz arasında değişen frekanstadır. Çınlamanın tam olarak kaybolması nadirdir. Ancak zamanla nöral elemanların dejenere olması ile tinnitus şiddetinde azalma olabilmektedir (7,92).

Sisplatin kullanımı sonrası işitme kaybı genellikle çift taraflı olup öncelikle yüksek frekanslardan başlar. Kullanılan doza ve süreye bağlı olarak ilerleyen dönemlerde konuşmayı algılamada önemli olan düşük frekansları da tutup, orta derecede veya şiddetli geri dönüşümsüz sensörinöral işitme kaybı oluşturur (39,52). Ototoksik etki genellikle tedavi başlangıcının ikinci günü ortaya çıkar (59). Çalışmamızda da sisplatin kullanımından 72 saat sonra özellikle yüksek frekanslarda daha belirgin olmak üzere DPOAE yanıtlarında azalma gözlenmiştir.

Sisplatin ototoksitesinin histopatolojisi iyi tanımlanmış olmasına karşın işitme kaybının altta yatan mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Esas olarak morfolojik değişiklik, kokleanın bazal kıvrımındaki ilk sıra DTH'lerden başlayıp apekteki DTH'lere doğru ilerleyen ve iç tüylü hücreleri de etkileyen korti organı hasarıdır. Sisplatin, korti organı dışında spiral gangliyon ve stria vaskularisi de etkilemektedir (59,99,100). Spiral gangliyon hasarında myelin kılıfın ayrışması meydana gelir ve hasarın zamanı DTH hasarıyla paralellik gösterir (59). Stria vaskularis hasarı da DTH hasarında olduğu gibi bazal kısımdan başlar ve strial ödem ve sitoplazmik organların hasarı ön plandadır (101). Strial hasar DTH hasarından önce gözlenebilir ve sonraki olayların başlamasına öncelik edebilir (102). Çalışmamızda da sisplatin maruziyeti sonrası ışık mikroskopisiyle yapılan değerlendirmede stria vaskulariste, DTH'lerde ve spiral gangliyonda hasar olduğu gözlenmiştir.

Sisplatin ototoksitesisi ile ilgili yapılan çalışmalarda ototoksitesinin oluşmasını sağlayan ana unsurun reaktif oksijen ürünleri olduğunu ortaya konulmuştur (39,59,103-105). Kokleada ROÜ'leri yaşlılık, ototoksik ilaçlar ve gürültü gibi nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilmesine rağmen ROÜ'lerin kaynağı tam olarak belirlenememiştir. Sebep ne olursa olsun sisplatin maruziyeti sonrası kokleada ROÜ'lerinin arttığı ve buna karşı koyacak antioksidan korunma sisteminde değişiklik olduğu açıktır (106-108).

Sisplatin ototoksitesisi sonucu ROÜ'leri, lipid peroksidasyonunu gösteren malondialdehid miktarında artışa neden olurken, antioksidan enzim miktarlarında azalmaya neden olur (2). Sisplatinin antioksidan enzim yapısı içindeki sülfhidril gruplarına direkt bağlanması, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesi için esansiyel öneme sahip bakır ve selenyum miktarlarının azalması, artmış ROÜ'lerin ve organik peroksitlerin antioksidan enzimleri inaktive etmesi, glutatyon peroksidaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesi için gerekli olan glutatyonun ve kofaktör nikotanamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH) azalması, koklear antioksidan enzim aktivitesinin azalmasına neden olur (2,109,110).

Sisplatin maruziyeti sonrası nitrik oksit sentezinin artması da ototoksitede önemli etkiye sahiptir. Özellikle süperoksit ve nitrik oksit kombinasyonundan oluşan peroksinitrik süper radikali lipid peroksidasyonunu şiddetli bir şekilde uyararak tüylü hücre membran hasarı yapar. Lipid peroksidasyonu koklear hücrelere kalsiyum girişini artırarak apoptoza yol açar (2,53,107,108). Mitokondrial hasar da sisplatin ototoksitesinde önemli bir rol oynar. ROÜ'leri mitokondrial aktiviteyi bozarak daha çok ROÜ üretimine neden olur. Kendi kendini besleyen bu kısır döngü sistemi de ototoksitenin ilerlemesine neden olur (111).

Çalışmamızda kullandığımız kuersetin hidratin ana bileşeni kuersetinin; peroksil, süperoksit, singlet oksijen, alkoksil ve hidroksil radikallerini temizlemesi, ksantin oksidaz aracılığıyla süperoksit anyon üretimini inhibe etmesi, lipid peroksil zincirini kırması ayrıca demir ve bakır gibi geçiş metallerini şelatlaması ve hücrelere kalsiyum girişini azaltması gibi özellikleriyle ROÜ'lerin toksik etkilerini azaltma potansiyeline sahip olması, sisplatin ototoksitesisine karşı muhtemel etkili bir antioksidan madde olabileceğini düşündürdü (81,83-85).

Yukarıda belirtildiği gibi birçok olaya bağlı oluşabilecek sisplatin ototoksitesinin erken ve doğru bir şekilde tanınması çok önemlidir. Ototoksite monitorizasyonunda birçok yöntem kullanılır. Bunlar arasında konvansiyonel saf ses odyometrisi (PTO), yüksek frekans odyometri (HFA), uyarılmış otoakustik emisyonlar ve işitsel uyarılmış potansiyeller (ABR) ototoksite monitorizasyonunda öne çıkmış yöntemlerdir (27). Bu yöntemlerin birbirlerine karşı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. HFA ve OAE ototoksiteyi belirlemede PTO'ya göre daha duyarlı ve özgüldür. Knight ve ark. (112)

yaptıkları çalışma sonrasında platin türevi antineoplastik ajan kullanılan hastalarda HFA ve DPOAE ölçümlerinin işitme fonksiyonlarındaki değişikliği PTO ölçümlerinden daha erken saptadığı belirtmişleridir.

PTO'nun üst frekans sınırının HFA ve OAE'ya göre daha düşük olması kullanımında kısıtlamaya neden olmaktadır (27). Bununla beraber HFA'nın OAE testine göre ototoksisiteyi daha erken belirleyebildiğine ait yayınlar olsa da HFA'nın hasta kooperasyonu gerektirmesi, yüksek frekans maruziyetinde hasta yakınmalarının olması kullanımında kısıtlama oluşturmuştur (27,112). Hem ABR testi hem de OAE testi ototoksisite monitorizasyonunda etkin şekilde kullanılır. Sockalingam ve ark. (113) cisplatin ototoksisitesinde OAE ve ABR'nin duyarlı bir tanı yöntemi olduğunu bildirmişlerdir. Hatzopoulos ve ark. (114) ototoksisite çalışmalarında genel olarak ABR testi kullanılmasına karşın, ABR yanıtlarının tüm sinir liflerinin integrasyonu sonucu oluştuğunu bu nedenle ototoksisitede koklear mikromekaniği göstermede OAE'nin daha efektif olacağını savunmuşlardır.

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, test süresinin kısa olması ve geniş hasta gruplarının taranabilmesi gibi avantajları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (32,33). Bunların yanı sıra DTH fonksiyonlarının göstergesi olan OAE, ototoksisite çalışmalarında güvenilir ve sık kullanılan bir işitme testidir. OAE'lar kendi içerisinde karşılaştırıldığında yüksek frekans seçiciliğinden dolayı DPOAE'nin TOAE'ya göre üstünlüğü mevcuttur (115,116). Biz de çalışmamızda, yukarıda bahsedilen olumlu özelliklerinden ötürü ototoksik etkiyi gösterebilmek için DPOAE testini kullandık.

