

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN VE BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**CİSPLATİN'İN OLUŞTURDUĞU OTOTOKSİSİTE
ÜZERİNE CORTEXİN'İN KORUYUCU ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Orkun EROĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Turgut KARLIDAĞ**

**ELAZIĞ
2016**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Turgut KARLIDAĞ

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Şinasi Yalçın

Prof. Dr. Turgut Karlıdağ

Prof. Dr. İsmail Topçu

TEŞEKKÜR

Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik anlamda yetişmemde bana her türlü desteği sağlayan, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, kendilerinden çok şey öğrendiğim başta tez hocam Prof. Dr. Turgut Karlıdağ olmak üzere, Prof. Dr. Şinasi Yalçın'a, Prof. Dr. İrfan Kaygusuz'a, Prof. Dr. Erol Keleş'e teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmamda katkıları nedeni ile Üniversitemiz Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında görev yapan Yrd. Doç Dr. Tuncay Kuloğlu' na teşekkür ederim.

Çalıştığım sürede birlikte görev yaptığım asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire, sekreter, odyolog ve personellerine özellikle teşekkür etmek isterim.

Tüm yaşamım boyunca olduğu gibi asistanlık sürecimde de destek ve sevgilerini bir an olsun eksik etmeyen anne, baba, babaanne ve kardeşlerime, yaşadığım en zor ve meşakkatli günlerimde destek ve yardımlarını esirgemeyen, tüm zorluklara rağmen gerek tüm yaşamım boyunca gereksede uzmanlık sürecinde gösterdiği sonsuz anlayış ve inanılmaz fedakarlarından dolayı değerli eşim Dr. Yeşim Eroğlu' na minnettarım ve hepsine ayrı ayrı teşekkür etmek isterim. Yaptığı yaramazlıklarla çalışmalarımı sabote eden hayatımın en değerli varlığı, geleceğimizin teminatı sevgili oğlum Muhammed Ali Eroğlu' nu özellikle anmak ve teşekkür etmek isterim.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı güçlü bir antineoplastik olarak kullanılan cisplatinin majör yan etkilerinden olan ototoksisiteye karşı cortexinin koruyucu etkisinin olup olmadığını değerlendirmektir.

Çalışma ağırlıkları 200–240 gr arasında değişen sağlıklı erişkin 30 Wistar Albino cinsi sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Denekler rastgele onarlı üç gruba ayrıldı. Grup I'e (Kontrol grubu) intraperitoneal (i.p) saline solüsyonu 1 ml/gün, Grup II'ye (Cisplatin grubu) i.p Cisplatin iki gün süreyle 10 mg/kg'lık dozlarla toplamda 20 mg/kg, Grup III' e (Cisplatin + Cortexin grubu) i.p Cisplatin iki gün süreyle 10 mg/kg'lık dozlarla toplamda 20 mg/kg ve ek olarak i.p Cortexin 2 mg/gün yedi gün süreyle uygulandı. Çalışma öncesi tüm deneklere ABR ve DPOAE testleri yapıldı. Çalışmanın 4. gününde tüm deneklere ABR ve DPOAE testleri tekrarlandı ve sonrasında her gruptaki deneklerin yarısı dekapite edilerek kokleaları histopatolojik değerlendirme için çıkarıldı. Çalışmanın 8. gününde kalan deneklerin ABR ve DPOAE testleri tekrarlandı ve sonrasında dekapitasyon işlemi yapılarak kokleaları histopatolojik olarak değerlendirildi.

Yapılan ABR testi sonucunda tüm grupların 0. gündeki ortalama işitme eşikleri benzerdi. Çalışmanın 4. ve 8. gününde yapılan ABR testinde, II. ve III. gruplarda ortalama işitme eşiklerinde I. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yükselme izlendi ($p<0.05$) ancak çalışmanın 4. gününde II. ve III. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmedi. Çalışmanın 8. gününde grup II ile grup III' ün ortalama işitme eşikleri karşılaştırıldığında grup III' ün işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük izlendi ($p<0.05$). DPOAE testi sonucunda çalışma öncesi döneme göre çalışmanın 4. ve 8. günlerinde grup II ve grup III de emisyon değerlerinde kayıp izlendi. Grup II ile grup III birbiriyle kıyaslandığında emisyon kaybı çalışmanın 8. gününde daha fazla olmak üzere her iki dönemde de grup II de daha fazlaydı. Histopatolojik bulgularda, elektrofizyolojik bulguları destekleyecek şekilde, apoptozisin grup II de daha fazla olduğunu gösterdi.

Çalışmamızda yapılan elektrofizyolojik testler ve histopatolojik bulgulara göre çalışma öncesi dönemle kıyaslandığında grup II ve grup III te ototoksik etkilerin olduğu ancak bu etkilerin grup III de daha az olduğu görüldü. Bu bulgular cortexinin

sisplatin ototoksitesine karşı koruyucu etkilerinin olduğu ve ototoksik ilaç uygulamalarında ototoksiteden korunmak için cortexinin bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ototoksisite, sislantin, cortexin



ABSTRACT

THE PROTECTIVE EFFECT OF CORTEXIN ON THE CISPLATIN OTOTOXICITY

The aim of this study is to evaluate whether Cortexin has a protective effect against the ototoxicity, one of the major side effects of the cisplatin which is used as a potent antineoplastic.

The study was performed on 30 healthy adult Wistar Albino rats whose weights are ranging from 200 to 240 g. The subjects were divided randomly into three equal groups of ten each. Group I (Control Group) was applied 1 ml/day dose of intraperitoneally (i.p.) saline solution while Group II (Cisplatin Group) was a total of 20 mg/kg of i.p. Cisplatin in 10 mg/kg doses for two days and Group III (Cisplatin + Cortexin Group) was applied i.p. Cisplatin a total of 20 mg/kg of i.p. Cisplatin in 10 mg/kg doses for two days in addition to 2 mg/day of i.p. Cortexin for seven days. Before study, all subjects underwent ABR and DPOAE testing. In the 4th day of the study, the ABR and DPOAE tests were repeated on all of the subjects and then, half of the subjects in each group were decapitated and their cochleas were removed for histopathological evaluation. In the 8th day of the study, the ABR and DPOAE tests were repeated on the remaining subjects and subsequently, these subjects were also decapitated and their cochleas were histopathologically evaluated.

In conclusion of the ABR test performed, the average hearing threshold of all groups were found to be similar on the 0th day. In the ABR test performed on the 4th and 8th day of the study, a statistically significant increase was observed in the average hearing thresholds of the Groups II and III compared to Group I ($p < 0.05$), however, no statistically significant difference was observed between the Groups II and III on the 4th day of the study. On the 8th day of the study, a statistically significant decrease was observed in the average hearing thresholds of Group III compared to Group II ($p < 0.05$). On the 4th and 8th days of the study, a loss was found in the emission values of Group II and Group III compared to the pre-study period, as a result of the DPOAE test. When Group II and Group III were compared with each other, it was found that the emission loss was higher in Group II in both periods, with a higher rate on the 8th day of the study. The histopathological findings

also showed a higher apoptosis in Group II in a way to support the electrophysiological data.

According to the histopathological findings and electrophysiological tests conducted within our study, it was seen that there were ototoxic effects in Group II and Group III compared to the pre-study period, however, such effects were fewer in Group III. These findings show that Cortixin has protective effects against the cisplatin ototoxicity and suggest that Cortixin may be an alternative for protecting from ototoxicity in ototoxic drug applications.

Key Words: Ototoxicity, Cisplatin, Cortixin



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	I
ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLO LİSTESİ	X
ŞEKİL LİSTESİ	XI
KISALTMALAR LİSTESİ	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	3
1.1.1. İç Kulak Gelişimi	3
1.1.2. Kulak Anatomisi	5
1.1.3. İç Kulak Histolojisi	12
1.1.4. İç Kulak Fizyolojisi	16
1.1.5. Santral İşitme Yolları	16
1.1.5.1. VIII. Kranial Sinir	16
1.1.5.2. Koklear nükleuslar ve Akustik stria	17
1.1.6. İşitme Fizyolojisi	20
1.1.7. Sıçan Kulağı Anatomisi	25
1.1.8. Ototoksisite	27
1.1.9. Sisplatin	28
1.1.10. Cortexin	29
1.1.11. Ototoksisitenin Odyolojik Monitorizasyonu	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	33
2.1. Deney Hayvanları	33
2.2. Gruplar	34
2.3. İşitmenin Değerlendirilmesi	34
2.4. Histopatolojik Değerlendirme	36
2.5. İstatistiksel Analiz	37

3. BULGULAR	38
3.1. İşitmenin Değerlendirilmesi	38
3.1.1. ABR Bulguları	38
3.1.2. DPOAE Bulguları	39
3.2. Histopatolojik Bulgular	40
4. TARTIŞMA	47
5. KAYNAKLAR	54
6. ÖZGEÇMİŞ	67



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. ABR testinde işitme eşiği ortalamaları	38
Tablo 2. DPOAE test sonuçları	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 3. Gruplar arası Apoptotik indeks (AI) değerleri	43
Tablo 4. Histopatolojik değişiklikler	46
Tablo 5. Histopatolojik değişiklikler baz alınarak yapılan histoskorlama	46



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Kulak yapılarının koronal kesiti	6
Şekil 2.	Korti organının ince yapısı	13
Şekil 3.	Sıçan orta kulağı. Lateralden timpanik membran kaldırılmış halde	26
Şekil 4.	Sedatize edilen deneklere otomikroskopik muayene yapılışı	34
Şekil 5.	Sedatize edilen deneklere cilt altı elektrot uygulanması ve ABR ölçümü	35
Şekil 6.	Sedatize edilen deneklere DPOAE yapılması	36
Şekil 7.	Kontrol grubunda TUNEL pozitifliği izlenmedi.	40
Şekil 8.	Sisplatin grubu 4.günde TUNEL pozitif hücreler	41
Şekil 9.	Corteksin grubu 4.günde TUNEL pozitif hücreler	41
Şekil 10.	Sisplatin grubu 8.günde TUNEL pozitif hücreler	42
Şekil 11.	Corteksin grubu 8.günde TUNEL pozitif hücreler	42
Şekil 12.	Kontrol grubunda normal görünümlü korti organı.	43
Şekil 13.	Sisplatin grubu 4. Günde hafif derecede ödem ve konjesyon	44
Şekil 14.	Corteksin grubu 4.günde hafif derecede ödem ve konjesyon	44
Şekil 15.	Sisplatin grubu 8. Günde konjesyon, dokuda ayrılma ve bozulmalar ile spiral gangliyon hücrelerinde ödem ve vakuolizasyon.	45
Şekil 16.	Corteksin grubu 8.günde spiral gangliyon hücrelerinde hafif derecede ödem ve vakuolizasyon	45

KISALTMALAR LİSTESİ

A.İ	: Apoptotik İndeks
ABR	: İşitsel Beyinsapı Yanıtı
AMPA	: α -Amino -3-Hidroksi-5-Metilisoksazol-4-Propionik Asit
ATP	: Adenozin Trifosfat
dB	: Desibel
DKY	: Dış Kulak Yolu
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPOAE	: Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon
DTH	: Dış Tüylü Hücre
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
GR	: Glutamat Reseptör
HO-1	: Hemoksijenaz -1
HSP	: Heat Shock Protein
Hz	: Hertz
i.p	: İntraperitoneal
i.t.	: İntratimpanik
İAK	: İnternal Akustik Kanal
İK	: İnfeior Kollikulus
iNOS	: Inducible NOS
İTH	: İç Tüylü Hücre
JNK-1	: c – Jun N- terminal kinaz 1
KA	: Kainat
L-NAME	: NG-nitro-L-arginine methyl ester
LSO	: Lateral Süperior Olive
MSO	: Medial Süperior Olive
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
OAE	: Otoakustik Emisyon

ÖT	: Östaki Tüpü
PARP-1	: Poli (ADP- riboz) polimeraz-1
ROÜ	: Reaktif Oksijen Ürünleri
s.c	: Subkutan
SNR	: Signal to Noise
SOAE	: Spontan Otoakustik Emisyon
SOK	: Süperior Olivary Kompleks
TEOAE	: Geçici Uyarılmış Otoakustik Emisyon
TM	: Timpanik Membran
YFO	: Yüksek Frekans Odyometri

1. GİRİŞ

Ototoksisite, kimyasal maddelerle veya çeşitli terapötik ajanlarla karşılaşma sonucu vestibuler ve koklear organda ortaya çıkan hasarlanma için kullanılan genel bir terimdir (1). Günümüzde işitme kaybı ve denge bozukluğuna yol açan önemli nedenlerden biride ototoksisitedir. Ototoksisite semptomları, tedavi ajanlarının uzun süreli klinik kullanımları sonrasında ortaya çıkmaktadır. Bu ajanların kullanımları sırasında ototoksik etkilerinin olabileceği göz önünde bulundurularak, ototoksisiteyle ilgili her türlü bilgiye ulaşılmaya çalışılmalıdır (2-4). Günümüzde, ototoksisiteye neden olduğu bilinen ajanlar ana başlıklar halinde antibiyotikler, antineoplastik ajanlar, diüretikler, antiinflamatuvarlar, şelat yapıcı ajanlar, antimalaryal ilaçlar, ototropik ilaçlar ve diğerleri şeklinde sıralanabilir. Ototoksik maddelere bağlı olarak meydana gelen başlıca semptomlar kulak çınlaması, işitme kaybı ve baş dönmesidir (5,6).

Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum II) baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu, over, solid testis, prostat, mesane, serviks tümörleri ve küçük hücreli olmayan akciğer karsinomları gibi pek çok malign hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili bir antineoplastik ajandır (7). Bununla birlikte cisplatinin; ototoksisite, nefrotoksisite, gastrointestinal toksisite, myelotoksisite ve periferik nöropati gibi ciddi yan etkilerinin olması bu ajanın klinik kullanımını kısıtlamaktadır. Doz sınırlayıcı major yan etkiler özellikle nefrotoksisite ve ototoksisitedir (8). Cisplatinin ototoksik etkisi progresif, tinnitusunda olduğu, irreversible, bilateral yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ile karakterizedir. Ototoksisite insidansını etkileyen faktörler arasında uygulama şekli, yaş, serum protein seviyeleri, kümülatif doz, diyet faktörleri, genetik faktörler ve kranial radyoterapi öyküsü yer almaktadır (7, 8). Cisplatin, kokleadaki dış tüylü hücrelerde bazalden apeks doğru progresif bir hasara neden olur. Bununla birlikte iç tüylü hücrelerde de sporadik bir destrüksiyon meydana gelir. Cisplatin ototoksisitesi yalnızca tüylü hücrelerle sınırlı kalmaz ve stria vaskulariste atrofi, reissner membranının kollapsı ve corti organındaki destek hücrelerinin de hasarını içerir (9). Cisplatinin ototoksik yan etkisi, DNA'ya bağlanarak apoptozise neden olması ve inflamatuvar kaskad yolağının aktivasyonu ile hücrede oksidatif stres oluşturması ile gerçekleştiği düşünülmektedir

(10). Oksidatif stres sonrası oluşan reaktif oksijen ürünleri, koklear dokularda koruyucu olarak görev alan antioksidan moleküllerini tüketirken, lipid peroksidasyonuna olanak sağlayarak aldehid, malandialdehid, toksik lipid peroksidaz düzeylerini arttırmaktadırlar (11). Ayrıca sisplatin kalsiyumun hücre içine akışını da arttırıp koklear hücrelerde apoptozis gelişimine yol açarlar (11-13). Hücre hasar mekanizmalarından esas olarak etkilenen hedef bölgeler corti organında bulunan tüylü hücreler, spiral ganglion hücreleri ve lateral duvardır (stria vaskularis ve spiral ligament) (10).

Günümüzde yaygın olarak sisplatinin ototoksik etkisinin gelişiminde platinyum – DNA ürünlerinin veya reaktif oksijen radikallerinin başlattığı apoptozis mekanizmaları suçlanmış olsada sisplatin ototoksitesinin patofizyolojisi hala tam olarak ortaya konulamamıştır. Literatürde sisplatin ototoksitesinin muhtemel nedenleri ve bu ototoksiteden koruyucu olabilecek ajanları araştırma amaçlı birçok çalışmaya rastlanmaktadır. Literatürde sisplatin ototoksitesinden koruyucu amaçlı olarak antioksidanlar, antiapoptotik ajanlar, antiinflamatuvarlar, kalsiyum kanal blokerleri, kaspaz inhibitörleri ile ilgili çalışmalarda bulunmaktadır. Ancak halen bu konuda, rutin kullanıma girmiş bir ajan ortaya konulamamıştır.