Ototoksisite çalışmalarında DPOAE analizinde, değerlendirme parametresi olarak DPOAE amplitüdünü kullanan çalışmalar mevcuttur fakat farklı zamanlarda yapılan ölçümlerde emisyon amplitüdlерinin ve gürültü eşiğinin değişebilmesinden ve DPOAE amplitüdlерinin solunum sesleri ve ortam gürültüsünden etkilenebilmesinden dolayı SNR oranı DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlерine göre daha güvenilirdir (114,117). Biz de bu etkenleri göz önüne alarak çalışmamızda SNR oranını kullanmayı tercih ettik.

Ototoksisite çalışmalarında birçok araştırma modeli uygulanmaktadır. Bunlar intratimpanik injeksiyon, timpanik membran perforasyonu, transbullar injeksiyon ve sistemik injeksiyon ile yapılan çalışmalardır (118). Bunun yanı sıra çok çeşitli hayvan türleriyle çalışma yapılabilmektedir. Fare, rat, Guinea pig, hamster, çinçilya gibi deney hayvanları sıklıkla kullanılır (61-63,73). Çalışmamızda; geniş frekans aralığı, akustik travma hassasiyeti gibi özelliklerinden dolayı işitme araştırmalarında sıklıkla kullanılan rat modelini tercih ettik. Bununla beraber, ototoksisite çalışmalarında kullanılan hayvan modeli ne olursa olsun, OAE cevapları alınırken ortak sorun, hayvanların DKY'nin dar olması ve DKY içerisine yerleştirilen probun her zaman uygun şekilde yerleştirilememesidir. Probu yerleştirilmesinin ardından yanıtları alabilmek için birkaç kez probun pozisyonunun değiştirilmesi gerekebilir. Özellikle yapılan girişimler sonucu DKY' da ödem, enfeksiyon, kanamaya sekonder pıhtı ve serümen artışı gözlenebilir. Tüm bu nedenler probun yerleştirilmesinde ve OAE yanıtlarının alınmasında sorunlara neden olabilir (118).

Farklı deney hayvan türlerinde yapılan OAE çalışmaları, türlere göre değişen frekanslarda emisyon ölçümlerinin alınabileceğini göstermiştir. Hatzopoulos ve ark. (114) Sprague-Dawley ratlarında 4 kHz'nin üzerinde, Lopez ve ark. (119) albino ratlarda 2 ve 8 kHz arasında, Sockalingam ve ark. (113) albino ratlarda 2 ve 8 kHz arasında emisyon alındığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda 2 kHz'nin altında emisyon alınamamış olup, 2 – 8 kHz arasındaki frekanslardaki ölçümler değerlendirmeye alınmıştır. Sisplatinin ototoksik etkisini gösterebilmek için 12-16 mg/kg'lık tek doz uygulaması genellikle yeterli olmaktadır (113,120). Özellikle 20 mg/kg ve üstündeki tek doz uygulaması, ratlar için ölümcül dozdur (121). Bu bulgular ışığında çalışmamızda, Lynch ve ark.'nın (64) akut dönemde sisplatin ototoksisitesi oluşturmak için kullandığı 16 mg/kg'lık doz miktarını kullandık.

Sisplatin ototoksisitesindeki patolojiyi belirleyip bu nedene yönelik tedavi planı oluşturmak için birçok hayvan deneyi çalışması yapılmıştır. ROÜ'lerinin olumsuz etkisini yenebilmek için sıklıkla antioksidan ve diğer maddeler kullanılmıştır. (39,104).

Wang ve ark. (60) Guinea piglerinde yaptığı çalışmada sodyum tiyosülfatın sisplatin ototoksisitesini engellediğini ve koklear tüylü hücreleri korunduğunu bildirirken, Wimmer ve ark. (61) osmotik mini pompa yardımıyla yuvarlak pencereye uygulanan

kronik sodyum tiyosülfatın koruyucu etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Campbell ve ark.'nın (76) D-metiyonin üzerine yaptığı çalışmada, ilgili ajanın sisplatin maruziyetinde DTH hasarına, antioksidan enzim azalmasına ve işitme eşik artışlarına karşı anlamlı bir şekilde koruma sağladığı gözlenmiştir. Yine Campbell ve ark.'nın (63) yaptığı çalışmada düşük doz glutatyon esterinin sisplatin ototoksitesisi üzerinde koruyucu etkisi varken yüksek dozlarda bu koruyucu etkinin azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı raporda glutatyon esterinin koruyucu etkisinin D- metiyonin seviyesinde olmadığı bildirilirken aynı zamanda glutatyonun koruyucu etkisinin olmadığı da bildirilmiştir (63).

Lynch ve ark. (64) ratlarda yaptıkları bir çalışmada glutatyon peroksidaz benzeri aktivite gösteren ve antioksidan gibi davranan ayrıca lipid peroksidasyonunu da inhibe eden ebselen ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azaltabilen bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol'u sisplatinin ototoksik etkisine karşı protektif ajanlar olarak tek başlarına ve kombine olarak uygulamışlar, sonuç olarak bu ajanların kombine olarak kullanımının tek başlarına kullanımlarına göre daha düşük dozlarda otoprotektif olduklarını ABR eşik değerlerinde DTH'lerde korunma ile doğrulamışlardır. Lynch ve ark. (122) yine rat meme ve over kanser modellerinde yaptıkları çalışmada sisplatin tedavisi sırasında oral allopurinol ve ebselen uygulamasının, meme kanserinde antitümöral aktiviteyi etkilemeksizin ve over kanserinde de antitümöral aktiviteyi arttırarak, otoprotektif etki gösterdiklerini belirtmişlerdir. Rybak ve ark. (2) sisplatin öncesi ebselen ve bir metal şelatörü olan 4-metiltiobenzoik asit uygulamasının glutatyon seviyesindeki azalmayı durdurarak antioksidan enzim aktivitesindeki düşüşü engellediğini ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmek suretiyle otoprotektif etki sağladığını ve ABR eşik değişikliklerini de engellediğini bildirmektedir.

Amifostin hamsterlarda doza bağlı olarak, orta seviyeden – üst seviyeye kadar ototoksisite koruması sağlarken yüksek dozlarda nörotoksisite oluşturmuştur. Nörotoksisite ABR'de uzamış interpik latansı şeklinde kendini gösterir (62). Amifostin ile yapılan klinik çalışmalarda ise amifostinin efektif olmadığı bildirilmiştir (123,124). Ekborn ve ark. (123) yetişkin malign melanomlu hastalarda sisplatin infüzyonu öncesi amifostin tedavisi alan grupta ototoksitenin oluştuğunu bildirirken, Marina ve ark. (124)

sisplatinle birlikte etoposid ve bleomisin kombinasyonu alan germ hücreli tümörlü çocuklarda amifostinin koruyucu etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Teranishi ve ark.'nın (68) Guinea piglerinde yaptığı sislipatinle indüklenen ototoksisite çalışmasında, E vitamininin (α -tokoferol) ratlarda olduğu gibi lipid peroksidasyonunu baskıladığını ve DTH kaybını azaltıp ABR eşik değerlerini yükseltmediği bildirilmiştir. Fetoni ve ark.'nın (70) α -tokoferolün Guinea piglerinde sislipatin ototoksisitesinde kısmi koruma sağladığına dair çalışmasında, α -tokoferolün ile metal şelatörü özelliği olan tiyopronin kombinasyonunda sislipatin ototoksisitesine karşı anlamlı derecede korunma olduğu gözlenmiştir. Bu anlamlı farkın iki nedenden ortaya çıktığını savunulmuştur. Tiyopronin'in tiyol kısmı antioksidan mekanizmayı güçlendirip ROÜ'leri azaltırken, α -tokoferol lipid peroksidasyonunu azaltarak ototoksisiteyi engeller (70,104). Yukarıda saydığımız ajanlar haricinde de birçok madde daha sislipatin ototoksisitesinde kullanılmıştır. Daldal ve ark. (125) Guinea piglerinde sislipatin ototoksisitesinde intratimpanik deksametazon kullanımının hem DPOAE amplitüdlerinde hem de SNR oranlarında anlamlı fark oluşturmayıp ototoksisiteyi engellediğini belirtmişlerdir.

Yukarıda bahsedilen maddelerden bazıları sislipatin ototoksisitesinde faydalı etki gösterirken bazılarında bu etki gözlenmemiştir ve yine kullanılan doza, yöntem ve ilaç kombinasyonlarına bağlı olarak korunma oranı değişkenlik göstermiştir. Çalışmamızda kullandığımız kuersetin hidrat bir flavonoid türevi olup içerdiği ana özgül bileşik kuersetin, kuvvetli antioksidan özellikleri nedeniyle birçok çalışmada kullanılmıştır (89,126-130). Garcia Suara ve ark.'nın (131) yaptığı çalışmada renovasküler hipertansiyon oluşturulan ratlarda, kuersetinin antihipertansif ve antioksidan etkisi gözlenmiştir. Sanchez ve ark. (132) spontan hipertansif ratlarda yaptığı çalışmada kuersetinin NADPH oksidaz seviyesini azaltıp, endotelial nitrik oksit sentaz seviyesini artırıp, endotel tabakasını koruyarak antihipertansif etki gösterdiği gösterilmiştir. Motoyama ve ark. (89) fareler üzerinde yaptıkları çalışmada uyguladıkları kuersetinin farelerdeki aterosklerotik alanların gelişimini azalttığını bildirmişlerdir. Kawada ve ark (133) karaciğer kupffer hücrelerinde yaptığı çalışmada kuersetinin karaciğer nitrik oksit sentaz enzimini baskılayarak NO üretimini azaltıp karaciğeri koruyucu etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada Sanchez'in çalışmasının aksine her ne kadar

çalışılan bölgeler farklı olsa da NO miktarında azalma koruyucu etkiyi ortaya çıkarmıştır.

Kuersetinin nöroprotektif etkisi de mevcuttur. Selvakumar ve ark. (130) yaptığı çalışmada ratlarda poliklorine bifenil ile oluşturulan hipokampal oksidatif stres modelinde 50 mg/kg kuersetin kullanımıyla hem biyokimyasal olarak hem de morfolojik olarak hipokampusta korunma sağladığı gözlenmiştir. Schültke ve ark. yaptıkları iki ayrı çalışmada (128,129) hem akut spinal kord hasarında hem de akut beyin travmasında kuersetinin yararlı etkilerinin olduğunu göstermişlerdir. Bununla beraber kuersetinin antitümöral özellikleri mevcuttur. Protein tirozin kinazları baskılayarak ve ısı şok proteinlerinin üretimini inhibe ederek antitümöral etki gösterir. Lösemi, meme, kolon, akciğer ve endometrium kanseri gibi neoplazmalarda tümör büyümesini inhibe ettiğine dair yayınlar olduğu gibi karşıt görüşler de mevcuttur (88,126,127,134,135).

Bu bilgilerin ışığında, flavonoidler için her ne kadar prooksidan özelliklerinden söz edilse de antioksidan özelliklerinin daha ağırlıklı olarak rol oynadığı görülmektedir. Dolayısıyla ROÜ aracılı hasar sonucu oluşması muhtemel pek çok hastalıktan korunmada etkin rol oynayabilecekleri düşünülebilir (79). Bundan hareketle kuersetin etkin maddeli içeriğimizin hem iç kulak üzerine etkisi hem de sisplatin maruziyetinde olası koruyucu etkisi, literatüre baktığımızda daha önce çalışılmamış bir konuydu. Bu nedenle çalışmamız bu yönüyle bir ilk ve ön çalışma hükmündedir.

Çalışmamızda kuersetin hidratin koklea üzerine olumsuz etkisi olmadığı hem DPOAE yanıtlarıyla hem de histolojik çalışmayla gösterilmiştir. Stria vaskülaris kalınlığı ve yapısı, DTH sayısı ve spiral gangliyon morfolojisi kontrol grubuyla benzer özellik göstermiştir. Aynı zamanda DPOAE testinde iki grup arasında hem işlem öncesi hem de işlem sonrasında SNR ortalamaları açısından anlamlı fark gözlenmedi.

Sisplatin alan grupta morfolojik olarak stria vaskülaris kalınlığında artış, strial ödem, marjinal hücrelerin endolenfatik boşluğa protrüzyonu, vakuolizasyon ve konjesyone - dilate vasküler yapılar mevcuttu. Bu değişiklikler kuersetin hidrat verilen grupta da mevcut olmasına karşın hasar miktarı sadece sisplatin alan gruba göre daha azdı. Korti organına bakıldığında, sisplatin alan grupta DTH kaybı kuersetin hidrat alan tedavi

grubuna göre daha fazla olarak izlendi. Yine aynı şekilde spiral gangliyon bölgesinde nuklear dejenerasyon oranı sisplatin grubunda daha fazla olarak gözlemlendi. Bu bulgular ışığında kuersetin hidratin, sisplatin ototoksitesine neden olan 3 hedef bölgede parsiyel de olsa koruma sağladığını söyleyebiliriz.

Kuersetin hidratin sisplatin ile kullanıldığında işitme üzerine etkisini inceleyen bir çalışma mevcut literatürde olmamasına rağmen, birçok antioksidan ajanın sisplatin ototoksitesini üzerine etkisi araştırılmıştır. Değerlendirme parametresi olarak DPOAE kullanılan çalışmalarda kullanılan ajanlarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Sisplatinle birlikte verilen farklı ajanların SNR oranlarında her frekansta düşmeyi engellediğini gösteren çalışmalar olduğu gibi olumsuz bulgulara ulaşan çalışmalar da mevcuttur (105,114,120,125). Mevcut çalışmada SNR değerlerine bakıldığında sisplatin grubunda özellikle yüksek frekanslarda olmak üzere tüm frekanslarda azalma mevcutken, sisplatinle birlikte kuersetin hidrat alan tedavi grubunda SNR değerleri azalsa da işlem öncesi değerlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Gruplar arası değişim farkları açısından yapılan karşılaştırmada sisplatinle birlikte kuersetin hidrat alan tedavi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 8000 Hz'de SNR değerleri bakımından anlamlı fark gözlenirken, sisplatin alan grup diğer bütün gruplarla karşılaştırıldığında özellikle 4000 Hz ve üzeri frekanslarda frekanslarda anlamlı fark gözlemlendi. Çalışmamızda 8000 Hz'de kontrol grubuna göre düşüş izlenmesine rağmen sisplatin alan gruba göre anlamlı şekilde emisyon cevabının korunduğu gözlemlendi.