Cortexin 1999'dan beri klinik kullanıma girmiş sığır beyninden elde edilen bir polipeptittir. Molekül ağırlığının düşük olması (7 kilodalton) kan beyin bariyerini geçmesine izin verir. Cortexin, eksitator ve inhibitör aminoasit nöromediatörleri içerir. Cortexin'in etki mekanizması kendi metabolik etkinliği ile ilişkilidir. GABA-erjik etkisi vardır eksitator ve inhibitör aminoasit dengesini, serotonin ve dopamin seviyesini düzenler, beyinde antioksidan aktivitesi ve bioelektriksel aktiviteyi düzenleyici etkisi vardır. Pilot çalışmalarda hemorajik ve iskemik felçlerde cortexin alan hastalarda tedavinin 5. gününden başlayarak nörolojik belirtilerde düzelme görülmüştür. Hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 3-7 gün gibi erken dönemde cortexin tedavisi alanların etkilenen fonksiyonlarının geri kazanımının arttığı görülmüştür. Tedaviye mümkün olduğunca çabuk başlandığında cortexinin nöron koruyucu etkisi daha belirgindir (14).

Cortexin peridontal hastalığı olanların nöroprodektif tedavisinde trigeminal sinir nörofizyolojisini normalize etmiş ve peridontal dokularda inflamatuvar sürecin daha hızlı düzelmesini sağlamıştır. Kronik peridontal hastalığı olanlarda cortexin

uygulamasý sonrasında toparlanma 1,5-2 kat hızlı olmuř ve remisyon süresinde uzama görölmüřtür (15).

Günümüzde onkolojik alanda oldukça yaygın kullanılan sisplatinin olası yan etkilerinden koruyabilecek ideal bir ajan bulunmamaktadır. Çalışmamızda ratlarda cisplatinle oluşturulmuş ototoksitenin önlenmesinde eş zamanlı uygulanan cortexinin koruyucu etkinliğinin olup-olmadığının işitsel ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. İç Kulak Gelişimi

Kulak, temporal kemik içinde yer alan işitme ve denge fonksiyonlarını yapan bir organdır. Kulak birbirinden farklı olan üç ayrı anatomik yapıdan oluşur. Bunlar:

1. Dış kulak
2. Orta kulak
3. İç kulak

Kulağın bu üç farklı bölümlerinin embriyolojik gelişimi, üç farklı yerden ve üç farklı germ yaprağından oluşmaktadır. İç kulak ektodermden gelişirken, dış kulak yolu ve orta kulak sindirim ve üst solunum sisteminin geliştiğı brankial yarık ve ceplerden gelişir. Orta kulak birinci brankial cepten gelişirken dış kulak ise birinci brankial yarıktan gelişir. Bu nedenle iç kulak gelişime bozuklukları ile dış ve orta kulak gelişme bozuklukları birbirinden farklı sonuçlar doğurur (2).

İç kulak nöronal dokular gibi ektodermden geliştiğı için damarlanması ve gelişmesi beyin gelişmesi gibi düşünülmelidir. İlerleyen yaşla birlikte sıklığı artan ve intrakraniyal mikrosirkülasyonu bozarak beyni etkileyen pek çok hastalık iç kulağı da etkiler. Benzer şekilde doğumsal ya da nörolojik hastalıklar sensörinöral işitme kayıpları ile birlikte görülebilir.

Kulağın diğeri bölümlerine göre iç kulak daha erken gelişmeye başlayan kısımdır. Yüzey ektodermin kalınlaşması sonucu dördüncü hafta başlarında optik plak oluşur. Bu oluşum notokord ve paraksiyal mezodermden gelen uyarılarla sağlanır. İki otik plak yüzey ektodermden içe doğru kıvrım yapar ve altındaki mezenşimin derinlerine girerek otik çukuru oluşturur. Yüzey ektodermi ile bağlantısı

kesilen otik keseden bir divertikül gelişip uzar ve endolenfatik kanal ve keseyi oluşturur. Böylece otik kesenin iki bölgesi tanımlanabilir (16):

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

İşitme organının gelişmesi

Altıncı haftada koklear kanal gelişimi başlar. Koklear kanal sakkulusun alt ucunda divertikül yapısında gelişir ve spiral biçiminde kıvrılarak membranöz kokleayı oluşturur. Kokleanın birinci turu yedinci haftada oluşur. Sekizinci haftanın sonunda iki buçuk turu tamamlanmış olur. Bu dönemde koklea ile sakkulus arasındaki “ductus reuniens” adı verilen bağlantı oluşur. Spiral organ koklear kanal duvarındaki hücrelerden farklılaşarak gelişir. Sekizinci kranial sinirin ganglion hücreleri membranöz koklea boyunca göç ederek spiral gangliyonu oluştururlar (koklear gangliyon). Sinir uzantıları bu gangliyondan tüylü hücrelerde sonlanmak üzere spiral organa uzanırlar. Spiral gangliondaki bu hücreler bipolar yapılarını korurlar (16).

Otik kesenin uyarıcı etkileri beşinci haftanın ortasında otik kese çevresindeki mezenşimin yoğunlaşip kıkırdak otik kapsüle dönüşmesini sağlar. Bu yoğunlaşma altıncı haftanın başında tamamlanır. Ancak yoğunlaşma endolenfatik kanal bölgesinde görülmez. İç kulak yoluna denk gelen bir bölge de yumuşak kalır; buradan ikinci kranial sinir geçecektir. Yoğunlaşmayla birlikte mezenşimal doku değişir, yedinci haftada prekartilaj gelişir ve birkaç gün sonra gerçek kıkırdak dokusu oluşur. İç kulağın kemik labirenti kıkırdağımsı otik kapsülün zamanla kemikleşmesiyle oluşur.

Kıkırdak yapının gevşek yapıda olması sebebiyle membranöz labirentin gelişmesi engellenmez. Membranöz labirent genişledikçe kıkırdak otik kapsülde vakuoller gelişir ve bunlar daha sonra birleşerek perilenfatik aralığı oluşturur. Kokleadaki perilenfatik aralık iki bölümde gelişir: skala timpani ve skala vestibüli.

Skalalar önce yuvarlak (skala vestibüli), daha sonra oval pencerede (skala timpani) ortaya çıkar. Skalalar basiller membranın her iki etrafında gelişmeye

başlarlar. Bu gelişmeyle beraber zamanla koklear kanalda skala vestibüliye bakan tarafta membrana vestibularis (Reissner zarı), skala timpaniye bakan tarafta ise membrana basillaris oluşur. Koklear kanalın dış duvarı ile otik vezikül çevresindeki mezenkim dokusundan gelişen kıkırdak otik kapsül taslağı arasında kalan mezenşim dokusundan spiral koklear ligament gelişir. Koklea içindeki otik vezikülün içerisinde yer alan mezenşimden kıkırdak modiolus gelişir ve çevrede oluşan kıkırdak otik kapsül ile birleşir (16).

Corti organı bazal turdan apekse doğru gelişim gösterir. Corti organı koklear kanal duvarındaki hücrelerden gelişir. Kokleanın epitel başlangıçta her yerde aynıdır ancak zamanla membrana bazillarisin epitelinde farklılaşma gelişir ve dış ve iç kristalar ortaya çıkar. İç krista kokleanın merkezinde yer alır, sonradan limbus spiralsi oluşturur. Dış kristadan ise iç ve dış hücre sütunları gelişir. İç sütun bir sıra epitel hücresinden meydana gelir ve buranın gelişmesi ile iç sulkus oluşur. Dışta kalan 3-4 sıra epitel hücresinden ise Corti organı gelişir. Her iki sütun hücrelerinden pelte biçiminde sıvı salgılanarak tektorial membran gelişir.

Sekizinci haftada gelişmeye başlayan stria vaskularis yirminci haftada gelişmesini tamamlar. Yirmiikinci haftada destek hücreleri, Hensen hücreleri, iç titreli tüylü hücreler ve dış titreli tüylü hücreler oluşur.

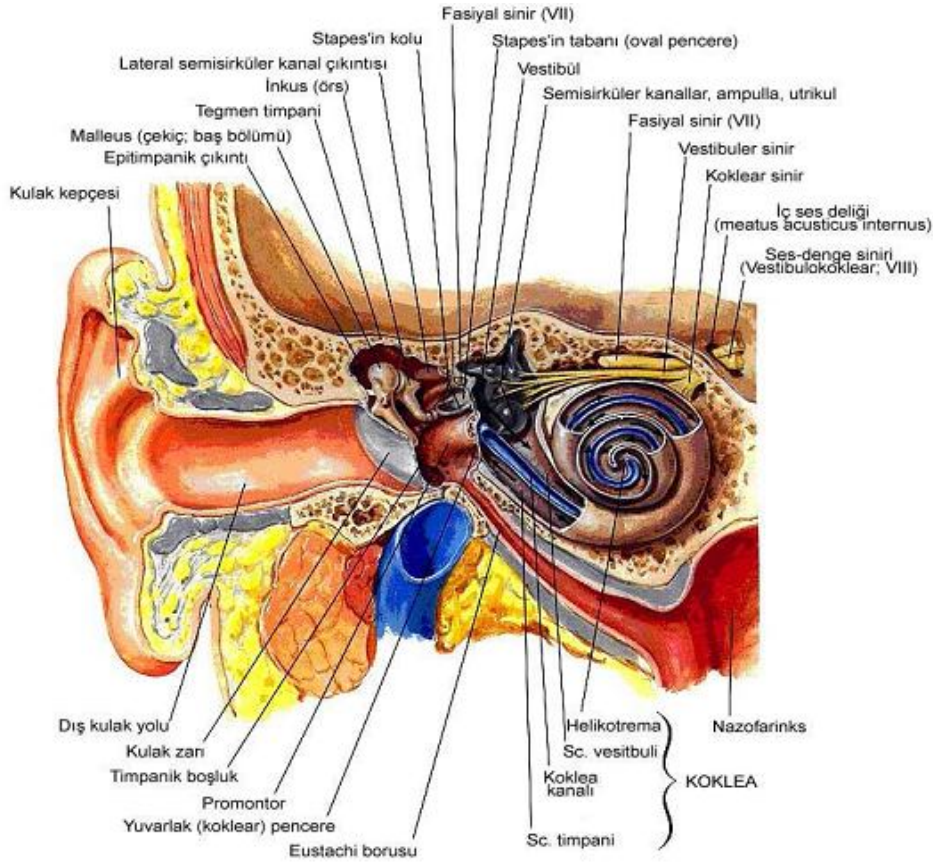
Otik plağın içe çökmesiyle oluşan nöral oluğun her iki tarafında akustikofasial tümsek açığa çıkar ve burdan akustikofasial ganglion gelişir. Bu bölge, alt ve üst diye ikiye ayrılır; altta bulunan kısımdan ise n. vestibularis inferior, üstte bulunan kısımdan ise n. vestibularis superior doğar. Koklear sinir sekizinci kranial sinirin alt kısmının kalınlaşması meydana gelir.

İç kulağın erişkin boyut ve şekline ulaşması fetal dönemin ortalarına (20-22. hafta) denk gelir (16).

1.1.2. Kulak Anatomisi

Kulak işitme ve denge organı olup, temporal kemik içine yerleşmiştir (Şekil 1). Görevleri ve yapıları bakımından birbirinden farklı üç parçadan oluşur.

1) Dış Kulak 2) Orta Kulak 3) İç Kulak



Şekil 1. Kulak yapılarının koronal kesiti (17)

Dış Kulak

Dış kulak üç kısma ayrılır; Kulak kepçesi (aurikula), dış kulak yolu (meatus akusticus eksternus) ve kulak zarı (timpanik membran-TM). Kulak kepçesi, ince elastik kartilajın üzerini perikondrium ve derinin örtmesi ile oluşan bir yapıdır. Deri, dış kulak yolu (DKY) kıkırdağı, kas ve bağlar vasıtasıyla kafatasına yapışmıştır.

Kulak zarının oblik yerleşmesi nedeniyle DKY'nun uzunluğu, arka duvarda 25 mm, ön alt duvarda 31mm'dir. DKY, 1/3 dış kısmı kıkırdak ve 2/3 iç kısmında kemik olmak üzere iki parçadan oluşur. DKY'nu örten deride serümen, yağ ve tez bezleri vardır. Kemik kısımda ise deri oldukça ince olup periostun üzerini örter ve bu kısım serümen, kıl ve yağ bezleri içermez.

Kulak zarı, orta kulak boşluğunu DKY'dan ayıran ve DKY'nun sonunda yer alan bir perdedir. Ortalama kalınlığı 0,074 mm olup vertikal uzunluğu 9–10 mm, horizontal uzunluğu 8-9 mm'dir. Kulak zarı dış yüzde DKY derisinin devamı olan kutanöz tabaka, iç yüzde orta kulak mukozasının devamı olan mukozal tabaka ve arada fibröz tabaka olmak üzere üç ayrı tabakadan oluşur. Kulak zarı sulkus

timpanikus içine diğer adı Gerlach halkası olan annulus fibrosus ile sabitlenmiştir. Annulus üstte anterior ve posterior malleolar ligamanlarla devam ederek tam bir halka değildir. Bu ligamanların üstünde kalan gevşek kısmına pars flaksida (Schrapnell zar), alttaki gergin kısmına da pars tensa adı verilir. Kulak zarının büyük kısmını pars tensa oluşturur ve ses dalgaları ile titreşen kısım burasıdır.

Orta kulak

Orta kulak, kulak zarı ile kemik labirent arasında yer alır. Orta kulak östaki borusu aracılığı ile dış ortamla, aditus yolu ile mastoidin havalı boşlukları ile bağlantısı olan, mukoz membranlarla örtülü bir alandır. Ortalama hacmi 0,5 cm³ kadardır. Orta kulak boşluğunun 6 duvarı vardır (2,18).

1- Üst duvar (Tegmen tympani): Orta kranial fossa ile komşudur ve epitimpaniumun tavanını oluşturur.

2- Alt duvar: Juguler bulbus ve juguler ven ile komşuluk yaparak hipotimpanumun tabanını oluşturur.

3- Arka duvar: Mastoid bölge ile ilişkilidir. Ayrıca stapes kası ve stapes tendonunun yapıştığı eminentia pyramidalis, fasial sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösterir ve hemen lateralinden chorda tympani siniri orta kulak boşluğuna girer. Eminentia pyramidalis ile chorda tympani arasında recessus facialis vardır. Eminentia pyramidalis medialinde sinus tympani bulunur. Recessus facialis'in arka üstünü sınırlayan fossa inkudis içerisinde inkus kısa kolu yer alır.

4- Ön duvar: Östaki borusu, tensör timpani kası ve karotis internanın yaptığı çıkıntı bulunur.

5- İç duvar: Promontoryum ile komşuluk gösterir.

6- Dış duvar: Yukarıdan aşağıya doğru skutum, kulak zarı ve hipotimpanum olmak üzere üç kısma ayrılır.

Orta kulak boşluğunda üç adet hareketli kemikçik vardır. Kemikçikler orta kulak boşluğunun üst ve arka kısmında yer alırlar ve bu boşluğa bağlarla tutunurlar (2). En büyük kemikçik Malleus adını alır. Malleus baş, boyun ve üç çıkıntından (manibrium mallei, anterior ve lateral çıkıntılar) oluşur. Manibrium mallei parçası ile kulak zarına yapışır. Malleusun üç adet asıcı ligamenti bulunur: Anterior malleolar, lateral malleolar ve superior malleolar ligament. İnkus, iki koldan ve bir gövdeden oluşur. İnkusun gövde kısmı malleus ile uzun kolu ise stapes ile eklem yapar. Medial

ve lateral inkudomalleolar ligamanlar inkus gövdesini malleus başına bağlar. Aynı zamanda vücudun en küçük kemiği olan stapes; baş, boyun, taban ve iki bacadan oluşur. Stapes tabanı ligamentum annulare ile oval pencereye yapışır.

Kemikçiklere yapışan kaslar ise m.tensor tympani ve m.stapedius'tur. Tensör timpani kası kasıldığı zaman manibriumu içe ve arkaya çekerek kulak zarını tesbit eder ve trigeminal sinir tarafından innerve edilir. Stapes kas tendonu, eminentia pyramidalis'den çıkar ve stapesin başına yapışır. Stapes kası kasıldığında yüksek şiddetteki seslerin iç kulağa geçişini engelleyerek koruyucu mekanizmaya yardımcı olur ve fasial sinir tarafından innerve edilir (18).

Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlayan ve nazofarenkse doğru anteroinferolateral seyir gösteren, huni şeklinde bir yapıdır. Çocuklarda daha düz ve kısa bir seyir gösterir. Orta kulak tarafında kalan posterolateral 1/3 kısmı kemik, nazofarenks tarafındaki 2/3 anteromedial kısmı ise kıkırdaktan oluşur. Östaki tüpünün açılıp kapanmasından m. tensör veli palatini, m. levator veli palatini ve m. salpingopharyngeus sorumludur (18).

İç Kulak

İç kulak, temporal kemiğin petröz bölümüne yerleşen işitme ve denge ile ilgili reseptörlerin bulunduğu kısımdır. İşitme ve denge organlarını içerir. İç kulak yuvarlak ve oval pencereler aracılığıyla orta kulakla, koklear ve vestibüler akuaduktuslar aracılığı ile kafa içiyle bağlantılıdır. Kemik (osseöz) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki bölümden oluşur (2, 18).

Kemik (osseöz) labirent: Kemik labirenti otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik yapısı oluşturur. Zar labirent bu kemik dokunun içinde yer almaktadır. Aralarında perilyf sıvısı bulunmaktadır (19, 20).

Kemik labirent şu bölümlerden oluşur:

1. Vestibulum
2. Kemik semisirküler kanallar
3. Koklea
4. Akuaduktus vestibuli
5. Akuaduktus koklea

Zar (membranöz) labirent: Zar labirent kemik labirentin içinde aynı şekilde bulunan ancak onu tamamen doldurmayıp kemik labirentin 1/3 kısmını doldurur.

Zar labirent şu kısımlardan oluşur:

1. Utrikulus
2. Sakkulus
3. Duktus semisirkularis
4. Duktus endolenfatikus
5. Duktus perilenfatikus
6. Duktus koklearis
7. Korti organı

Kemik (osseöz) labirent

Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid bir bölümdür. Yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla dış yan duvarı timpanik kaviteye; ön duvarı ise kokleaya komşudur. İç yan duvarda ön altta sakkulus'un yerleştiği spherical resess ile komşuluk yaparken arka üstte ise utrikulus'un yerleştiği eliptical resess bulunur. Üst ve arka duvarda semisirküler kanallarla birleşir (19).

Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior ve lateral olmak üzere üç adet semisirküler kanal bulunmaktadır. Bunların hepsi vestibulum'a açılır. Bu kanallar yaklaşık olarak dairenin 2/3'ü kadardır.

Koklea: Şeklen salyangoza benzeyen, iç kulağın ön kısmında bulunan kemik tübüler yapıdır. Modiolus, kanalis spiralis koklea ve lamina spiralis ossea kısımlarından oluşur. Kokleanın eksenini modiolus oluşturur. Modiolus içindeki ince kanallardan kokleaya ait damarlar ve VIII. kranial sinirin lifleri geçer. Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral kanalı adı da verilen Rosenthal kanalına açılırlar. Bu kanalın içinde ganglion spirale adı verilen Korti ganglionu yer alır. Canalis spiralis koklea, modiolusun çevresini iki buçuk defa spiral şeklinde dolanan kemik bir yapıdır. Bu yol, vestibulun ön alt kısmından başlar kupula adı verilen kapalı bir uçla sonlanır. Lamina spiralis ossea, modiolustan uzanan kemik bir yapıdır. Bu lamina ilerleyerek fibröz bir tabaka halini alır ve bunada baziler membran adı verilir. Bu lamina karşı duvara ulaşarak canalis spiralis kokleayı ikiye böler. Lamina spiralis ossea'nın serbest kenarı ile canalis spiralis kokleanın dış yan duvarı arasındaki baziller membranın üzerinde, korti organı (organum spirale) adı verilen işitme organı bulunur. Vestibulum'a açılan üst parçaya skala vestibuli,

fenestra koklea aracılığıyla cavum timpaniye açılan alt parçaya skala timpani denir. Bu iki skala kokleanın tepesinde helikotrema denilen delikle birleşir.

Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan kenarından başlayıp petröz kemiğin fossa subarkuata denilen bölümünde sonlanır. Bu kanalın içinde duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus vardır (3, 19).

Aquaduktus koklea: Skala timpaniden başlayıp petroz kemikte subaraknoidal boşluğa açılan kemik tübüldür. Bu tüp içinde duktus perilenfaticus ve v.canalikuli koklea vardır.

Zar (membranöz) labirent

Utrikulus: Vestibulumun iç yan kenarındaki eliptikal reseste yer alır. İç yan duvarında makula utrikuli adı verilen bölümde denge hücreleri bulunur ve buradan n. utrikularis başlar. Utrikulusta duktus utrikulosakkularis'in açıldığı bir ve duktus semisirkularis'lerin açıldığı beş adet delik bulunur.

Sakkulus: Vestibulumun iç yan kenarındaki spherical reseste yer alır. Bunun da iç yan bölümünde makula sakkuli adı verilen yerde denge hücreleri vardır ve buradan n.sakkularis başlar. Sakkulusta bir tane sakkulusu duktus koklearis'e bağlayan duktus reuniense ait, bir tane de duktus utrikulosakkularis'e ait iki delik vardır.

Duktus semisirkularis: Kemik semisirküler yapının içerisinde bulunurlar. Kalınlıkları kemik kanalların 1/5'i kadardır. Diğer 4/5'lik kısmı perilenf ile doludur. Membranöz kanalların ampullaları içerisinde krista ampullaris denilen kabarık bölgelerde duyu epiteli bulunmaktadır. Buralardan n. ampullaris anterior, n. ampullaris posterior ve n. ampullaris lateralis başlar. Her üç n. ampullaris daha sonra n. utrikularis ve n. sakkularis ile birleşerek n. vestibularis'i oluşturur.

Duktus endolenfatikus: Duktus utrikulosakkularis adlı tüpten doğar. Aquaduktus vestibuli adlı kemik tüp içinde ilerler. Fossa subarkuata'daki sakkus endolenfatikus adlı şişlikte dura mater altında sonlanır.

Duktus perilenfaticus: Skala timpani ile subaraknoid boşluğu birleştiren aquaduktus koklea içerisinde yer alan ve perilenf içeren bir yapıdır.

Duktus koklearis: İki ucu kapalı üç yüzlü bir boru şeklinde olan taban kısmındaki kör ucuna ise çekum vestibulare, duktus koklearisin tepesinde bulunan kör ucuna çekum kupulare denir. Çekum vestibulareye yakın yerden çıkan duktus

reuniens aracılığıyla sakkulusa bağlanır. Duktus koklearis koklear kesitlerde üç duvarlı bir yapı olarak görülür.

a. Reissner membranı (membrana vestibularis): Skala vestibuli ve skala mediayı (duktus koklearis) birbirinden ayırıp duktus koklearisin üst duvarını oluşturur.

b. Ligamentum spirale koklea: Duktus koklearisin dış bölümünü oluşturur. Lamina bazillarisin tutunduğu yerdeki çıkıntılı kenarına crista bazillaris; hemen yukarıdaki oluğa sulcus spiralis eksternus; bu oluşumu yukarıdan sınırlayan çıkıntıya prominentia spiralis denir. Dış kenar iç kısmında stria vaskularis denilen damardan çok zengin bir tabaka mevcuttur.

c. Korti organı (organum spirale): Duktus koklearisin içinde ve alt duvarını oluşturan lamina bazalisin iç üst kısmına oturup çekum kupulaya kadar uzanır.

İç Kulağın Damarları: Labirentin arter labirenti kanlandırır ve genellikle a. cerebelli anterior inferior'dan ayrılır. Labirentin arter bazen baziller arterden nadiren doğrudan vertebral arterden de çıkabilir. İç kulak kanalına VIII. kranial sinirle birlikte girer ve a. Vestibularis anterior ve a. cochlearis communis adı verilen iki ana dala ayrılır. Bu dallardan, vestibülü ve kokleayı besleyecek olan arterler çıkar (a. vestibulocochlearis ve a. cochlearis) (20-22). Vestibulokoklear ve koklear arter, koklear kanalın lateral kısmında stria vaskularis ve spiral laminada kapiller ağ oluşturarak sonlanır. Koklear arter apekse doğru ilerler ve bir end arter halini alır. Buna spiral modiolar arter adı verilir. Bu arterin obstrüksiyonları sağlığa yol açabilmesinden dolayı önemlidir (21). Spiral modiolar arterden arterioller ayrılarak kapiller dallar verirler ve koklear beslenmeyi sağlarlar. İç kulağın venöz dönüşü arterlerle beraber seyreden venlerin birleşmesi yolu ile oluşan v. labirentica aracılığıyla olur. Bu da sinüs petrosus süperior ve inferior, sinüs transversus ve v.jugularis interna'ya drene olur. Endolenf ve perilenf lenfatik sistem olarak kabul edilirler ve beyin omurilik sıvısına dökülürler (23).

İç kulak sinirleri: Bipolar afferent sinirlerin hücre gövdeleri Rosenthal kanalındaki spiral ganglionu meydana getirir. İki tip nöron vardır: Tip 1 nöronlar myelinlidir. Tüm nöronların %95'ini oluşturur ve iç saçlı hücrelere dağılırlar. Tip 2 nöronlar myelinsizdir. Toplamın %5'ini oluşturarak dış saçlı hücrelere dağılırlar. Lifler habenula perforata yoluyla kemik spiral laminadan corti organına geçerler.

Terminal dallar çok sayıda dış saç hücrelerini inerve ederler ve spiral liflerden kaynaklanırlar. Aksine her bir iç saç hücresi çok sayıda tip 1 lifler ile inerve olurlar. Tüm sinir sonlanmaları kadeh şeklinde olur ve vezikül içermezler. Granülsüz sonları ile beraber bu afferent liflere ek olarak granüle olmuş birçok sonlanımlar hem dış saç hücreleri ile hem de afferent liflerin terminal sonlanımları ile kontakt yapacak şekilde gözlenmiştir. Bu granüle olmuş sonlar Rasmussen'nin olivokoklear demetindeki beyin kökünden kaynaklanan efferent liflerdir. Hücre gövdeleri süperior olivary kompleks içerisinde yerleşmiştir. Lifler inferior vestibuler sinir ile birlikte ilk olarak beyin kökünde ilerler fakat vestibulokoklear anastamoz şeklinde kokleaya girerler. İntraganglionik spiral demetlerde lifler, internal spinal demetler ile iç saç hücrelerini inerve eden afferent liflere ayrılırlar. Alternatif olarak lifler korti tünelinin ortasından geçerler ve iç saç hücrelerinin gövdelerine dağılırlar (24).

1.1.3. İç Kulak Histolojisi

Koklea: Kokleanın en önemli ve duyuşal reseptör hücrelerinin lokalize olduğu yer olan duktus koklearis üç bölüme ayrılır.

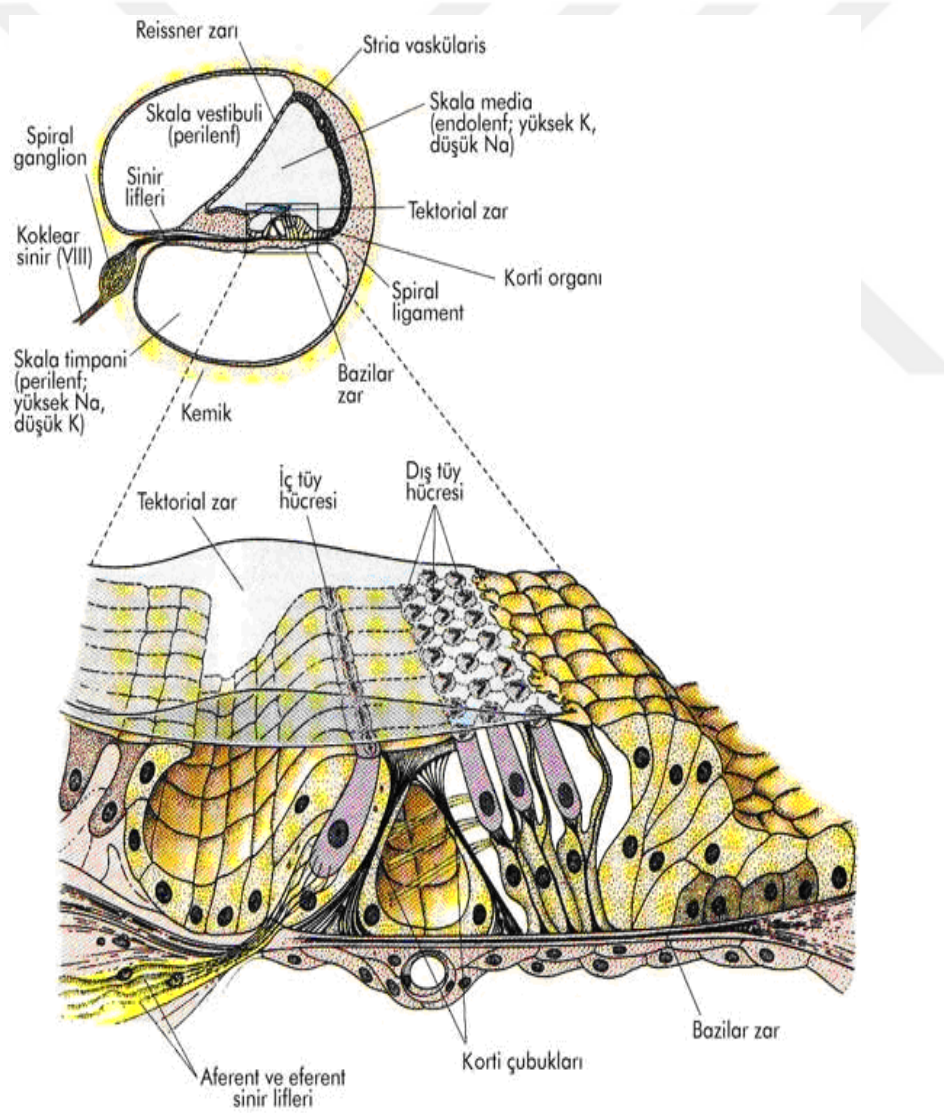
Reissner membranı: Skala vestibuli ve skala mediayı birbirinden ayıran ince bir bazal laminadan meydana gelir. Endolenfe bakan hücreler küboid yapıdadırlar ve bunlar apikal mikrovilluslar içerirler. Perilenfe bakan hücreler ise gevşek biçimde birbirlerine bağlıdırlar ve skuamöz yapıya sahiptirler.

Lateral duvar: Duktus koklearisin yan ve dış kenarını yapar. En dışta büyük kısmı tip 1 fibroblast benzeri hücrelerden oluşmuş spiral ligament yer alır. Spiral ligamentin iç kısmında ise çok katlı yassı epitelden oluşan stria vaskülaris bulunur. Stria vaskülaris endolenfteki yüksek potasyum, düşük sodyum iyon potansiyelini oluşturan marjinal hücreler; epitel ve endotelin bazal membranının birleşmesinden oluşan ve molekül geçişine izin vermeyen bazal hücrelerden; fagositoz yeteneği olan intermediate hücrelerden oluşur. Stria vaskülaris ile bazal membran arasında iyon geçişini yapan enzimler içeren çok sayıdaki tip 2 fibroblast hücrelerinden meydana gelen spiral prominens bulunur.

Baziller Membran: Bağ dokusundan gelişen bir membrandır. Bu membranın genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru artar. Baziller membran hareketlerinin frekansa özel olması, frekans analizi ve ses şiddetinin alınabilmesi bu

sayede olmaktadır. Baziller membranın dış duvarında endolenfle temas eden, büyük moleküllerin geçişine izin vermeyen kübik küçük mikrovilluslu hücrelerden oluşan Cladius hücreleri yer alır. Cladius hücrelerinin tabanı ile baziller membran arasında yerleşmiş, fibronektin üreten ve karbonik anhidraz içerdiğinden dolayı iyon ve sıvı trasportunda etkili olan, tek katlı küboid hücrelerden oluşan Boettcher hücreleri bulunur (20).

Korti organı: Baziller membran ve perilenfteki mekanik titreşimleri elektrik akımlarına dönüştürür. Korti organı baziller membran, spiral şekilde dizilmiş çeşitli duyuşal hücreler, destek hücreleri ve bunların üzerini örten tektorial membrandan oluşur.



Şekil 2. Korti organının ince yapısı. Üst kısımda Korti organı ve ilişkili yapılar; altta, iç ve dış tüy hücrelerinin ayrıntılı yapısı görülmektedir (19)

1. Destek Hücreler

Hensen Hücreleri: Korti organının yan duvarını oluşturup koklea apeksine doğru uzunlukları artış gösterir. Birkaç dizi halinde sıralanırlar ve çekirdekleri sitoplazmanın apikal kısmında bulunur. Bu hücreler ile dış titrete tüylü hücreler arasında dış korti tüneli yer alır (2, 20).

Deiters Hücreleri: Baziller membrana bağlanarak dış tüylü hücreleri desteklerler. Dış titrete tüylü hücrelerin çevresini sararlar. Sadece taban kısmı açıktır ve buradan da efferent ve afferent sinir lifleri dış titrete tüylü hücrelerle bağlantı kurarlar. Dış titrete tüylü hücreler ve Deiters hücreleri parmaklı çıkıntılarla retiküler membranın oluşmasını sağlarlar. Dış tüylü hücrelerle Deiters hücrelerinin parmaklı çıkıntıları arasında sıvı dolu boşluk mevcuttur. Bu boşluk Nuel boşluğu olarak adlandırılır.