Sisplatin uygulanan iki grupta da DTH hasarının izlenmesinin, SNR oranlarıyla ilgili değişiklikleri ortaya çıkardığı düşünüldü. Çalışmada yüksek dozda sisplatin uygulanmasından dolayı hasar miktarı hem morfolojik olarak hem de otoakustik olarak gösterilmiştir. Muhtemelen sisplatinin daha düşük doz miktarlarında kuersetin hidratin koruyucu etkisinin daha fazla olabileceği düşünülebilir. Sonuç olarak, sisplatin grubuyla karşılaştırıldığında, tedavi grubunun hem otoakustik emisyon testinde hem de histopatolojik olarak koruma sağlanması, kuersetinin etkin doz, süre, uygulanma şekli göz önüne alınarak sadece sisplatin değil diğer ototoksik ajanların olumsuz etkilerini de azaltmada kullanılacak iyi bir antioksidan madde olduğu kanaatini doğurdu.

Bununla beraber çalışmamızda sisplatin toksisitesini akut evrede değerlendirdiğimizden dolayı sisplatin ototoksitesinde uzun dönem sonuçlarının değerlendirilmesi ve morfolojiyi daha iyi gösteren elektron mikroskopisi çalışmalarının planlanması ve yürütülmesinin gerekli olduğu kanaatindeyiz. Tümörlü denek gruplarında ilgili ajanın kullanımının da daha doyurucu sonuçlar vereceği inancındayız.

6.SONUÇLAR

- Kuersetin hidratın tek başına kullanımında iç kulak üzerine olumsuz bir etkisi yoktur.
- Sisplatin özellikle yüksek frekanslarda daha belirgin olmak üzere DPOAE yanıtlarında azalmaya neden olur.
- DPOAE yanıtları ve morfolojik bulgular ışığında sisplatin ile indüklenen ototoksisiteye karşı kuersetin hidratın koruyucu etkisinin olduğu gözlenmiştir.
- Kuersetinin koruyucu etkisinin daha ileri bir seviyede olabileceği, bunun anlaşılabilmesi için doz ve süre ayarlaması ile ilgili çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Rybak L, Ramkumar V. Ototoxicity. *Kidney Int* 2007;72:931-5.
2. Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Otol Neurotol* 2000;21:513-20.
3. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev* 2000;52:673-751.
4. Aslan A, Belgin E. Kulak anatomisi ve işitme fizyolojisi. In: Koç C (eds), *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi* (ed) Güneş Tıp Kitapevi, Ankara 2004, pp. 45-71.
5. Santi P, Mancini P. Koklear Anatomi ve Santral Adituar Yollar. In: Cummings CW, Haughey BH, Thomas JR, Harker LA (eds), *Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi* (4. ed) Güneş Tıp Kitabevi, Ankara 2007, pp. 3373- 91.
6. Akyıldız N. İç kulak anatomisi. In: Akyıldız N (eds), *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi* (ed) Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 1998, pp. 49-61.
7. Mutlu C. Ototoksisite. In: Çelik O (eds), *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi* (ed) Turgut Yayıncılık, İzmir 2007, pp. 269-82.
8. Halmagyi GM, Fattore CM, Curthoys IS, Wade S. Gentamicin vestibulotoxicity. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;111:571-4.
9. Black FO, Pesznecker SC, Homer L, Stallings V. Benign paroxysmal positional nystagmus in hospitalized subjects receiving ototoxic medications. *Otol Neurotol* 2004;25:353-8.
10. Stringer S, Meyerhoff W, Wright C. Ototoxicity. In: Paparella MM, Shumrick DA (eds), *Otolaryngology* (ed) WB. Saunders Company, Philadelphia 1991, pp. 1653-69.
11. Piel IJ, Meyer D, Perlia CP, Wolfe VI. Effects of cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875) on hearing function in man. *Cancer Chemother Rep* 1974;58:871-5.
12. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 2006;27:1-19.

13. Artal-Sanz M, Tavernarakis N. Proteolytic mechanisms in necrotic cell death and neurodegeneration. *FEBS Lett* 2005;579:3287-96.
14. N Abi-Hachem R, Zine A, R Van De Water T. The injured cochlea as a target for inflammatory processes, initiation of cell death pathways and application of related otoprotective strategies. *Recent Pat CNS Drug Discov* 2010;5:147-63.
15. Low W-K, Sun L, Tan MG, Chua AW, Wang D-Y. LN-Acetylcysteine protects against radiation-induced apoptosis in a cochlear cell line. *Acta Otolaryngol* 2008;128:440-5.
16. Hengartner MO. Apoptosis. DNA destroyers. *Nature* 2001;412:27-9.
17. Stennicke HR, Salvesen GS. Caspases—controlling intracellular signals by protease zymogen activation. *Biochim Biophys Acta* 2000;1477:299-306.
18. Kim T-H, Zhao Y, Barber MJ, Kuharsky DK, Yin X-M. Bid-induced cytochrome c release is mediated by a pathway independent of mitochondrial permeability transition pore and Bax. *J Biol Chem* 2000;275:39474-81.
19. Koca N, Karadeniz F. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma sistemler. *Gıda Mühendisliği Dergisi* 2003;16:32-7.
20. Jacobson MD. Reactive oxygen species and programmed cell death. *Trends Biochem Sci* 1996;21:83-6.
21. Diplock AT. Defense against reactive oxygen species. *Free Radic Res* 1998;29:463-7.
22. Rehman A, Collis CS, Yang M, et al. The effects of iron and vitamin C co-supplementation on oxidative damage to DNA in healthy volunteers. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;246:293-8.
23. Heck DE, Kagan VE, Shvedova AA, Laskin JD. An epigrammatic (abridged) recounting of the myriad tales of astonishing deeds and dire consequences pertaining to nitric oxide and reactive oxygen species in mitochondria with an ancillary missive concerning the origins of apoptosis. *Toxicology* 2005;208:259-71.
24. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 2004;55:373-99.

25. Kojda G, Harrison D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res* 1999;43:652-71.
26. Association AS-L-H. Guidelines for the audiologic management of individuals receiving cochleotoxic drug therapy. *Asha* 1994;36:11-9.
27. Durrant J, Campbell K, Fausti SA, Guthrie O, Jacobson G. American Academy of Audiology Position Statement and Clinical Practice Guidelines: Ototoxicity Monitoring 2009;3-9.
28. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 1978;64:1386-91.
29. Liberman M, Zuo J, Guinan Jr J. Otoacoustic emissions without somatic motility: Can stereocilia mechanics drive the mammalian cochlea? *J Acoust Soc Am* 2004;116:1649.
30. Zheng J, Shen W, He DZZ, et al. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature* 2000;405:149-55.
31. Campbell K. Audiologic monitoring for ototoxicity. In: Roland P, Rutka J (eds), *Ototoxicity* (ed) BC Decker Publishers, Hamilton, Canada: 2004, pp. 153-60.
32. Probst R, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. A review of otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 1991;89:2027-67.
33. Lonsbury-Martin BL, Martin GK. The clinical utility of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1990;11:144-54.
34. Rosenberg B, Van Camp L, Krigas T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* 1965;205:698-9.
35. Rosenberg B. Cisplatin: its history and possible mechanisms of action. In: Prestayko A, Crooke S, Carter S (eds), *Cisplatin: Current Status and New Developments*, (ed) Academic Press, New York 1980, pp. 9-21.
36. Rossof AH, Slayton RE, Perlia CP. Preliminary clinical experience with cis-diamminedichloroplatinum (II) *Cancer* 1972;30:1451-6.

37. Lokich J. What is the "best" platinum: cisplatin, carboplatin, or oxaliplatin? *Cancer Invest* 2001;19:756-60.
38. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:307-20.
39. Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hear Res* 2007;226:157-67.
40. Schmidt C-M, Knief A, Lajosch AK, Deuster D, am Zehnhoff-Dinnesen A. Left-right asymmetry in hearing loss following cisplatin therapy in children-The left ear is slightly but significantly more affected. *Ear hear* 2008;29:830-7.
41. Hutchison FN, Perez EA, Gándara DR, Lawrence HJ, Kaysen GA. Renal salt wasting in patients treated with cisplatin. *Ann Intern Med* 1988;108:21.
42. Safirstein R, Winston J, Goldstein M, et al. Cisplatin nephrotoxicity. *Am J Kidney Dis* 1986;8:356-67.
43. Townsend DM, Deng M, Zhang L, Lopus MG, Hanigan MH. Metabolism of cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1-10.
44. Fauser A, Fellhauer M, Hoffmann M, et al. Guidelines for anti-emetic therapy: acute emesis. *Eur J Cancer* 1999;35:361-70.
45. Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* 2002;249:9-17.
46. Alberts DS, Noel JK. Cisplatin-associated neurotoxicity: can it be prevented? *Anti-cancer drugs* 1995;6:339-488.
47. Urien S, Brain E, Bugat R, et al. Pharmacokinetics of platinum after oral or intravenous cisplatin: a phase 1 study in 32 adult patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005;55:55-60.
48. Urien S, Lokiec F. Population pharmacokinetics of total and unbound plasma cisplatin in adult patients. *Br J Clin Pharmacol* 2004;57:756-63.

49. Matsumoto K. Pharmacokinetics of cisplatin and methotrexate after M-VAC chemotherapy for advanced urothelial cancer in hemodialysis patients. *Int J Urol* 2008;15:949-50.
50. Himmelstein KJ, Patton TF, Belt RJ, et al. Clinical kinetics on intact cisplatin and some related species. *Clin Pharmacol Ther* 1981;29:658-64.
51. Laurell G, Andersson A, Engstrom B, Ehrsson H. Distribution of cisplatin in perilymph and cerebrospinal fluid after intravenous administration in the guinea pig. *Cancer Chemother Pharmacol* 1995;36:83-6.
52. Sakamoto M, Kaga K, Kamio T. Extended high-frequency ototoxicity induced by the first administration of cisplatin. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:828-33.
53. Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, Butterfield DA. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hear Res* 1996;98:116-24.
54. Lee JE, Nakagawa T, Kim TS, et al. Role of reactive radicals in degeneration of the auditory system of mice following cisplatin treatment. *Acta Otolaryngol* 2004;124:1131-5.
55. Wang J, Ladrech S, Pujol R, et al. Caspase inhibitors, but not c-Jun NH2-terminal kinase inhibitor treatment, prevent cisplatin-induced hearing loss. *Cancer Res* 2004;64:9217-24.
56. Cheng AG, Cunningham LL, Rubel EW. Mechanisms of hair cell death and protection. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;13:343-8.
57. Campbell KC, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. D-Methionine protects against cisplatin damage to the stria vascularis. *Hear Res* 1999;138:13-28.
58. Laurell G, Bagger-Sjoberg D. Degeneration of the organ of Corti following intravenous administration of cisplatin. *Acta Otolaryngol* 1991;111:891-8.
59. van Ruijven MW, de Groot JC, Klis SF, Smoorenburg GF. The cochlear targets of cisplatin: an electrophysiological and morphological time-sequence study. *Hear Res* 2005;205:241-8.

60. Wang J, Faulconbridge R, Fetoni A, et al. Local application of sodium thiosulfate prevents cisplatin-induced hearing loss in the guinea pig. *Neuropharmacol* 2003;45:380-93.
61. Wimmer C, Mees K, Stumpf P, et al. Round window application of D-methionine, sodium thiosulfate, brain-derived neurotrophic factor, and fibroblast growth factor-2 in cisplatin-induced ototoxicity. *Otol Neurotol* 2004;25:33-40.
62. Church MW, Blakley BW, Burgio DL, Gupta AK. WR-2721 (Amifostine) ameliorates cisplatin-induced hearing loss but causes neurotoxicity in hamsters: dose-dependent effects. *J Assoc Res Otolaryngol* 2004;5:227-37.
63. Campbell K, Larsen DL, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. Glutathione ester but not glutathione protects against cisplatin-induced ototoxicity in a rat model. *J Am Acad Audiol* 2003;14:124-33.
64. Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Reduction of acute cisplatin ototoxicity and nephrotoxicity in rats by oral administration of allopurinol and ebselen. *Hear Res* 2005;201:81-9.
65. Minami SB, Sha S-H, Schacht J. Antioxidant protection in a new animal model of cisplatin-induced ototoxicity. *Hear Res* 2004;198:137-44.
66. Li G, Sha S-H, Zotova E, et al. Salicylate protects hearing and kidney function from cisplatin toxicity without compromising its oncolytic action. *Lab Invest* 2002;82:585-96.
67. Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduces cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 2004;114:538-42.
68. Teranishi M-a, Nakashima T, Wakabayashi T. Effects of alpha-tocopherol on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Hear Res* 2001;151:61.
69. Teranishi M-a, Nakashima T. Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003;67:133-9.
70. Fetoni A, Sergi B, Ferraresi A, Paludetti G, Troiani D. Protective effects of α -tocopherol and tiopronin against Cisplatin-induced ototoxicity. *Acta Otolaryngol* 2004;124:421-6.

71. Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, et al. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. *Int J Audiol* 2004;43:465-70.
72. Kelly TC, Whitworth CA, Husain K, Rybak LP. Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. *Hear Res* 2003;186:10-6.
73. Whitworth CA, Ramkumar V, Jones B, Tsukasaki N, Rybak LP. Protection against cisplatin ototoxicity by adenosine agonists. *Biochem Pharmacol* 2004;67:1801-7.
74. Zhang M, Liu W, Ding D, Salvi R. Pifithrin-alpha suppresses p53 and protects cochlear and vestibular hair cells from cisplatin-induced apoptosis. *Neuroscience* 2003;120:191.
75. McFadden SL, Ding D, Salvemini D, Salvi RJ. M40403, a superoxide dismutase mimetic, protects cochlear hair cells from gentamicin, but not cisplatin toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;186:46-54.
76. Campbell K, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. The effect of D-methionine on cochlear oxidative state with and without cisplatin administration: mechanisms of otoprotection. *J Am Acad Audiol* 2003;14:144-56.
77. Peterson J, Dwyer J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr Res* 1998;18:1995-2018.
78. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001;74:418-25.
79. Çimen MBY. Flavonoidler Ve Antioksidan Özellikleri. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 1999;19:296.
80. Tanakol R. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik Gelişim* 1998;347-57.
81. Casagrande R, Georgetti SR, Verri WA, et al. Evaluation of functional stability of quercetin as a raw material and in different topical formulations by its antilipoperoxidative activity. *AAPS PharmSciTech* 2006;7:64-71.
82. Schroeter H, Spencer J, Rice-Evans C. Current status of the potential role of flavonoids in neuroprotection. In: Cutler RG, Rodriguez H (eds), *Critical reviews of oxidative stress and aging: advances in basic science, diagnostics and intervention* (ed) World Scientific, Singapore 2003, pp. 504-15.