Sütun Hücreleri (pillar hücreler): Dış ve iç olmak üzere iki tip sütun hücresi vardır. Retiküler lamina ile korti tünelinin oluşmasına katkıda bulunurlar. Destek hücrelerinin çekirdekleri yuvarlak olup tabanları geniştir. Mikrotübüllerden ve aktin filamanlarından oluşurlar. Hücrelerin apikal uzantısı dikdörtgen biçiminde sonlanarak retiküler laminanın oluşmasına katkıda bulunur. Ayrıca iç korti tünelinin oluşmasında yardım ederler.

İç Sınır ve Falangeal (parmaklı) Hücreler: İç sulkus hücreleri ile iç titrete tüylü hücrelerini birbirinden ayırır. İç sınır hücreleri korti organının en medial duvarını yaparlar. İç falangeal hücreler, dış tarafta dış titrete tüylü hücreleri ayırırken iç tarafta iç titrete tüylü hücrelerle iç sulkus hücrelerinin arasına girer. Tabanda iç falangeal hücreler, iç titrete tüylü hücrelerle birlikte myelinsiz sinir liflerinin etrafını sarar.

2. Duyusal Hücreler

Stereosilia: Bunlara sensoriyal hücreler adı da verilir. İç ve dış saçlı hücreler, hücresel iletim için önemli olan apikal stereosiliaları içermektedirler. Bunlar tabandan tepeye doğru ve içten dışa doğru gittikçe uzarlar. İç saçlı hücre stereosiliası, küp şeklindeki dış saçlı hücre stereosiliasından yaklaşık iki kat daha kalındır. Stereosilialar yatay ve dikey bağlantılarla birbirlerine bağlanmışlardır. Stereosiliası gerçek silia olmayıp saçlı hücrelerin kutikuler tabakasından uzanan uzun ve sert

mikrovilluslardır. Stereosiliaların içerisindeki polarize aktin filamentlerinin aksiyel olarak bulunması nedeniyle rijit yapıdadırlar. Vestibüler saçlı hücrelerin aksine olgun koklear saçlı hücreler kinosilium içermezler. Dış saçlı hücrelerin stereosiliaları "V" veya "W" şeklinde dizilmişlerdir.

Dış Titrek Tüylü Hücreler: Korti organı içinde, apikal ya da bazal uçlardan Deiters hücrelerine bağlanır. İnsanda ortalama 13400 dış saçlı hücre bulunur. Dış saçlı hücreler retikuler lamina içinde medialden laterale doğru sıralanırlar. Apekte doğru hücre uzunluğu artar ve 14 mikrondan 55 mikrona ulaşır. Saç hücrelerinin apikal yüzündeki parmaksı uzantılara stereosilia denir. En uzun dış saç hücrenin stereosiliası, tektorial membranın alt yüzüne yapışır. Deiters hücrelerinin uzantıları dış saç hücrelerinin dış ve yan duvarına yapışır. Dış saç hücrelerinin tabanında, birkaç küçük afferent sinir ucu ve 10 adet geniş vezikül dolu efferent sinir ucu bulunmaktadır.

İç Titrek Tüylü Hücreler: Vestibüler saçlı hücrelere benzemektedirler. Bu hücreler destek hücrelerinin sardığı yassı görümlü tek tabaka oluştururlar. İç saçlı hücrelerin tabanında çok sayıda sinaptik sinir sonlanması bulunur.

3. İç Sulkus: Yukarıda tektorial membran, iç kenarında korti organı ve dış kenarında spiral limbus ile sınırlı üstü açık spiral bir kanaldır. Bu hücreler Cladius hücrelerine benzerler. Hücrelerin üst yüzeylerinde mikrovilliler bulunur ve hücre arası flamanları ile birbirlerine sıkıca bağlanmışlardır.

4. Spiral Limbus: Kemik spiral laminanın iç duvarında bulunan damarsal doku tabakasıdır. Dış kenarını, iç sulkus hücrelerinin yaptığı Huschke dişi diye adlandırılan sivri bir çıkıntı oluşturur. En iç kenarına Reissner membranı tutunur. Spiral limbusun endolenfatik yüzü ince ekstrasellüler matriksle kaplıdır. Spiral limbus; bağ dokusu fibroblast benzeri hücreler, ekstrasellüler filamentler ve damarsal elementler içerir.

5. Tektorial Membran: Spiral limbus, korti organı ve iç sulkusun üzerini kaplayan ekstrasellüler bir matrikstir ve korti organı seviyesinde dış saçlı hücreleri örter. Temelde fibröz materyalden yapılmıştır. Endolenfle ıslatılmıştır. Altı bölüme ayrılır: limbal tabaka, fibröz matriks, marjinal bant, ağsı örtü, Hensen çubuğu ve Hardesty membranı.

6. Kemiksi Spiral Lamina: Modiolustan baziler membranın iç duvarına kadar uzanan ince, spiral şekilli bir kemik laminadır. Spiral laminanın içi korti organına giriş çıkış yapabilen sinir liflerinin myelinizasyonlarını kaybedip korti organına girdikleri bölgedeki, habenulae perforata adı verilen kanallarla delinir.

1.1.4. İç Kulak Fizyolojisi

İç Kulak Sıvıları: İç kulak sıvıları üç çeşittir; perilenf, endolenf ve kortilenf. Perilenf beyin omurilik sıvısından kaynaklanır. Kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıyı andırmakla beraber sodyumdan zengin (Na^+ 140mEq/L), potasyumdan fakirdir (K^+ 5,5-6,25mEq/L).

Endolenf yapımını stria vaskularis üstlenir. Endolenf potasyumdan zengin (K^+ 140- 160mEq/L), sodyumdan fakirdir. (Na^+ 12-16 mEq/L).

Kortilenf Nuel boşlukları ve korti tüneline bulunur. Beyin omurilik sıvısından kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde seyreden akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin yüksek potasyum (K^+) içeriği nöral iletiyi engelleyeceği için korti tüneline içinden geçen dış saçlı hücrelerin lifleri kimyasal olarak perilenfe benzeyen kortilenf ile sarılmıştır (25, 26).

1.1.5. Santral İşitme Yolları

1.1.5.1. VIII. Kranial Sinir

İnsanlarda, VIII. kranial sinir; süperior vestibüler, sakküler, posterior vestibüler ve koklear sinirler olmak üzere dört ayrı sinir dalından oluşur. Bu sinirler otik kapsülde ayrı kemik kanallarda bulunurlar ve internal akustik kanalda (İAK) fasiyal sinir ve intermedius sinirle beraber uzanım gösterirler. İAK transvers falsiform krest ile süperior ve inferior kompartmanlara ayrılır. İnférieur kısımda arkada vestibularis posterior ve singular sinir, önde ise koklear sinir bulunur. Koklear ve vestibüler sinirin yaptığı olukta, fasiyal sinirle bu sinirler arasında n. intermedius yerleşmiştir. Süperiorda, arkada süperior vestibüler sinir ve önde fasiyal sinir bulunur. Bu iki sinir birbirlerinden vertikal kret ile ayrılmışlardır.

Koklear sinir porus akustikus internusta vestibuler sinir ile birleşir (29-30). İAK içinde vestibüler sinirin sakküler bölümü koklear sinirin longitudinal fissürüne

uzanan vestibulokoklear anastomozu (Oort anastomozu) meydana getirir (31). İki sinirin yapışmasından sonra bir klivaj planı genellikle devam eder (32). Koklear sinir lifleri spiral bir seyir gösterir ve kokleotopik bir organizasyona sahiptir. Bazal kıvrım lifleri perifere yerleşirken, kokleanın apeksini innerve eden lifler daha derindedir (33).

Koklear ve vestibüler sinirler arasındaki ilişki İAK'nın en lateralinden serebellopontin köşeye kadar değişiklik gösterir; iki sinir labirentten beyin sapına kadar 90 ° rotasyona uğrar ve bu rotasyonun çoğu İAK içinde olur. İAK'da anterior inferior konumda olan koklear sinir beyin sapına vestibüler sinire göre posterior ve lateral olarak girer (34-36).

VIII. kranial sinir iki köke ayrılır ve pontomedüller bileşkede beyin sapına girer. Koklear sinir restiform cismin üzerinden geçer ve onun ventromedial yüzünün üzerinde anteroventral koklear nükleusun ön ve iç tarafından girer. Her bir lif inen ve çıkan dallar olmak üzere ikiye ayrılır. İnen dallar posteroventral ve dorsal koklear nükleusları innerve eder, çıkan dal ise anteroventral koklear nükleusu innerve eder (37).

1.1.5.2. Koklear Nükleuslar ve Akustik Stria

Tüm afferent işitsel liflerin bilgilerinin iletilmesi için koklear nükleuslar ilk ve zorunlu bir bölgedir. Nükleuslar bilateral olarak VIII. kranial sinir giriş noktasının yanında ve pontomedüller bileşkeye lokalizedirler. Serebeller hemisferlerin olmadığını düşünürsek dördüncü ventrikülün lateral resessinin tabanında görülebilirler (37).

Koklear nükleuslar ventral koklear nükleus ve dorsal koklear nükleus olmak üzere iki majör bölümden oluşur. Ventral koklear nükleusda anteroventral ve posteroventral koklear nükleus olarak sınıflandırılabilir. Anteroventral nükleus da kendi içinde anterior ve posterior olarak ikiye ayrılır (37, 38).

Her alt grup farklı hücre gruplarından oluşur. Hücreler yapılarına göre küresel ve globüler çalı biçimli hücreler, piramidal hücreler, ahtapot hücreler, multipolar hücreler ve granüler hücreler olmak üzere beş değişik biçime sahiptir.

Bu hücrelerin herbiri farklı frekansları temsil eden sinir liflerini alırlar ve herbirinin fizyolojik yanıt karakteristikleri vardır. Kokleanın apeksinden gelen lifler

ventral çekirdeklerde, bazal bölgesinden gelen lifler ise çoğunlukla dorsal çekirdeklerde sonlanırlar. Her hücrenin hassas olduğu “karakteristik frekans” adı verilen tek bir frekans vardır.

Hücrelerden çıkan aksonlar üç demet oluşturur: Ventral akustik stria (trapezoid cisim de denir), İntermediate akustik stria (Helde striası) ve dorsal akustik stria (Monakow striası).

Ventral Akustik Stria: Medullayı geçerek superior lateral olive, superior medial olive, trapezoid cismin medial nükleusu ve inferior kollikusda sonlanır.

İntermediate Akustik Stria: Genellikle ahtopot hücrelerinden çıkar. Hem ipsilateral hem de kontralateral olmak üzere trapezoid cisimde, superior lateral olivede ve oliva bölgesinde sonlanır.

Dorsal Akustik Stria: Buradan çıkan lifler lateral lemniscus ve inferior kollikulusun santral nükleusunda sonlanım gösterir.

Süperior Olivar Kompleks ve Olivokoklear Demet: Süperior olivary kompleks (SOK) pons gri cevherinin hemen arkasında, kaudal ponsta yer alır. Bu nükleer kompleks Süperior olive’in medial (MSO) çekirdeği, Süperior olive’in lateral (LSO) çekirdeği, Trapezoid cismin medial çekirdeği ve Periolivary çekirdek olmak üzere birkaç çekirdekten oluşur.

Süperior olivary kompleks morfolojisi, koklear efferentlerin organizasyonu ve yerleşimleri memelilerde farklılıklar gösterir. Primat olmayan türlerde MSO ve LSO çekirdekleri göze çarparken, insanlarda MSO çekirdeği predominanttır ve lateral nükleus ise aksine küçük ve körelmiştir. MSO çekirdeği bipolar nöronlardan oluşurken LSO çekirdekleri multipolar nöronlar içerir. MSO çekirdek ventral akustik stria yolu ile her iki ventral koklear nükleustan ipsilateral ve kontralateral uyarılar alır (20).

Süperior olivary kompleks (SOK) lateral lemniskusa ve burdanda inferior kollikulusa çıkan lifler gönderir. SOK, olivokoklear demet yoluyla Corti organındaki tüylü hücrelere de inen lifler gönderir. Bu yol ilk olarak Rasmussen tarafından 1946’da tanımlanmıştır (20).

Lateral Lemniskus: Lateral lemniskus, koklear nükleusları ve süperior oliver kompleksi inferior kollikulusla bağlayan büyük, çıkan yoldur. Lateral lemniskus ile ilişkili ventral lateral lemniskus, intermediate lateral lemniskus, dorsal

lateral lemniskus nükleusları olmak üzere üç temel hücre grubu vardır. Kokleadan gelen alçak frekanslar lateral lemniskusun dorsal çekirdeğine, yüksek frekanslar ise ventral çekirdeğine giderler. Lateral lemniskusun efferent projeksiyonu ise inferior kollikulusun santral kısmıdır.

İnferior Kollikulus: Inferior kollikuluslar (İK) bilateral olarak mezensefalonda bulunurlar. Çıkan işitme yolları için ana iletim istasyonu olarak ve alt beyin sapından medial genikulat cisme ve sonra da işitme korteksine giden akustik bilginin işlenmesinde görev yaparlar (20). Inferior kollikuluslar inferior kollikulusun santral nükleusu, İK'nın kaudal ve ventraline yerleşen inferior kollikulusun eksternal nükleusu ve perisantral nükleus olmak üzere üç ana hücre grubundan oluşur. Santral nükleus bunlar içinde en büyük ve en dominant olanıdır. Ventrolateral ve dorsomedial olarak bölümlere ayrılır.

Inferior kollikulusun santral nükleusu alt beyin sapından çıkan uyarıların büyük kısmını alır. Her iki koklear nükleustan, SOK'tan, lateral lemniskus nükleuslarından, işitme korteksinden inen afferentlerden uyarı alır. İK'nın santral nükleusu alçak frekanslardan yüksek frekanslara doğru düzenli bir progresyonla birlikte tonotopik bir organizasyon gösterir (20). Inferiorun ana efferentleri medial genikulat cisme gider ancak İK, komissürü yoluyla kontralateral İK'ye de lifler gönderir (39). Posterior talamik kısmın lateral kısmı, superior kollikulusun derin tabakaları ile de bağlantılıdır.

Medial Genikulat Cisim: Medial genikulat cisim inferior kollikulusun kollarının lifleri ve işitme korteksi arasına eklenen, çıkan işitme yollarında bir iletim durağıdır. Talamusta bulunur, lateral genikulat cismin iç tarafına yerleşmiştir. Ventral, medial ve dorsal olmak üzere üç kısma ayrılmıştır. Medial genikulat cismin üç alt bölümü de İK'nın nükleuslarından çıkan lifleri ve işitme korteksinden inen lifleri alır (20).

İşitme Korteksi: İşitme korteksi primer işitme korteksi ve ilişkili işitme alanları olarak ayrılır. İnsanlarda primer işitme korteksi (Brodmann'ın 41. ve 42. alanları) temporal lobun üst bölümlerinde yer alır ve spesifik işitme ve nonspesifik ilişkili alanlar (Brodmann'ın 22. ve 52. alanları) tarafından sarılmıştır. İlişkili alanlar primer korteksi frontal ve temporoparietal bölgelere bağlar. Bu bölgeler dil, konuşma, görme alanlarını ilgilendirir.

İşitme korteksi talamusa, orta beyine ve ponsa üç ana inen yol verir. Her bir kortikal işitme alanı kısa geri dönüşümlü halkalar kurmak için medial genikulat cisme afferent lifler gönderir. Ayrıca primer işitme korteksi İK'in santral nükleusunun bilateral santral ve ipsilateral perisantral nükleusları ile bağlantı kurar (20).

1.1.6. İşitme Fizyolojisi

Ses enerjisi bir titreşimdir ve yayıldığı ortamda moleküllerde ardışık olarak sıkışma ve gevşemelere yolaçar. Ses dalgalarının hızı; katı ortamlarda en hızlı, gaz ortamlarda ise en düşük hızla olmakla beraber yayıldığı ortamın yapısına göre değişiklik gösterir. Sıvı ortamlarda yayılma hızı ise ikisinin ortasındadır. Deniz seviyesinde 20°C derecelik sıcaklıktaki hava tabakasında sesin yayılma hızı 344 m/sn olarak bulunmuştur. Sıvı ortamlarda ise havaya göre 4 kat hızlı olarak yayılır (1437m/sn). Kemikte ise yayılma hızı 3013 m/sn olarak bulunmuştur (39).

Sesin saniyedeki titreşim sayısına sesin frekansı, tonu ya da perdesi denir. Sesin frekansı Hertz (Hz) ile ifade edilir. İnsan kulağı 16–20000 Hz aralarında sesleri duyar. Sesin şiddet birimi desibeldir (dB). Bir ortamın ses dalgalarının yayılmasına gösterdiği dirence akustik direnç ya da empedans denmektedir. Empedans, ortam moleküllerinin esnekliği ve yoğunluğu ile alakalıdır. Ses dalgaları bir ortamdan başka ortama geçerken her iki ortamın empedansı birbirine ne kadar yakın ise yeni ortama geçen enerji miktarı da o oranda fazla olur (39).

Atmosferde oluşan ses dalgalarının kulağımız tarafından algılanmasını takiben beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar olan süreç işitme olarak adlandırılır ve işitme sistemi denen geniş bir alanı ilgilendirir. Dış, orta ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin elemanlarıdır. İşitme birbirini izleyen birkaç fazda gerçekleşir. Bunlar:

1. İşitmenin gerçekleşebilmesi için ilk olarak ses dalgalarının dış ortamdan Corti organına iletilmesi gereklidir. Bu mekanik bir olaydır ve bizzat sesin kendi enerjisi ile sağlanır. Bu olaya “iletim-conduction” denir.

2. Corti organında ses enerjisi biokimyasal olaylarla elektrik enerjisi haline dönüştürülür. Bu olaya “dönüşüm-transdüksiyon” denir.

3. İç ve dış titreşim tüylerinde meydana gelen elektriksel akım bağlantılı olduğu sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre Corti organında kodlanarak değişik sinir liflerine iletilir.

4. Tek tek gelen bu sinirsel uyarılar işitme merkezinde birleştirilir ve yorumlanır. Yani ses anlaşılır hale getirilir. Bu olaya “cognition” veya “association” denir (2).

Ses dalgalarına karşı vücudumuzun ve özellikle başımızın engelleyici etkileri vardır. Kulak kepçesi ve dış kulak yolu ses dalgalarının yayılmasında ve şiddetlendirilmesinde görev alırlar. Orta kulak ise gelen ses dalgasının iç kulağa geçerken uğrayacağı dB (desibel) kaybını telafi ederek, bir çeşit amplifikatör görevi görür ve sesin şiddetini artırarak iç kulağa iletir. Ses dalgalarının bazal membrana geçebilmesi bu membranın çevresindeki perilenfte dalgalanmalar oluşturmaya bağlıdır. Ses titreşiminin bazal membrana iletilebilmesi için, bu membranın her iki tarafında birer pencere olması gerekir. Koklear sıvılara bu basınç dalgaları saniyede 1,5 km’lik bir hızla iletilir. Bu hızdaki bir iletimle, basınç dalgasının koklea içindeki yayılımı anlık olur. Kokleaların kemik duvarları sert ve içindeki sıvı bu kavitede sıkışamayacağından stapes tabanından perilenfte doğru oluşan dalgalı hareketler ilerleyerek yuvarlak pencere zarını da hareketlendirir. Oval ve yuvarlak pencerelere ses dalgalarının iletilme yolları aynı değildir. Ses bu iki pencereye farklı zamanlarda ve farklı fazda ulaşmaktadır. Orta kulak boşluğundaki havanın titreşimi yuvarlak pencerenin titreşmesine neden olurken, oval pencerenin titreşimi ise kemikçik zincir yolu ile olur. Oval pencereye ulaşan ses enerjisi kulak zarının ve kemikçik sisteminin yükseltici etkisi ile kulak zarı ve stapes tabanı arasındaki büyüklük farkından ötürü yuvarlak pencereye iletilen ses enerjisinden daha fazladır. Pencerelere iletilen iki ayrı ses dalgası arasında iletim hızının farklı olmasından dolayı ortaya çıkan faz farkına dezafaj adı verilir. Waver ve Lawrence bu olayın önemini yaptıkları deneylerde ortaya koymuşlardır (2).

Bekesy hem kobaylarda ve hemde insan kadavralarında ses uyarısını vererek meydana gelen değişiklikleri araştırmıştır. Bu amaçla kobaylarda stroboskop aydınlatma ile ses dalgalarının baziller membranda oluşturduğu değişikliği incelemişlerdir. Ses dalgalarının perilenfte iletilmesi ile perilenf hareketlenir, baziller membranda titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler koklea tabanından başlayıp

apikaline kadar uzanır. Bekesy bu harekete “gezinen dalga” adını vermiştir. Baziller membran bazal turda dar, apikal turda geniştir. Bazal turda baziller membran daha gergindir ve baziller membran genişliği arttıkça gerginliği de azalır, böylece bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga iletilmiş olur (40).

Bekesy, baziller membran amplitüdlerinin her alanda aynı olmadığını da göstermiştir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde baziller membran amplitüdü bazal turda en yüksek aşamada iken, düşük frekanslarda baziller membran amplitüdü apikal turda en yüksek aşamaya ulaşır. Bu yüzden yüksek frekanslı seslerde gezinen dalgalar bazal turda kalır, alçak frekanslı sesler ise bazal turdan başlayarak apikal tura kadar ilerler (40).

Baziller membranın dalgalarının amplitüdüleri farklı frekanslar için ölçülmüş ve amplitüdlerin frekanslardaki stimulusun şiddeti ile paralel olarak yükseldiği izlenmiştir. Ancak nonlineer bir ilişki gereği bu yükselme şiddet artmasına paralel değildir.

Ses enerjisinin elektrik enerjisine çevrilmesini sağlayan Corti organı kemik spiral lamina ile baziller membran üstünde yer alır. Corti organında yapısal ve metabolik katkıyı sağlayan destek hücreleri ve ses enerjisinin (mekanik enerjinin), sinir enerjisine çevrilmesinde çok önemli fonksiyona sahip olan iç ve dış tüylü hücreler bulunur.

Tüylü hücrelerin hareketleri çoğunlukla baziller membran hareketlerine bağlıdır. Titreşim tüylülerin titreşimleri yükseldikçe baziller membran titreşimleri de yükselmektedir. Amplitüd artışı özellikle dış tüylü hücrelerin hareket amplitüdüne bağlı olarak yükselme gösterir. Her titreşim tüylü hücrenin titreşim sayısının en yüksek olduğu bir frekans bulunmaktadır. Buna o titreşim tüylü hücrenin karakteristik frekansı adı verilir. Bu durum baziller membran içinde aynıdır. Dış titreşim tüylü hücrelerin frekans seçme özelliği vardır.

İşitme siniri ganglionundaki hücrelerin dendritleri spiral kemik lamina içinden iç ve dış titreşim tüylü hücrelere gelirken, aksonları beyin koklear çekirdeklere giderler. Tüylü hücrelere gelen 50.000 lifin olduğu düşünülmektedir. Bunların %10 sinir lifi ise dış tüylü hücrelerde (DTH) sonlanan Tip 2 nöronlar oluşturur. Tek bir nöron yaklaşık 10 dış tüylü hücreyi uyarır. Geri kalan %90-95'ini iç tüylü hücrelerde

sonlanan Tip 1 nöronlar oluşturur. Bir iç tüylü hücre (İTH), 15-20 Tip 1 nöron tarafından impuls alır.

Baziller membranın hareket etmesi ile birlikte titretilen tüylü hücreler ve stereosilyoları da hareket ederler. Tektorial membran ile direk (DTH) ya da indirek ilişki (İTH) içinde olan tüylü hücrelerin stereosilyolarının tepelerinde nonspesifik iyon kanalları bulunmaktadır. Bu kanallar baziller membran hareketi ile stereosilyolar hareket ettikçe hareketin yönüne göre açılma veya kapanma gösterirler.

İç tüylü hücrelerin salgıladığı salınan majör nörotransmitter “glutamat” tır (42). Postsinaptik sinir ucunda kainat ve α -amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4-propionik asit (AMPA) olmak üzere iki tip glutamat reseptörü bulunur. Bu reseptörler hızlı afferent geçişinden sorumlu iyon kanallarıdır. Bunlardan Corti organında çok sayıda bulunmaktadır. Glutamat reseptör 3 (GR3), GR4, GR5, GR6 ve KA1(kainat) reseptörlerini barındırırlar. Ayrıca N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri de bulunmaktadır. NMDA reseptörlerinin görevi ise iyonik glutamat reseptörlerini ayarlamaktır.

Spiral ganglionların %5’ni oluşturan tip II hücreler ile hedef organı olan DTH’ler arasındaki sinir ucunda rol alan nörotransmitterin ne olduğuna dair çalışmalar devam etse de glutamat aday olarak gösterilebilir (42).

Postsinaptik sinir uçlarında adenosin trifosfat için (ATP) P2X2 reseptörleri de yer alır. Bu reseptörler ATP için modülatör olarak görev yaparlar. Ayrıca tip 1 afferent hücrelerde de hücre içinde metabolik değişiklikleri aktive eden metabolik glutamat reseptörleri bulunmaktadır (42).

Kokleanın endolenfatik potansiyel, Koklear mikrofonik, sumasyon potansiyeli ve birleşik aksiyon potansiyeli olmak üzere dört temel ekstrasellüler potansiyeli kaydedilebilmektedir. Diğerlerinin aksine endolenfatik potansiyel, akustik stimülasyona tepki olarak ortaya çıkmayarak skala mediada kendiliğinden kaydedilen 80-100 mv’lik doğru akım potansiyelidir. Bu endokoklear potansiyel, yüksek oranda vaskularizasyon gösteren stria vaskulariste görülür. Stria vaskularisin, kokleanın “bataryası” yada “enerji kaynağı” olduğu ve transdüksiyon için oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Enerji kaynağının özelliği, stria vaskularisin yoğun kanlanması ve $Na^{+}-K^{+}$ - adenosin trifosfataz (ATPaz) ile ilgilidir. $Na^{+}-K^{+}$ -ATPaz’ın kokleadaki iyonların transferinde önemli bir göreve sahip olması gerekli

iken, enerji kaynağının niteliği ve iyon değişiminin ayrıntıları halen önemli oranda araştırma konusu olmayı sürdürmektedir (42).

Koklear mikrofonik; genellikle yuvarlak pencere yakınında veya koklea içinde kaydedilen bir alternatif akım potansiyelidir. Dış tüylü hücrelerden potasyumun geçişini temsil etmekte ve bu baziller membran hareketiyle değiştirilen dış tüylü hücrelerin elektriksel direnci olarak değerlendirilmektedir. Stereosilyalar modiolustan dışa doğru büküldüğü anda, dış tüylü hücrelerin direnci azalmakta, mevcut akımda yükselme olmakta, endolenfatik potansiyelde ise düşüş görülmektedir. Stereosilyalar modiolusa doğru bükülünce direnç yükselir, mevcut akım azalır ve sonuçta endolenfatik potansiyel yükselir. Dış tüylü hücre harabiyetinde koklear mikrofonikler kaybolur. Sumasyon potansiyeli; kokleada sese karşı verilen yanıt olarak kaydedilen bir doğru akım potansiyelidir. Genellikle dış tüylü hücrelerin sesli uyarana yanıt olarak görülen hücre içi potansiyellerin neden olduğu doğru akım değişikliklerini gösterir. Tüm sinir veya bileşik aksiyon potansiyeli; en doğru biçimde yuvarlak pencere veya koklear sinir etrafına konulan bir elektrod yardımıyla ölçülür. Birleşik aksiyon potansiyelleri dış kulak kanalındaki elektrodlar veya kafa derisi elektrotları ile yuvarlak pencere nişi yakınına bir elektrodun konulmasıyla transtimpanik yaklaşım ile klinik olarak ölçülebilir (40).

Endolenfte +80 mv'luk bir elektriksel potansiyel vardır. Buna karşılık iç tüylü hücrelerde – 45 mv, dış tüylü hücrelerde – 70 mv olmak üzere negatif elektriksel yük vardır. Bu fark intraselüler alana doğru K⁺ iyon akımına neden olur, bazı kimyasal nörotransmitterler aracılığıyla K⁺ akımı bir elektriki polarizasyon meydana getirir. Bu yolla mekanik enerji stapes tabanından perilenfe iletdikten sonra tüylü hücrelerle elektrik akımına çevrilir (39).

İşitme siniri afferent bir sinirdir ancak içerisinde yaklaşık 1800 lif civarında efferent sinir de içerir. Titrek tüylü hücrelerdeki karakteristik frekans gibi her sinir lifinin duyarlı olduğu bir frekans vardır. Sinir lifleri ilişkide oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtırlar. Nonlineer özellik ve karakteristik frekans sinir liflerinde de görülmektedir. Sonuç olarak, kokleada bazalden apikale doğru frekanslara duyarlılık değişiklik gösterir.

Spiral gangliondaki sinirlerin aksonları koklear nükleus seviyesine kadar uzanırlar. Bu aksonların nükleus içinde sonlandığı hücreler ayrıdır. Koklear

nükleustan ayrılan liflerin çoğu beyin sapında çarpraz yaparak karşı taraf süperior olivary kompleks'e ulaşırlar. Az miktarda lif ise aynı taraf SOK'ye gider. SOK, işitme sisteminin ilk merkezi olarak kabul nitelendirilebilir.

Süperior olivary kompleks üzerindeki işitsel çekirdekler her iki kulaktan inhibisyon ve eksitasyon yapan uyarılar alırlar. Genellikle kontralateral kulaktan gelen uyarılar eksitasyon yaparken, aynı kulaktan gelen uyarılar inhibisyon yaparlar.

Medial SOK, dış tüylü hücrelerde biten çarpraz yapan efferent liflerin başlanma yeridir. Lateral SOK ise çarpraz yapmadan iç tüylü hücrelere giden liflerin başladığı yerdir. Efferent liflerin gürültülü ortamda duymak istediği sesi alabilmesi için kokleayı koruduğu ileri sürülmüştür (43).

Lateral lemniskal olarak giden uyarıların çoğu inferior kollikulusta sonlanır. Az bir kısmı ise inferior kollikulusu aşarak medial genikulat cisme uzanır. Çok az bir kısmı da diğer taraftaki inferior kollikulusa uzanır. Bu nükleus sadece bir ileti aktarma bölgesi olmayıp muhtemelen gürlük, frekans ve şiddet özelliklerinin birbirlerinden ayırt edilebilmesi ile biaurol işitme olmak üzere her türlü işitsel davranışla alakalıdır. Talamusun spesifik fonksiyonu halen bilinmemekle beraber medial genikulat cismi işitsel kortekse direkt bağlar.

İşitme merkezi temporal lobun Sylvian fissüründe bulunur. İşitsel korteksin her bölgesinde hücreler kolonlar şeklinde organize olmuştur, her bir bölgenin özel bir anlamı bulunmaktadır.

1.1.7. Sıçan Kulağı Anatomisi

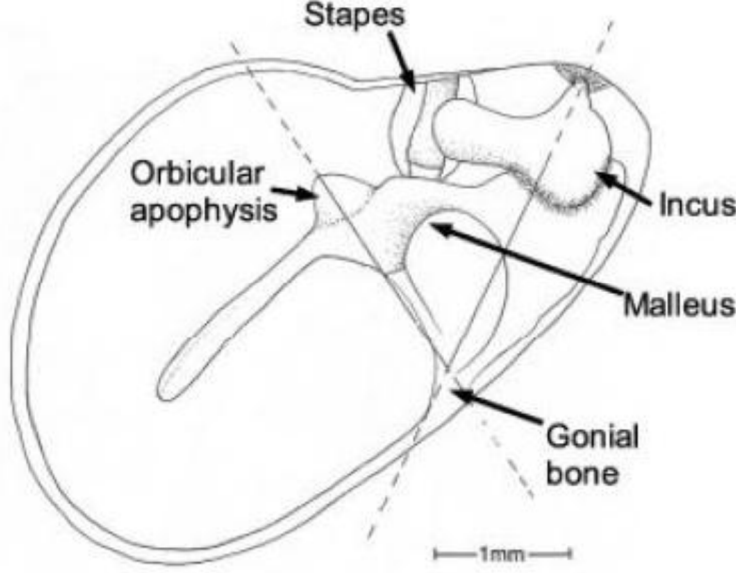
Sıçan orta kulağı, insan orta kulağındaki tüm anatomik yapıları içerir. Sıçandaki kemikçikler insandaki kemikçiklerin yaklaşık olarak dörtte biri kadardır (44). Sıçan orta kulak morfolojisi mikrotip organizasyon ortaya konularak Fleischer (45) tarafından tanımlanmıştır. Bu tanımlamanın iki ayırt edici özelliği bulunmaktadır:

1) Malleus, gonial bone kısmında timpanik anulusa yapışmıştır.

2) Malleus başı üstünde orbiküler apofiz adı verilen geniş bir kitle vardır.