83. Groot Hd, Rauén U. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol* 1998;12:249-55.
84. Moskaug JØ, Carlsen H, Myhrstad M, Blomhoff R. Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods. *Mech Ageing Dev* 2004;125:315-24.
85. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M. Radical chemistry of flavonoid antioxidants. In: Ingrid E, Lester P, Christian A (eds), *Antioxidants in therapy and preventive medicine* (ed) Springer, 1990, pp. 165-70.
86. Vanacker SA, Tromp MN, Haenen GR, Vandervijgh W, Bast A. Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;214:755-9.
87. Choi JS, Chung HY, Kang SS, et al. The structure–activity relationship of flavonoids as scavengers of peroxynitrite. *Phytother Res* 2002;16:232-5.
88. Kobayashi T, Nakata T, Kuzumaki T. Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells. *Cancer Lett* 2002;176:17-23.
89. Motoyama K, Koyama H, Moriwaki M, et al. Atheroprotective and plaque-stabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice. *Nutrition* 2009;25:421-7.
90. Zuur CL, Simis YJ, Lansdaal PE, et al. Risk factors of ototoxicity after cisplatin-based chemo-irradiation in patients with locally advanced head-and-neck cancer: a multivariate analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;68:1320-5.
91. Bokemeyer C, Berger C, Hartmann J, et al. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br J Cancer* 1998;77:1355-62.
92. Akyıldız N. Ototoksik İlaçlar. In: Akyıldız N (eds), *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi* (ed) Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2002, pp. 416-43.
93. Harris MS, Gilbert JL, Lormore KA, Musunuru SA, Fritsch MH. Cisplatin ototoxicity affecting cochlear implant benefit. *Otol Neurotol* 2011;32:969-72.

94. Knight KRG, Kraemer DF, Neuwelt EA. Ototoxicity in children receiving platinum chemotherapy: underestimating a commonly occurring toxicity that may influence academic and social development. *J Clin Oncol* 2005;23:8588-96.
95. Blakley BW, Gupta AK, Myers SF, Schwan S. Risk factors for ototoxicity due to cisplatin. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120:541-6.
96. Laurell G, Jungnelius U. High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *Laryngoscope* 1990;100:724-34.
97. Reddel RR, Kefford RF, Grant JM, et al. Ototoxicity in patients receiving cisplatin: importance of dose and method of drug administration. *Cancer Treat Rep* 1982;66:19-23.
98. Schaefer SD, Wright CG, Post JD, Frenkel EP. Cis-platinum vestibular toxicity. *Cancer* 1981;47:857-9.
99. Hinojosa R, Riggs LC, Strauss M, Matz GJ. Temporal bone histopathology of cisplatin ototoxicity. *Am J Otol* 1995;16:711-827.
100. Sluyter S, Klis SF, de Groot JC, Smoorenburg GF. Alterations in the stria vascularis in relation to cisplatin ototoxicity and recovery. *Hear Res* 2003;185:49-56.
101. Meech RP, Campbell KC, Hughes LP, Rybak LP. A semiquantitative analysis of the effects of cisplatin on the rat stria vascularis. *Hear Res* 1998;124:44-59.
102. Ocho S, Iwasaki S, Umemura K, Hoshino T. A new model for investigating hair cell degeneration in the guinea pig following damage of the stria vascularis using a photochemical reaction. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000;257:182-7.
103. Kopke R, Allen KA, Henderson D, et al. A radical demise. Toxins and trauma share common pathways in hair cell death. *Ann N Y Acad Sci* 1999;884:171-91.
104. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today* 2005;10:1313-21.
105. Watanabe K, Hess A, Michel O, Yagi T. Nitric oxide synthase inhibitor reduces the apoptotic change in the cisplatin-treated cochlea of guinea pigs. *Anticancer Drugs* 2000;11:731-5.

106. Clerici WJ, DiMartino DL, Prasad MR. Direct effects of reactive oxygen species on cochlear outer hair cell shape in vitro. *Hear Res* 1995;84:30-40.
107. Dehne N, Lautermann J, Petrat F, Rauen U, De Groot H. Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;174:27-34.
108. Bánfi B, Malgrange B, Knisz J, et al. NOX3, a superoxide-generating NADPH oxidase of the inner ear. *J Biol Chem* 2004;279:46065-72.
109. Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, et al. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech Ageing Dev* 1990;51:283-97.
110. DeWoskin RS, Riviere JE. Cisplatin-induced loss of kidney copper and nephrotoxicity is ameliorated by single dose diethyldithiocarbamate, but not mesna. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992;112:182-9.
111. Devarajan P, Savoca M, Castaneda MP, et al. Cisplatin-induced apoptosis in auditory cells: role of death receptor and mitochondrial pathways. *Hear Res* 2002;174:45-54.
112. Knight KR, Kraemer DF, Winter C, Neuwelt EA. Early changes in auditory function as a result of platinum chemotherapy: use of extended high-frequency audiometry and evoked distortion product otoacoustic emissions. *J Clin Oncol* 2007;25:1190-5.
113. Sockalingam R, Freeman S, Cherny TL, Sohmer H. Effect of high-dose cisplatin on auditory brainstem responses and otoacoustic emissions in laboratory animals. *Am J Otol* 2000;21:521-7.
114. Hatzopoulos S, Di Stefano M, Albertin A, Martini A. Evaluation of cisplatin ototoxicity in a rat animal model. *Ann N Y Acad Sci* 1999;884:211-25.
115. Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Evoked otoacoustic emissions as objective screeners for ototoxicity. *Semin Hear* 2001;22:377-92.
116. Kakigi A, Hirakawa H, Harel N, Mount RJ, Harrison RV. Comparison of distortion-product and transient evoked otoacoustic emissions with ABR threshold shift in chinchillas with ototoxic damage. *Auris Nasus Larynx* 1998;25:223-32.

117. Freitas MR, Silva VC, Brito GA, et al. Distortion-product otoacoustic emissions and auditory brainstem responses sensitivity assessment in cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Braz J Otorhinolaryngol* 2009;75:476-84.
118. Bayır Ö. Castellani solüsyonunun kobaylarda ototoksik etkisinin otoakustik emisyon ve beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri ile değerlendirilmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Tıp Uzmanlık Tezi* 2010;38-40.
119. Lopez Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. *J Pineal Res* 2000;28:73-80.
120. Hatzopoulos S, Stefano MD, Campbell K, et al. Cisplatin Ototoxicity in the Sprague Dawley Rat Evaluated by Distortion Product Otoacoustic Emissions. *Int J Audiol* 2001;40:253-64.
121. Oh SH, Yu WS, Song B-H, et al. Expression of heat shock protein 72 in rat cochlea with cisplatin-induced acute ototoxicity. *Acta oto-laryngologica* 2000;120:146-50.
122. Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Combined oral delivery of ebselen and allopurinol reduces multiple cisplatin toxicities in rat breast and ovarian cancer models while enhancing anti-tumor activity. *Anticancer Drugs* 2005;16:569-79.
123. Ekborn A, Hansson J, Ehrsson H, et al. High-dose Cisplatin with amifostine: ototoxicity and pharmacokinetics. *Laryngoscope* 2004;114:1660-7.
124. Marina N, Chang KW, Malogolowkin M, et al. Amifostine does not protect against the ototoxicity of high-dose cisplatin combined with etoposide and bleomycin in pediatric germ-cell tumors: a Children's Oncology Group study. *Cancer* 2005;104:841-7.
125. Daldal A, Odabasi O, Serbetcioglu B. The protective effect of intratympanic dexamethasone on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;137:747-52.
126. Murakami A, Ashida H, Terao J. Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Lett* 2008;269:315-25.