İnsanlarda, $\sim 66 \text{ mm}^2$ olan timpanik membran alanı sıçanlarda yalnızca $\sim 11 \text{ mm}^2$ 'dir (46). Pars tensa ve pars flaksidanın boyutları da birbirinden farklıdır.

İnsanlarda timpanik membranın total büyüklüğüne kıyasla küçük bir pars flaksida mevcutken, sıçanlarda pars flaksida timpanik membranın 1/4 ila 1/3'ünü oluşturur.



Şekil 3. Sıçan orta kulağı. Lateralden timpanik membran kaldırılmış halde (45).

Sıçanlarda küçük bulla bulunmaktadır ve genellikle kapalı olan, horizontale pozisyonda östaki tüpü (ÖT) vardır. ÖT mukozası çoğunlukla goblet hücreleri, daha az oranda da muköz glandlar içerir (47). Sıçan ÖT açılma basıncı insandakine yakındır (48). ÖT iki ayrı silyalı ve sekretuar kanal yoluyla epitimpaniumla bağlantılıdır. Sıçan ve insanlardaki mukozal mukosilier transport sistemi birbirlerine benzemektedir (49). Sıçan orta kulağında temporal kemik içindedir. Muayene için timpanik membran normal bir otomikroskop ile kolayca görülebilir. Üç boyutlu olarak düşünürsek sıçan orta kulağı insaninkine benzerdir. Ancak sıçanlarda mastoid hücreler yerine kavite tabanından çıkıntı yapan timpanik bulla mevcuttur (50). Lateral duvarın büyük kısmını pars tensa ve geniş pars flaksidası ile timpanik membran oluşturur. Medial duvarda ÖT'nün timpanik ağzı, yuvarlak pencere, stapes ile birlikte oval pencere ve promontoryum bulunmaktadır. Silyalı ve sekretuar iki kanal haricinde timpanik boşluk, silyasız, basit, skuamöz küboidal epitel ile sarıdır. Patolojik durumlar geliştiğinde bu epitel yapısı değişip, kanallar dışında silyalı ve sekretuar hücreler yüksek sayıda görülür.

İnsanlarda, malleus-inkus kompleksi genellikle iki asıcı ligaman doğrultusunda olan rotasyonel aksa sahiptir. Bu iki ligaman; anterior malleolar ve

posterior inkudal ligamanlardır. Fleischer'a (45) göre sıçanlarda malleusun timpanik anulusa belirgin fiksasyonuna rağmen kompleks hala rotasyon yapabilmektedir. Bu ilişki ve inkus kısa kolunun bağlantısı insandaki gibi rotasyonel aks meydana getirir. Sıçan ile insan kulağı arasındaki bir diğer fark ise, sıçanlarda manubriumun, rotasyon aksına paralele yakın yerleşmesidir. Fleischer (45) yaptığı çalışmalarda orbiküler apofizin oluşturduğu kitlenin, malleus-inkus kompleksinin yerini değiştirdiğini göstermiştir. Bu da yüksek frekanslarda malleusun transvers bölümü boyunca ikinci bir rotasyon aksı meydana getirmektedir. Buna göre, mikrotip kulakların iki tane rotasyon aksı vardır ve malleusların iki adet vibrasyon modu olduğu sonucuna varılmıştır.

1.1.8. Ototoksisite

Ototoksisite, kulağın koklear ve/veya vestibüler dokularının, ilaçlar ve kimyasal ajanlar nedeni ile hücresel hasarlanması ve fonksiyonel olarak bozulmasıdır (51). Ototoksisite iç kulak dokularını hem geçici hem de kalıcı olarak etkileyebilir. Literatürde ototoksisitenin tanımlaması için bazı kriterlerden bahsedilmektedir. Ancak genel olarak kullanılan bir maddenin ototoksik olduğunun söylenebilmesi için bilateral olarak 250 ile 8000 Hz frekansları arasında en az 10 dB lik işitme kaybına neden olması gerekmektedir (52, 53).

Ototoksisitenin nedeni olarak suçlanan terapötik ajanlar genel olarak antibiyotikler, antineoplastik ajanlar, diüretikler, antiinflamatuvarlar, şelat yapıcı ajanlar, antimalaryal ilaçlar, ototropik ilaçlar ve diğerleri şeklinde sıralanabilir. Ototoksisite sonrası en sık rastlanan semptomlar tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir (5, 6). Tinnitus bunlardan en sık görülenidir ve genellikle frekansı 4-6 kHz arasında değişmektedir. Tinnitus işitme kaybından önce görülmektedir tam olarak geçmesi nadirdir. Ancak zamanla nöronal dejenerasyon sonrası tinnitus şiddeti azalabilir. Ototoksisiteye bağlı işitme kaybı ve tinnitus genellikle simetrik ve iki taraflıdır ancak nadiren tek taraflı ototoksik etki görülebilir. İşitme kaybı sensörinöral tiptir ve genellikle yüksek frekanslarda görülmektedir. Yapılan çalışmalarda ototoksisite için bazı predizpozan faktörler tanımlanmıştır. Altmışbeş yaşından büyük hastalarda, böbrek, karaciğer ve bağışıklık yetersizliği olanlarda,

ototoksisite öyküsü olanlarda, birden çok ototoksik ilacın aynı dönemde kullananlarda, gürültüye maruz kalanlarda, önceden sensörinöral işitme kaybı öyküsü olanlarda ve kollajen- vasküler hastalık öyküsü olanlarda ototoksisite görülme riski artmaktadır (5, 6, 54).

Ototoksisiteye bağlı vestibüler fonksiyon bozukluğu genellikle dengesizlik şeklindedir ve hastalar “dizziness” veya denge kaybından yakınmaktadırlar. Nadiren gerçek vertigo olarak görülebilir. Tam vestibüler kayıp gelişmedikçe, merkezi kompensatuar mekanizmaların etkisiyle vestibüler semptomlarda zamanla azalma görülür. Bazen nistagmista görülebilir. Ototoksisite gelişen yaşlı hastalarda görsel ve propriyoseptif fonksiyonlarda azalma olduğu için vestibüler semptomlar daha ciddi olabilmektedir (6, 54).

Aynı ilaca karşı bazı ailelerde birden fazla bireyde ototoksik etkinin görülmesi bu ilaçların ototoksik etkilerine karşı genetik yatkınlık olabileceğini düşündürmüştür (55). Yapılan çalışmalarda bazı spesifik mutasyonların hastaları ilaçların ototoksik etkisine daha yatkın hale getirdiği gösterilmiştir (56).

1.1.9. Sisplatin

Sisplatin 1845 yılında Peyrone tarafından sentezlenmiş ve daha sonraları deneysel ortamlarda en aktif platinyum bileşiğinin sisplatin olduğu ortaya konulmasıyla beraber 1970'li yılların başlarında kemoterapötik bir ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Sisplatin baş boyun bölgesi squamöz hücreli kanserleri, testis, over, serviks, mesane ve akciğer kanseri gibi yumuşak doku neoplazmalarının tedavisinde kullanılan oldukça etkili bir antineoplastik ajandır. Sisplatinin içerdiği platinyum atomları pürin bazlarının N7 pozisyonundaki DNA ile kovalent bağ kurarak, tümör hücrelerinde apoptozisi aktive eder. Daha sonra apoptozisin iyice artmasıyla beraber tümör hücresinde nekroz oluşur ve sisplatin bu yolla antineoplastik etkisini gösterir (58). Bununla beraber sisplatinin; ototoksisite, nefrotoksisite, gastrointestinal toksisite, myelotoksisite ve periferik nöropati gibi ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Özellikle nefrotoksisite ve ototoksisite doz sınırlayıcı majör yan etkileridir (8).

Sisplatinin ototoksik etkisi irreversible, bilateral ve progresif seyirlidir. Özellikle yüksek frekansları tutan sensorinöral işitme kaybı ve tinnitus

görülmektedir. Bu ototoksosite sıklığını veriliş yolu, yaş, genetik faktörler, diyet faktörleri, serum proteinleri, radyoterapi öyküsü gibi faktörler etkilemektedir (10, 58-60). Tinnitus genellikle geçicidir ancak nadiren kalıcı da olabilir. Sisplatin tedavisi alan hastaların % 2-36 'sında tinnitus görülürken, sensörinöral işitme kaybı hastaların %93'ünde görülmektedir (61, 62).

Sisplatin ototoksitesinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte intraselüler elektrolit değişimi ve birçok inflamatuvar mekanizmaların tetiklediği apoptozis ve sonrasında gelişen hücresel hasarlanmalar ile ototoksositeye neden olduğu düşünülmektedir (63). Yapılan bazı çalışmalarda sisplatinden en çok etkilenen yerlerin DTH'leri ve stria vaskularis olduğunu ileri sürülmüştür (10). Sisplatinin kokleada corti organı, lateral duvar hücreleri (Stria vaskularis ve spiral ligament) ve spiral ganglion hücreleri olmak üzere üç majör hedef organa etki etmektedir. Ancak sisplatin tedavisi sonrası en belirgin değişiklik DTH kaybıdır. DTH kaybı önce bazal kısımda ve üçüncü sırada görülür (64, 65). Koklear tüylü hücrelerde gelişen hücre ölümü doz bağımlıdır. Koklear tüylü hücre hasarı kokleanın bazal kısmında başlar ve ilaca maruz kalma ile beraber apikal kısımlara doğru ilerler. DTH'ler sisplatine daha hassas iken, İTH'ler karboplatine daha hassastır (9).

1.1.10. Cortexin

Cortexin 1999'dan beri klinik kullanıma girmiş, sığır beyninden elde edilen bir polipeptittir. Molekül ağırlığı (7 kilodalton) kan beyin bariyerini geçmesine izin verir. Cortexin eksitator ve inhibitör aminoasit nöromediatörleri içerir. Cortexin'in etki mekanizması kendi metabolik etkinliği ile ilişkilidir, GABA-erjik etkisi vardır eksitator ve inhibitör aminoasit dengesini, serotonin ve dopamin seviyesini düzenler, beyinde antioksidan aktivitesi ve bioelektriksel aktiviteyi düzenleyici etkisi vardır. Pilot çalışmalarda hemorajik ve iskemik felçlerde cortexin alan hastalarda tedavinin 5. gününden başlayarak nörolojik belirtilerde düzelme görülmüştür. Hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 3-7 gün gibi erken dönemde cortexin tedavisi alanların etkilenen fonksiyonlarının geri kazanımının arttığı görülmüştür. Tedaviye mümkün olduğunca çabuk başlandığında cortexinin nöron koruyucu etkisi daha belirgindir (14).

Akut iskemik serebrovasküler olay ve ciddi kapalı kafa travması geçiren 120 hasta ile yapılan çalışmada cortexinin fokal nörolojik belirtilerin regresyonunu ve klinik durumun gelişimini desteklediği gösterilmiştir. Onbirinci günde cortexin grubunda iyileşme kontrol grubuna göre üç kat fazla ve 30. günde anlamlı düzelme kontrol grubunda % 33 iken cortexin grubunda % 69 olarak bulunmuştur. Cortexin alan grup şiddetli semptomlarda daha hızlı ve belirgin gerileme göstermiştir (66).

Cortexin peridontal hastalığı olanların nöroprodektif tedavisinde trigeminal sinir nörofizyolojisini normalize etmiş ve peridontal dokularda inflamatuvar sürecin daha hızlı düzelmesini sağlamıştır. Kronik peridontal hastalığı olanlarda cortexin uygulaması sonrasında toparlanma 1,5-2 kat hızlı olmuş ve remisyon süresinde uzama görülmüştür (15).

Multiple sklerozlu hastalarda yapılan bir çalışmada cortexin multiple skleroza bağlı optik nörit olan hastalara uygulanmış ve atrofiye olmuş optik sinirde hacim artışı sağlamıştır (67).

1.1.11. Ototoksisitenin Odyolojik Monitorizasyonu

Ototoksisiteye maruz kalmış hastalarda odyolojik değerlendirilmenin gerekli olup olmadığına ve ne zaman gerektiğine karar vermek oldukça güç bir konudur. Ototoksisiteyi monitörize edecek test, testin zamanlaması, maliyet, fiziki şartlar, ototoksik ajanın özelliği ve hastanın işitme durumu gibi faktörler bu güçlüğü neden olmaktadır. Günümüzde ototoksisitenin monitörizasyonu için kullanılan odyolojik yöntemlerin sayısının artmış olmasına rağmen literatürde bunların duyarlılık ve özgüllükleri net olarak ortaya konulamamıştır. Uygulanabilecek standart bir prosedür yoktur. Ototoksik ilaç kullanma durumunda ve yüksek risk grubunda olan hastaların, ilaç kullanmadan önce, konvansiyonel odyometri, yüksek frekans odyometri, otoakustik emisyon, beyin sapı yanıtları (ABR) ile değerlendirilerek işitme seviyeleri tespit edilmelidir (2).

İdeal bir odyolojik monitorizasyon için tedavi öncesi işitmenin değerlendirilmesi gerekmektedir. Tedavi öncesi işitme düzeylerinin eksikliği işitme kaybı ile ototoksik ajan arasındaki ilişkiyi ortaya koymada ciddi zorluk yaratmaktadır (68-70). Tedavi öncesi yaygın bir değerlendirme yapılmalı, konvansiyonel frekans aralığındaki pür ton eşikleri (0.25-8 kHz), yüksek frekans

odyometriyi (YFO), timpanometriyi, konuşma odyometrisini ve otoakustik emisyon testlerini (OAE) içermelidir (71).

YFO ve OAE testleri pür ton odyometriye göre işitme eşiklerindeki değişiklikleri daha erken saptamaktadır. Ayrıca mevcut hastalığı nedeniyle düşük durumda olan hastalarda daha kolay uygulanabilmekle beraber zaman açısından daha verimli ve hesaplı bulunmaktadır (72). Ototoksik etkinin başlama ölçütü olarak genel kabul edilen tanımlama bir frekansta 20 dB, bir veya birkaç frekansta 15 dB'lik kayıp şeklindedir (69, 73). Bununla beraber bu konuda literatürde farklı pek çok tanımlamada vardır (5, 54).

Yüksek frekans odyometri ototoksosite monitörizasyonu için uzun süredir kullanılmaktadır. Ototoksitenin erken tanısı için duyarlı bir yol olarak 2-3 günde bir yüksek frekans odyometri (9-20 kHz) yapılması önerilmektedir. Çok ciddi hastalarda sınırlandırılmış beş frekans monitörizasyon protokolü önerilmiştir (1). Ancak yüksek frekans odyometri eşik değerlerinin yaşa mesleğe ırklara göre değişkenlikler göstermesi nedeniyle uygulamada bazı sorunlar oluşabilmektedir (2). Literatürde farklı görüşler olmasına rağmen, yüksek frekans odyometride 8000-14000 Hz frekanslar arasında 15 dB'lik ya da daha fazla eşik değer yükselmesinin ototoksik ajanın zararlı etkilerinin başladığı biçiminde yorumlanması önerilmiştir.

İşitsel beyin sapı yanıtları (ABR) işitme sinirinin başlangıcından orta beyne kadar olan bölümünde elektriksel akımın senkronize akışını inceleyen elektrofizyolojik bir testtir (74). İşitsel beyin sapı yanıtları sekizinci kraniyal sinir ile beraber beyin sapındaki nükleusların biyoelektriksel aktivite gösteren dalga serilerinden oluşur. İnsanda ABR'ler yedi pozitif dalgadan oluşur (75). Uyarıyı izleyen 1-10 msn içinde olanlar erken yanıtları oluşturmaktadır. Son görüşe göre I. dalga işitme sinirinin distalinden, II. dalga bu sinirin proksimalinden, III. dalga koklear nükleustan, IV. dalga superior oliver kompleksten, V. dalga lateral leminiskustan, VI. ve VII. dalgalar inferior kollikulustan rejenere olmaktadır (74, 76, 77). İşitsel beyin sapı yanıtları konvansiyonel odyometriye uyum sağlayamayan küçük çocuklarda ve bebeklerde monitörizasyon amaçlı kullanılabilir. Araştırmacılar, ABR'nin ototoksik değişikliklerin erken fark edilmesinde kullanılabilceğini ve böylelikle konuşma frekanslarında oluşabilecek kaybın önlenebileceğini ileri sürmüşlerdir (1).

Otoakustik emisyonlar (OAE), spontan ya da akustik uyarana yanıt olarak kulak tarafından üretilen ve dış kulak kanalından ölçülebilen düşük seviyeli seslerdir (78-79). Dış saçlı hücre hareketi koklea içerisinde mekanik bir enerji ortaya çıkarır. Bu enerji oval pencere ile orta kulağa ve daha sonra timpanik membrana ve kulak kanalına doğru iletilir. Timpanik membranın vibrasyonu ile akustik bir sinyal (otoakustik emisyon) oluşur ve bu sinyal hassas bir mikrofonla ölçülebilir (80,81). İşitme kaybı olmayan kulaklarda spontan otoakustik emisyonlar (SOAE), geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar (TEOAE) ve distortion product otoakustik emisyonlar (DPOAE) elde edilirken, 30 dB'yi gecen işitme kayıplarında TEOAE elde edilemezken DPOAE'ler elde edilebilmektedir (82, 83). Sisplatinin ototoksik etkisi ilk olarak koklea dış tüylü hücrelerini (DTH) etkilediği için erken tanıda DTH fonksiyonu ile ilişkili olan OAE testleri de kullanılabilir. Klinikte OAE testlerinden en çok transient OAE (TEOAE) ve distorsiyon ürünü OAE (DPOAE) testleri kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalarda TEOAE ve DPOAE cevapları konvansiyonel işitme eşiklerinden daha önce, ancak YFO eşiklerinden daha geç değişme eğilimindedir (71, 82, 84-87). Çocuklarda ototoksisite monitörizasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada YFO'nin DPOAE'dan daha önce değişiklikleri saptadığı ve bu iki testin de konvansiyonel frekans aralığında bakılan eşik değerlerinden daha önce değiştiği görülmüştür (86). DPOAE'nin sisplatinin ilk önce etkilemiş olduğu yüksek frekansları daha iyi ölçmesi sebebiyle ototoksik değişiklikleri TEOAE'dan daha erken saptadığı düşünülmektedir (81).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilen ağırlıkları 200–240 gr arasında değişen sağlıklı erişkin 30 Wistar Albino cinsi sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Bu çalışma Fırat Üniversitesi Etik Kurulu'ndan 15.10.2014 tarih 199 sayılı karar onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP proje no: TF.15.10) birimi tarafından temin edilmiştir.

Deneysel hayvan çalışması sırasında Helsinki Nihai Senedi (1986)'ndeki etik kuralların tümüne uyuldu. Deneklerin bakımı Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (FÜDAM) özel bir odada (12 saat karanlık, 12 saat aydınlık, sıcaklığın 21 santigrat derece olduğu, serbest yem ve su alabildikleri ve gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda) yapıldı.



Şekil 4. Sedatize edilen deneklere otomikroskopik muayene yapılışı

Çalışmada kullanılan bütün sıçanlara intraperitoneal yolla verilen 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve Xylazine 7,5 mg/kg (Rompun, Bayer, Almanya) kombinasyonu ile anestezi sağlandı. Otomikroskop (Zeiss, Germany) altında denek dış kulak yoluna uygun spekulum yerleştirilerek dış kulak yolu ve timpanik membranları muayene edildi (Şekil 4). Dış ve orta kulak patolojisi olan sıçanlar çalışmaya dahil edilmedi.

2.2. Gruplar

Denekler onarlı rastgele üç gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol grubu) : İntraperitoneal (i.p) saline solüsyonu 1 ml/gün dozunda yedi gün süre ile uygulanan grup

Grup 2 (Cisplatin grubu) : İntraperitoneal Cisplatin (Cisplatin-teva 10 mg 1 flakon, MED-İLAÇ San. ve Tic. A.Ş, İstanbul) iki gün süreyle 10 mg/kg'lık dozlarla toplamda 20 mg/kg kümülatif doza erişilerek uygulanan grup

Grup 3 (Cisplatin + Cortexin grubu): İntraperitoneal Cisplatin iki gün süreyle 10 mg/kg'lık dozlarla toplamda 20 mg/kg ve ek olarak i.p Cortexin (Cortexin 10 mg Flk, GEROPHARM, Rusya) 2 mg yedi gün süreyle uygulanan grup.

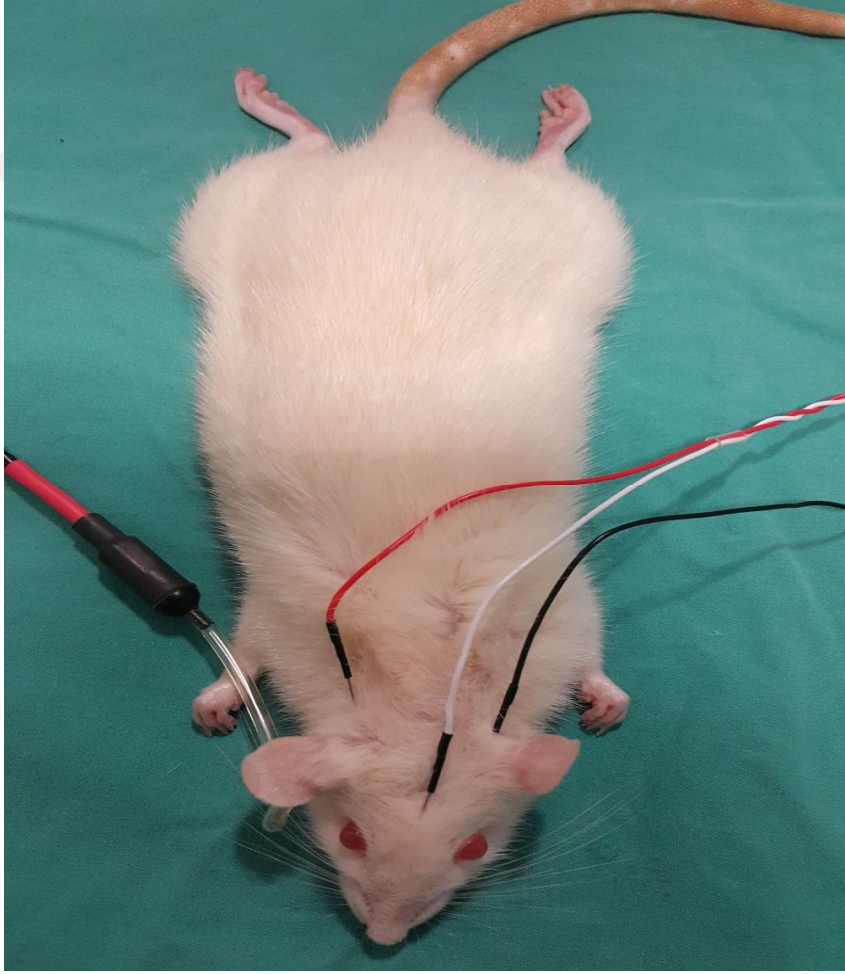
Çalışmamız sırasında, cisplatinin nefrotoksik etkisinden korunmak için tüm deneklere 3 gün boyunca yirmişer cc serum fizyolojik subkutan (s.c) olarak verildi.

Başlangıçtan itibaren 4. ve 8. günde çalışma gruplarının tamamında kullanılan bütün sıçanlara intraperitoneal yolla verilen 50 mg/kg Ketamin hidroklorür ve Xylazine 7,5 mg/kg kombinasyonu ile anestezi sağlanıp deneklerin sağ kulaklarından ABR ve DPOAE ölçümleri yapıldı. ABR ve DPOAE ölçümleri sonrasında 4. günde her gruptan beşer adet sıçan dekapite edildi. Yine tüm çalışma gruplarında her bir gruptan geriye kalan beş adet sıçan için 8. gün ABR ve DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra dekapitasyon yapıldı. Dekapitasyonun ardından deneklerin kokleaları hızla çıkarıldı. Histopatolojik değerlendirme için laboratuara gönderildi.

2.3. İşitmenin Değerlendirilmesi

Tüm deneklerin çalışma öncesi, çalışmanın 4. günü ve çalışmanın 8. gününde sağ kulaklarından ABR ve DPOAE ölçümleri yapıldı. ABR cevapları cilt altı iğne

elektrotlarla kaydedildi. Çalışmamızda ABR ölçümleri Medelec (USA) marka Synergy model ABR cihazıyla gerçekleştirildi. ABR ölçümlerine başlanmadan önce paslanmaz çelikten 20x0.30 mm'lik iğne elektrotlar (Technomed Europe) kullanılmıştır. Topraklama için elektrot sol mastoid bölge cilt altına ve referans olan elektrot sağ mastoid bölge cilt altına, aktif elektrot ise vertekste cilt altına yerleştirilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Sedatize edilen deneklere cilt altı elektrot uygulanması ve ABR ölçümü

Elektrotlar birbirine değdirildiğinde elektrot impedansının “0” Kohm, deneklere takıldıktan sonra ise impedansın “5” Kohm altında olmasına özen gösterildi. Ölçüm yapılan taraftaki dış kulak kanalının içine pediatrik kulak problrarı yerleştirildi. ABR ölçümünde klik uyarılar kullanıldı. Ölçüm yapılırken filtre 30-1500 Hz; tekrar oranı 21/sn; zaman penceresi 25 msn olarak ayarlandı. Sinyal averajlama için 1024 örnek alındı. 70 dB nHL şiddet seviyesinden kayda başlanarak

alınan yanıtlara göre şiddette değişiklikler yapıldı. ABR eşiği, ABR'nin V. dalgasının gözlenebildiği en düşük şiddet seviyesi olarak tanımlandı. Eşik düzeyi, gözle saptanabilen, tekrarlanabilirliği olan en düşük şiddet seviyesindeki davranım olarak tanımlanmıştır. Uyarıcı, 70 dB nHL düzeyinde verilmeye başlandı ve şiddet düzeyi eşik düzey bulunana kadar 20 dB'lik adımlarla azaltıldı. Eşiğe yaklaşıncaya 10 dB'lik şiddet adımları tercih edilerek, eşik saptanmıştır. Her ölçüm için en az iki trase oluşturularak doğru eşik düzeyi saptanmasından emin olundu.

DPOAE testi içinse Neurosoft (RUS) marka Neuro-Audio model klinik OAE cihazıyla yeni doğan probu kullanılarak ölçüldü (Şekil 6).



Şekil 6. Sedatize edilen deneklere DPOAE yapılması

Cihazdaki prob göstergesi ve oluşan dalga formlarının uygun konfigürasyonda olduğu gözlemlenen sonra ölçüme başlandı. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde; elde edilen 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 ve 12 kHz frekans bantlarında oluşan sinyal gürültü oranı “signal to noise (SNR)” esas alındı. Bazal işitme eşikleri tespit edildi ve işitme kaybı olan denekler çalışmaya dahil edilmedi.

2.4. Histopatolojik Değerlendirme

Histolojik çalışma için her gruptan alınan koklea dokuları dekalsifikasyon + %10'luk formol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik takip

serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4-6 µm kalınlığında alınacak kesitler hematoxilen-eozin ve masson trikrom ile boyanarak histopatolojik değişiklikler (ödem, konjesyon, dokuda ayrılma ve bozulmalar, spiral gangliyon hücrelerinde ödem, spiral gangliyon hücrelerinde vakuolizasyon) belirlendi. Değişiklikler, histopatolojik durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Maksimum skor 15 olarak belirlendi. Her bir denek için skorum yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı. Skorumların istatistiksel analizleri (SPSS version 22. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve posthoc-tukey testi) yapılarak histoskor oluşturuldu. Apoptozise giden hücreleri tespit etmek için ise TUNEL metodu kullanıldı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde hematoxilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 20' luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik İndeks (AI)'i hesaplandı.

2.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiki SPSS 22 paket programı aracılığı ile yapıldı. İstatistiksel yöntem olarak One-way ANOVA ve posthoc-tukey testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Her üç gruba ait işitme ve histopatolojik değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

3.1. İşitmenin Değerlendirilmesi

3.1.1. ABR Bulguları

Çalışmanın başlangıcında (ilaç uygulaması öncesi) yapılan ABR testinde Kontrol, Sisplatin ve Corteksin gruplarında ortalama işitme eşikleri benzerdi ($p>0.05$).

Tablo 1. ABR testinde işitme eşiği ortalamaları (ABR ort. dB \pm standart sapma)

Gruplar	0. gün	4. gün	8. gün
Grup I (Kontrol Grubu)	10.50 \pm 4.37	10.50 \pm 5.50	11.00 \pm 4.18
Grup II (Sisplatin Grubu)	10.00 \pm 4.08	16.50 \pm 3.37 ^a	25.00 \pm 3.53 ^{ab}
Grup III (Corteksin Grubu)	9.50 \pm 4.97	13.50 \pm 3.37	16.00 \pm 2.23 ^c

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

^a 4. ve 8. günlerde Sisplatin grubu Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında işitme eşiklerinde anlamlı yükselme mevcut ($p<0.05$),

^b Sisplatin grubunun 4. ve 8. günleri birbiri ile karşılaştırıldığında işitme eşiklerinde anlamlı yükselme mevcut ($p<0.05$),

^c Corteksin grubu ile Sisplatin grubunun 8.gündeki ortalama işitme eşikleri karşılaştırıldığında Corteksin grubunda anlamlı düşme mevcut ($p<0.05$).

Çalışmanın 4. gününde kontrol grubu ile sisplatin grubu karşılaştırıldığında sisplatin grubunda ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme vardı ($p<0.05$). Kontrol grubu ile Corteksin grubu karşılaştırıldığında Corteksin grubunda ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme vardı ($p<0.05$). Sisplatin grubu ile Corteksin grubu karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Çalışmanın 8. gününde yapılan ABR testinde, kontrol grubuyla kıyaslandığında sisplatin grubunda ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak belirgin bir yükselme vardı ($p<0.05$). Kontrol grubu ile Corteksin grubu karşılaştırıldığında Corteksin grubunda ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme vardı ($p<0.05$). Sisplatin grubuyla corteksin grubu

karşılaştırıldığında ise sisplatin grubuna göre cortexin grubunda ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($p<0.05$).

Sisplatin grubunun 4. ve 8. günündeki ortalama işitme eşikleri birbiriyle kıyaslandığında 8. günde ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme izlendi ($p<0.05$). Cortexin grubunun 4. ve 8. günündeki ortalama işitme eşikleri birbiriyle kıyaslandığında ortalama işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.05$)

3.1.2. DPOAE Bulguları

Çalışmamızdaki tüm grupların çalışmanın 0., 4. ve 8. günündeki DPOAE testlerinin ortalama değerleri Tablo 2' de özetlenmiştir.

Tablo 2. DPOAE test sonuçları

Frekans	Grup I (Kontrol Grubu) (dB±sd)			Grup II (Sisplatin Grubu) (dB±sd)			Grup III (Cortexin Grubu) (dB±sd)		
	0.gün ^a	4.gün ^a	8.gün ^a	0.gün	4.gün	8.gün	0.gün	4.gün	8.gün
1,5 khz	-5,7±0,41	-5,4±0,48	-5,8±0,57	-7,5±0,53	-10,9±0,5 ^b	-11,3±0,4 ^b	-5,13±0,1	-11,5±0,33 ^c	-11,9±0,65 ^c
2 khz	9,1±0,75	9,5±0,25	9±0,73	8,35±0,41	-6,1±0,83	-7,2±0,6	7,54±0,3	3,04±0,65 ^c	3,2±0,49 ^c
3 khz	7,7±0,4	8,1±0,74	7,7±1,07	8,3±0,77	2±2,29	-0,64±0,4	6,2±2,17	3,7±2,6	2,7±2,73
4 khz	18±0,5	18,5±0,86	18±2,87	16,3±0,9	2,2±0,93 ^b	1,5±0,25 ^b	13,2±0,51	10,5±0,88	11,7±0,8
5 khz	21,7±1,32	21±1,85	22±2,19	23±1,29	6,1±0,91	4,54±0,33	14,9±0,48	12,3±0,57 ^c	11,9±0,63 ^c
6 khz	27,7±3,58	25±1,73	26,5±1,73	31,2±1,55	13,2±0,6 ^b	12,5±0,52 ^b	25,6±1,67	21,5±1,3 ^c	20,9±0,95 ^c
8 khz	32,3±3,69	31,5±4,88	32,1±2,74	35,4±0,91	10,4±0,8 ^b	9,8±0,54 ^b	37,2±0,63	23,51,12	21,5±1,12
10 khz	32,2±2,39	32,5±2,2	31,8±1,57	28,2±1,25	5±0,4 ^b	5,1±0,84 ^b	29,5±1,5	27,1±0,43	22,2±0,77
12 khz	17,15±1,46	17,3±4,07	17±3,67	22,65±1,17	-0,5±0,08	1±0,5	27,1±0,5	7,95±0,67 ^c	8,5±0,58 ^c

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. One-way ANOVA testi yapıldı.

^a Kontrol grubunun 0., 4. ve 8. günleri karşılaştırıldığında anlamlı değişiklik izlenmedi ($p>0.05$).

^b Sisplatin grubu 4. ve 8. günleri karşılaştırıldığında anlamlı değişiklik izlenmedi ($p>0.05$).

^c Cortexin grubu 4. ve 8. günleri karşılaştırıldığında anlamlı değişiklik izlenmedi ($p>0.05$).