127. Salucci M, Stivala L, Maiani G, Bugianesi R, Vannini V. Flavonoids uptake and their effect on cell cycle of human colon adenocarcinoma cells (Caco2). *Br J Cancer* 2002;86:1645-51.
128. Schülke E, Kamencic H, Zhao M, et al. Neuroprotection following fluid percussion brain trauma: a pilot study using quercetin. *J Neurotrauma* 2005;22:1475-84.
129. Schülke E, Kendall E, Kamencic H, et al. Quercetin promotes functional recovery following acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2003;20:583-91.
130. Selvakumar K, Bavithra S, Krishnamoorthy G, Venkataraman P, Arunakaran J. Polychlorinated biphenyls-induced oxidative stress on rat hippocampus: a neuroprotective role of quercetin. *ScientificWorldJournal* 2012;980314–24.
131. García-Saura MF, Galisteo M, Villar IC, et al. Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. *Mol Cell Biochem* 2005;270:147-55.
132. Sánchez M, Galisteo M, Vera R, et al. Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2006;24:75-84.
133. Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and kupffer cells. *Hepatology* 1998;27:1265-74.
134. Kang T-b, Liang N-c. Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of HL-60 leukemia cells. *Biochem Pharmacol* 1997;54:1013-8.
135. Choi EJ, Bae SM, Ahn WS. Antiproliferative effects of quercetin through cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer MDA-MB-453 cells. *Arch Pharm Res* 2008;31:1281-5.

EKLER

Ek 1. Tüm frekanslarda yapılan SNR ölçümlerini gösteren tablo

Denekler	pre2000	pre3000	pre4000	pre6000	pre8000	post2000	post3000	post4000	post6000	post8000
SF1 Sağ	7,3.0	7,0.0	6,1.0	6,2.0	4,7.0	6,2.0	8,1.0	3,8.0	7,5.0	5,9.0
SF1 Sol	6,9.0	7,2.0	7,1.0	13,9.0	15,8.0	11,7.0	6,6.0	4,1.0	6,8.0	7,2.0
SF2 Sağ	6,9.0	9,6.0	6,6.0	1,8.0	4,7.0	8,7.0	7,1.0	6,1.0	8,6.0	8,5.0
SF2 Sol	6,9.0	7,7.0	0,1.0	3,0.0	5,8.0	6,4.0	12,0.0	7,5.0	9,4.0	10,9.0
SF3 Sağ	9,6.0	13,4.0	10,5.0	9,2.0	7,9.0	6,6.0	10,2.0	6,9.0	6,8.0	4,1.0
SF3 Sol	7,3.0	12,1.0	13,6.0	8,3.0	6,2.0	13,6.0	6,8.0	11,7.0	12,2.0	7,2.0
SF4 Sağ	3,0.0	7,1.0	6,5.0	2,1.0	1,1.0	6,5.0	6,5.0	8,1.0	1,3.0	7,1.0
SF4 Sol	8,3.0	8,8.0	7,8.0	7,3.0	3,7.0	8,0.0	7,9.0	3,0.0	9,1.0	8,9.0
SF5 Sağ	-1,8.0	6,3.0	0,1.0	12,0.0	6,5.0	-0,6.0	9,4.0	2,0.0	7,0.0	8,2.0
SF5Sol	6,2.0	7,7.0	7,2.0	5,0.0	4,0.0	8,3.0	7,5.0	8,1.0	6,8.0	8,0.0
SF6 Sağ	2,0.0	7,0.0	5,4.0	6,0.0	7,0.0	7,8.0	10,2.0	8,5.0	8,9.0	8,6.0
SF6 Sol	1,9.0	6,8.0	9,4.0	12,7.0	7,1.0	6,8.0	11,2.0	7,1.0	10,4.0	14,0.0
SF7 Sağ	10,0.0	6,8.0	7,5.0	3,5.0	0,9.0	6,5.0	6,4.0	8,3.0	1,6.0	-1,7.0
SF7 Sol	6,4.0	7,3.0	3,3.0	4,1.0	3,8.0	7,5.0	7,0.0	4,1.0	3,7.0	3,0.0
SF8 Sağ	10,8.0	26,6.0	18,0.0	8,4.0	6,8.0	4,5.0	6,8.0	12,1.0	7,0.0	2,0.0
SF8 Sol	6,5.0	7,0.0	7,6.0	6,6.0	5,0.0	4,9.0	6,9.0	8,6.0	4,2.0	8,8.0
SİSPLATİN1 Sağ	7,1.0	6,2.0	2,2.0	3,0.0	-2,0.0	-6,4.0	-10,5.0	4,6.0	-6,2.0	-9,7.0
SİSPLATİN1 Sol	-3,1.0	7,1.0	6,8.0	-3,0.0	2,0.0	-4,2.0	7,0.0	1,3.0	-14,0.0	-6,5.0
SİSPLATİN2 Sağ	6,1.0	6,9.0	8,2.0	6,8.0	7,3.0	6,7.0	6,6.0	-8,5.0	-3,2.0	-4,9.0
SİSPLATİN2 Sol	6,4.0	6,7.0	6,8.0	9,0.0	7,1.0	6,1.0	6,2.0	-4,3.0	-14,7.0	-12,4.0
SİSPLATİN3 Sağ	9,1.0	9,1.0	9,6.0	18,7.0	11,3.0	-10,1.0	-0,1.0	-1,0.0	-2,4.0	-10,3.0
SİSPLATİN3 Sol	4,0.0	7,7.0	9,1.0	6,5.0	3,4.0	2,4.0	6,6.0	-4,1.0	-4,8.0	-2,7.0
SİSPLATİN4 Sağ	1,2.0	6,1.0	11,4.0	8,8.0	6,8.0	6,1.0	5,5.0	0,1.0	-6,7.0	-9,3.0
SİSPLATİN4 Sol	8,5.0	7,5.0	11,8.0	6,7.0	9,8.0	4,6.0	5,5.0	-3,2.0	-10,4.0	-10,6.0
SİSPLATİN5 Sağ	3,0.0	8,4.0	4,1.0	6,7.0	7,1.0	6,7.0	6,6.0	7,5.0	-4,9.0	-4,2.0
SİSPLATİN5 Sol	2,0.0	8,1.0	7,0.0	6,9.0	-2,9.0	0,4.0	6,4.0	5,3.0	-13,1.0	-11,4.0
SİSPLATİN6 Sağ	3,2.0	9,6.0	6,4.0	7,1.0	8,7.0	2,1.0	8,3.0	1,6.0	-5,2.0	-9,6.0
SİSPLATİN6 Sol	7,1.0	9,5.0	7,7.0	5,6.0	1,0.0	3,3.0	6,2.0	0,6.0	-3,6.0	-1,8.0
SİSPLATİN7 Sağ	6,1.0	6,5.0	7,3.0	8,5.0	5,1.0	-6,1.0	6,4.0	-14,8.0	-19,1.0	-4,7.0
SİSPLATİN7 Sol	1,2.0	6,5.0	6,7.0	6,7.0	4,2.0	-7,2.0	-6,1.0	-3,3.0	-9,6.0	-2,8.0
SİSPLATİN8 Sağ	5,4.0	9,1.0	5,5.0	9,5.0	6,7.0	-4,9.0	6,9.0	5,5.0	-6,7.0	-21,2.0
SİSPLATİN8 Sol	1,7.0	6,3.0	4,1.0	4,9.0	3,0.0	-2,6.0	6,6.0	-11,3.0	-11,8.0	-0,7.0
KUERSETİN1 Sağ	3,5.0	7,8.0	4,0.0	-8,9.0	-3,3.0	6,7.0	7,1.0	5,5.0	-1,7.0	-2,8.0
KUERSETİN1 Sol	7,8.0	7,3.0	6,9.0	-0,6.0	-1,0.0	8,4.0	7,6.0	6,8.0	4,3.0	1,0.0

KUERSETİN2 Sağ	6,9.0	8,4.0	23,8.0	32,1.0	34,1.0	6,2.0	10,5.0	18,0.0	29,7.0	31,6.0
KUERSETİN2 Sol	6,6.0	13,0.0	22,8.0	28,6.0	32,8.0	10,1.0	18,5.0	25,8.0	21,4.0	39,3.0
KUERSETİN3 Sağ	7,3.0	12,4.0	11,8.0	6,3.0	5,0.0	3,1.0	6,8.0	6,7.0	8,4.0	7,7.0
KUERSETİN3 Sol	3,7.0	6,1.0	7,1.0	10,1.0	4,9.0	2,4.0	5,6.0	4,9.0	6,6.0	6,8.0
KUERSETİN4 Sağ	-2,1.0	7,6.0	3,8.0	4,1.0	7,1.0	7,3.0	7,5.0	10,9.0	10,0.0	6,8.0
KUERSETİN4 Sol	4,5.0	6,8.0	3,6.0	6,7.0	7,2.0	6,2.0	6,5.0	8,8.0	8,3.0	6,6.0
KUERSETİN5 Sağ	6,7.0	6,4.0	-3,9.0	-13,6.0	-2,5.0	5,7.0	6,5.0	4,2.0	5,6.0	-3,2.0
KUERSETİN5 Sol	3,3.0	7,9.0	6,6.0	7,3.0	9,3.0	-1,1.0	6,8.0	6,1.0	6,1.0	6,8.0
KUERSETİN6 Sağ	4,0.0	6,9.0	7,3.0	6,8.0	-2,4.0	2,3.0	2,5.0	3,2.0	2,9.0	2,4.0
KUERSETİN6 Sol	6,5.0	6,9.0	3,1.0	4,2.0	2,1.0	7,1.0	1,3.0	7,6.0	6,5.0	-0,5.0
KUERSETİN7 Sağ	10,7.0	11,6.0	9,8.0	3,1.0	4,0.0	3,5.0	8,4.0	5,9.0	2,3.0	6,2.0
KUERSETİN7 Sol	9,9.0	12,3.0	7,4.0	1,2.0	1,8.0	6,1.0	8,5.0	8,7.0	2,0.0	2,7.0
KUERSETİN8 Sağ	7,3.0	10,2.0	12,0.0	6,1.0	4,3.0	6,4.0	8,5.0	12,7.0	7,7.0	5,5.0
KUERSETİN8 Sol	0,1.0	7,7.0	12,6.0	7,0.0	2,1.0	9,5.0	9,2.0	8,7.0	7,7.0	7,0.0
KUERSİPLATİ N1 Sağ	7,7.0	9,7.0	7,5.0	6,8.0	3,5.0	6,1.0	11,3.0	8,2.0	6,1.0	7,1.0
KUERSİPLATİ N1 Sol	7,7.0	13,2.0	6,1.0	7,0.0	3,2.0	9,0.0	6,5.0	7,9.0	2,7.0	8,9.0
KUERSİPLATİ N2 Sağ	6,6.0	9,5.0	6,2.0	6,2.0	6,2.0	6,1.0	6,5.0	8,5.0	0,1.0	6,1.0
KUERSİPLATİ N2 Sol	6,3.0	8,4.0	-5,1.0	-8,4.0	-4,1.0	6,5.0	7,6.0	-3,5.0	-1,7.0	-3,8.0
KUERSİPLATİ N3 Sağ	8,5.0	21,5.0	6,5.0	3,4.0	3,5.0	2,1.0	8,0.0	6,8.0	6,3.0	7,1.0
KUERSİPLATİ N3 Sol	17,3.0	19,1.0	9,6.0	7,6.0	10,1.0	7,1.0	6,6.0	6,4.0	7,8.0	6,3.0
KUERSİPLATİ N4 Sağ	-8,5.0	7,8.0	2,1.0	-3,1.0	3,1.0	3,3.0	7,1.0	7,0.0	-6,1.0	-3,3.0
KUERSİPLATİ N4 Sol	6,1.0	6,8.0	17,6.0	15,5.0	18,7.0	7,4.0	7,2.0	13,5.0	12,7.0	12,9.0
KUERSİPLATİ N5 Sağ	3,0.0	7,9.0	1,6.0	4,7.0	3,0.0	4,4.0	7,4.0	3,3.0	7,6.0	-2,5.0
KUERSİPLATİ N5 Sol	6,4.0	8,6.0	9,6.0	11,7.0	6,3.0	-2,7.0	6,8.0	7,6.0	-3,3.0	-1,1.0
KUERSİPLATİ N6 Sağ	-8,4.0	4,0.0	1,6.0	3,1.0	-2,8.0	-4,9.0	6,2.0	-3,0.0	5,2.0	-0,9.0
KUERSİPLATİ N6 Sol	4,0.0	8,6.0	6,0.0	4,9.0	3,2.0	0,7.0	7,8.0	4,5.0	-2,5.0	-4,4.0
KUERSİPLATİ N7 Sağ	5,0.0	0,6.0	4,9.0	8,0.0	11,0.0	-3,6.0	6,4.0	1,4.0	-3,9.0	8,0.0
KUERSİPLATİ N7 Sol	4,1.0	5,1.0	10,1.0	4,7.0	4,6.0	-1,9.0	2,5.0	5,5.0	-0,5.0	-4,2.0
KUERSİPLATİ N8 Sağ	4,0.0	6,3.0	0,3.0	-4,0.0	7,3.0	-0,5.0	4,5.0	5,5.0	1,3.0	-2,4.0
KUERSİPLATİ N8 Sol	-5,7.0	6,4.0	6,3.0	3,0.0	-11,2.0	-7,4.0	-6,1.0	3,5.0	-4,3.0	-8,7.0

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ramazan Gündoğdu'ya ait 'Ratlarda İntraperitoneal Yolla Uygulanan Kuersetin Hidrat'ın Sisplatin Ototoksitesisi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi' adlı çalışma, jürimiz tarafından Kulak Burun Boğaz ve Raş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza:

Başkan : *Ercühan Güneş*

İmza

Üye : *Yasar Üstü*

İmza

Üye : *Ayur Koçel Akın*

İmza

Üye : *prof İsmail Külahlı*

İmza

Üye : *Prof Dr. Mustafa Erkin*

İmza