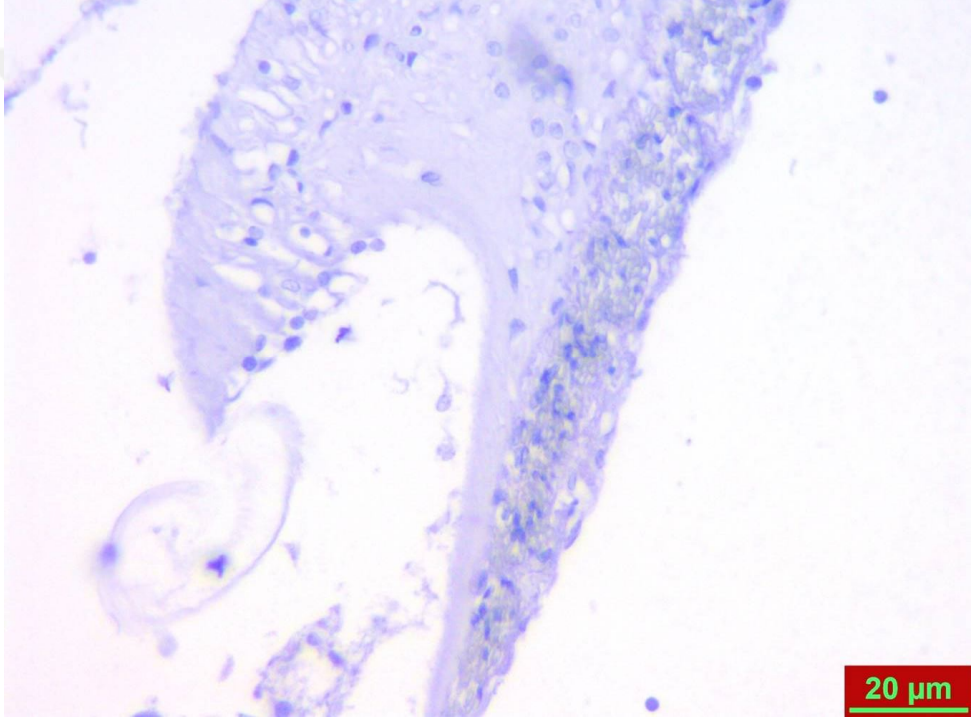
Grup I'de tüm frekanslarda 0., 4. ve 8. günlerdeki değişiklikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$). Çalışmanın 4. gününde Kontrol grubu ile Sisplatin ve Cortexin grupları kıyaslandığında tüm frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı emisyon kaybı izlendi ($p<0.05$). Sisplatin grubunda çalışmanın 4. ile 8. günleri arasında 1,5, 4, 6, 8 ve 10 kHz'de istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmezken ($p>0.05$) diğer frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı bir emisyon kaybı görüldü ($p<0.05$). Cortexin grubunda çalışmanın 4. ile 8. günleri arasında 1,5, 2, 5, 6 ve 12 kHz'de istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmezken

($p>0.05$) diğerk frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı bir emisyon kaybı görüldü ($p<0.05$). Çalışmanın 4. ve 8. günlerinde Sisplatin ve Cortexin gruplarında sisplatin ototoksitesisi meydana gelirken, Cortexin grubunda bu günler arasında 2, 5 ve 12 kHz'de istatistiksel olarak anlamlı emisyon kaybı izlenmemiştir.

3.2. Histopatolojik Bulgular

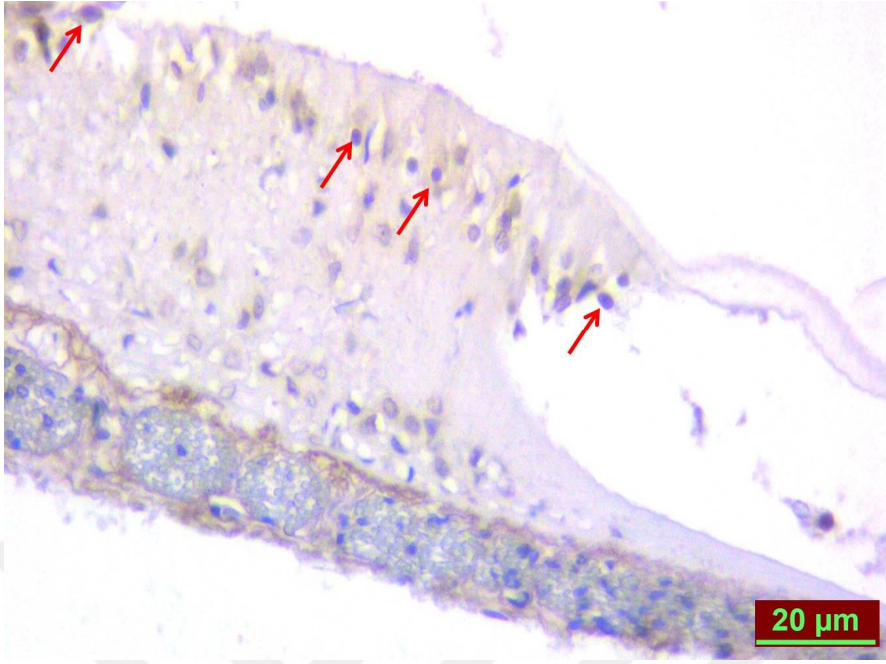
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi yapıldı.

Kontrol grubunda TUNEL pozitifliği izlenmedi (Şekil 7).



Şekil 7. Kontrol grubunda TUNEL pozitifliği izlenmedi.

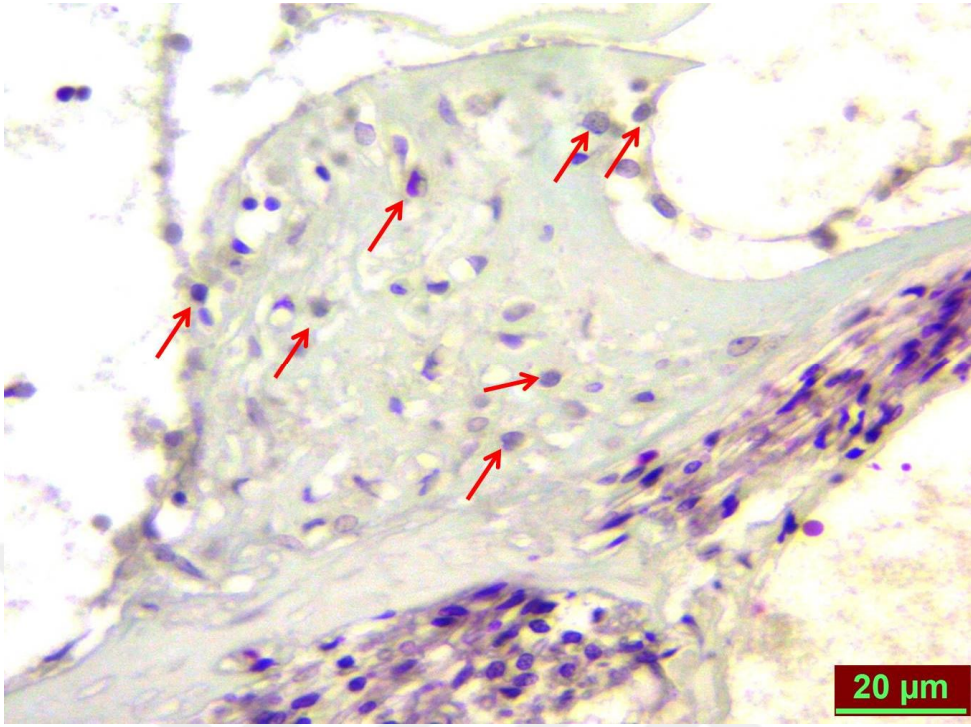
Kontrol grubu ile kıyaslandığında çalışmanın 4. gününde sisplatin (Şekil 8) ve corteksin (Şekil 9) gruplarında artmış TUNEL pozitifliği saptandı ($p<0.05$). Yine benzer şekilde çalışmanın 8. gününde Kontrol grubuna göre Sisplatin (Şekil 10) ve Corteksin (Şekil 11) gruplarında anlamlı olarak TUNEL pozitifliğinde artış izlendi ($p<0.05$).



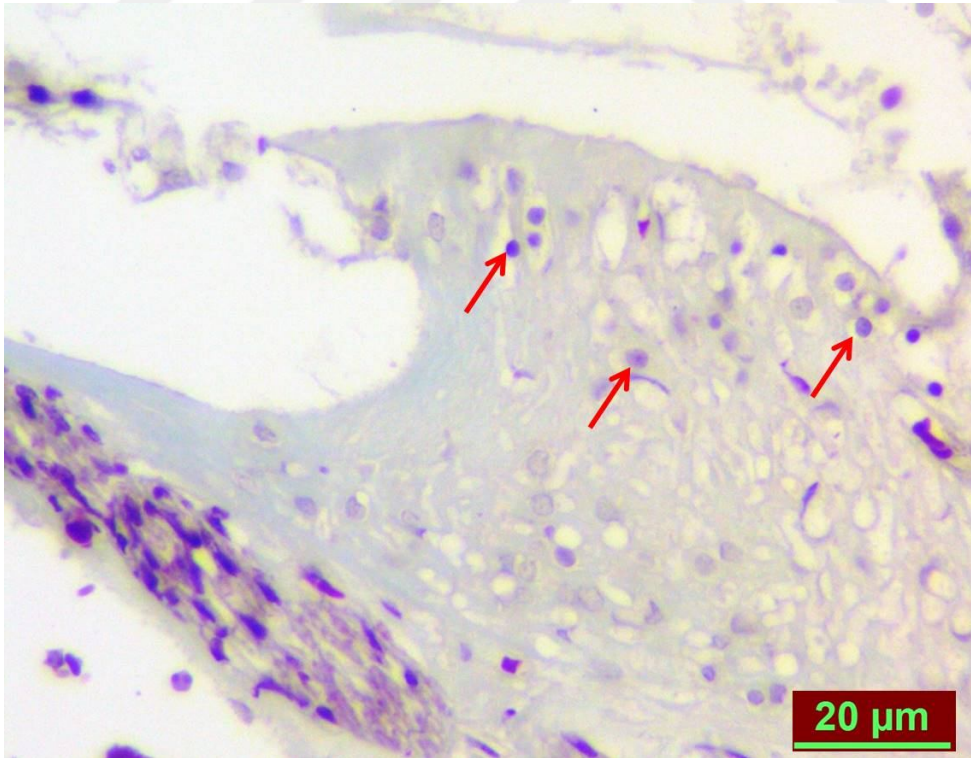
Şekil 8. Sisplatin grubu 4.günde TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 9. Corteksin grubu 4.günde TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 10. Sisplatin grubu 8.günde TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 11. Corteksin grubu 8.günde TUNEL pozitif hücreler (→)

Sisplatin grubu ile Corteksin grubu kıyaslandığında çalışmanın 4. gününde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken ($p>0.05$), çalışmanın 8. günündeki sisplatin grubunda TUNEL pozitifliğinde belirgin artış gözlemlendi ($p<0.05$).

Tablo 3. Gruplar arası Apoptotik indeks (Aİ) değerleri

	Apoptotik indeks (%)	
	4. gün	8. gün
Grup I (Kontrol Grubu)	0±0	0±0
Grup II (Sisplatin Grubu)	4.16±0.40 ^a	9.50±0.83 ^{ab}
Grup III (Cortexin Grubu)	3.66±0.51 ^a	2.25 ± 0.50 ^{ac}

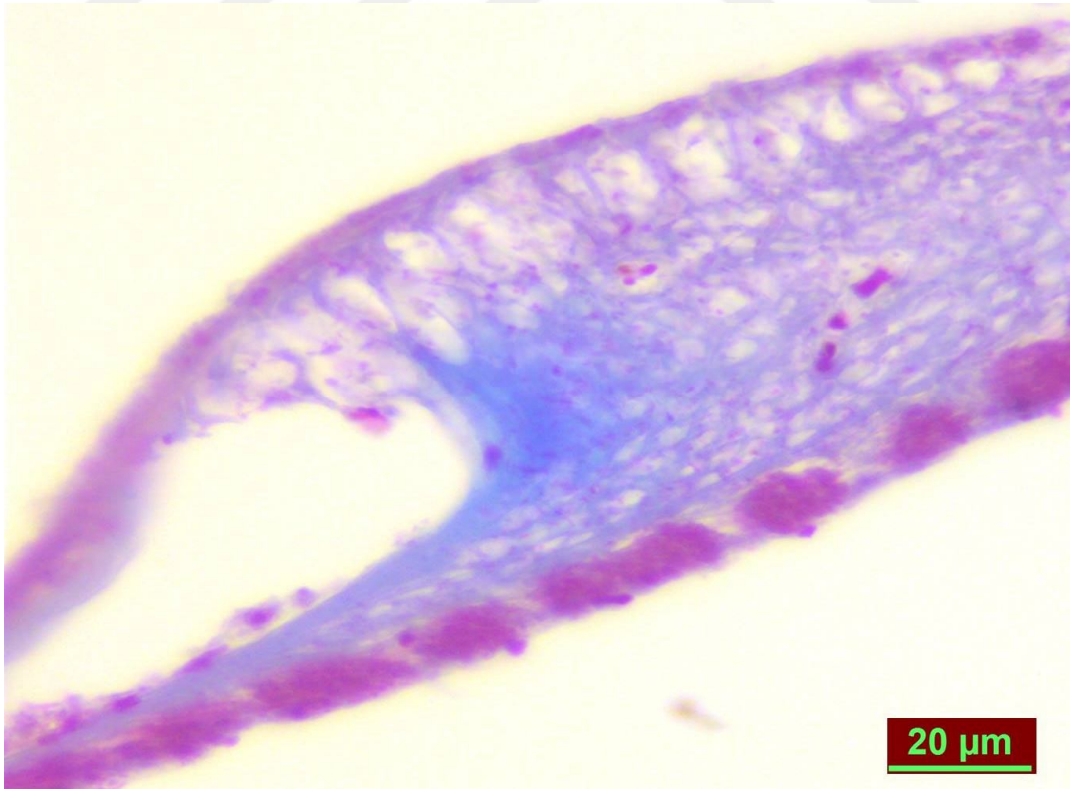
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında Sisplatin ve Cortexin gruplarında 4. ve 8. günlerde anlamlı apoptozis mevcut ($p<0.05$).

^b Sisplatin grubu 8. gün Aİ değerinde Sisplatin grubu 4.gündeki Aİ değerine göre anlamlı oranda yükselme mevcut ($p<0.05$).

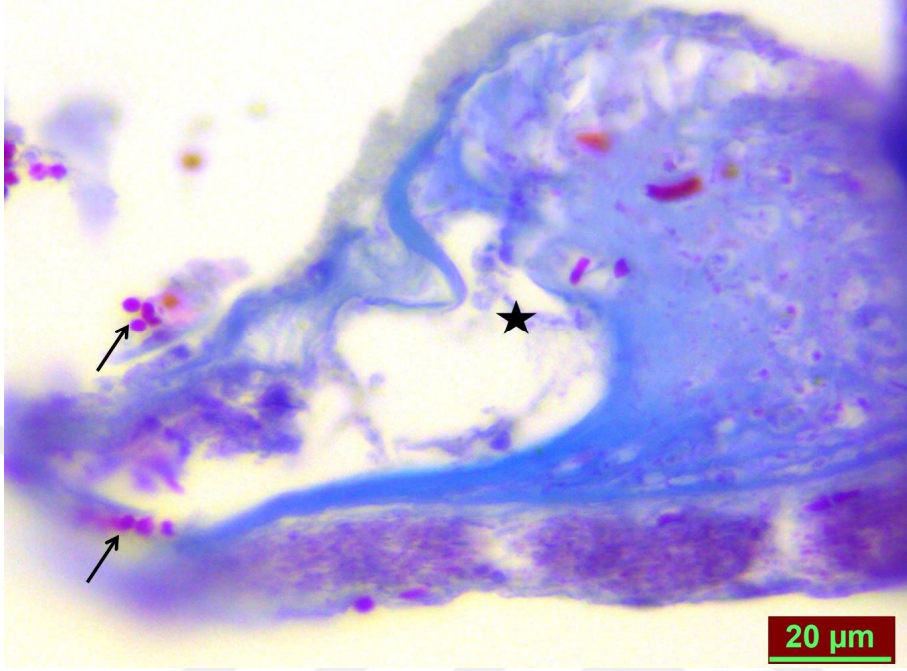
^c 8.gündeki Cortexin grubu ile Sisplatin grubu karşılaştırıldığında cortexin grubunda anlamlı azalma mevcut ($p<0.05$).

Histopatolojik inceleme için yapılan üçlü boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; kontrol grubunda korti organı normal görünümdeydi (Resim 9).

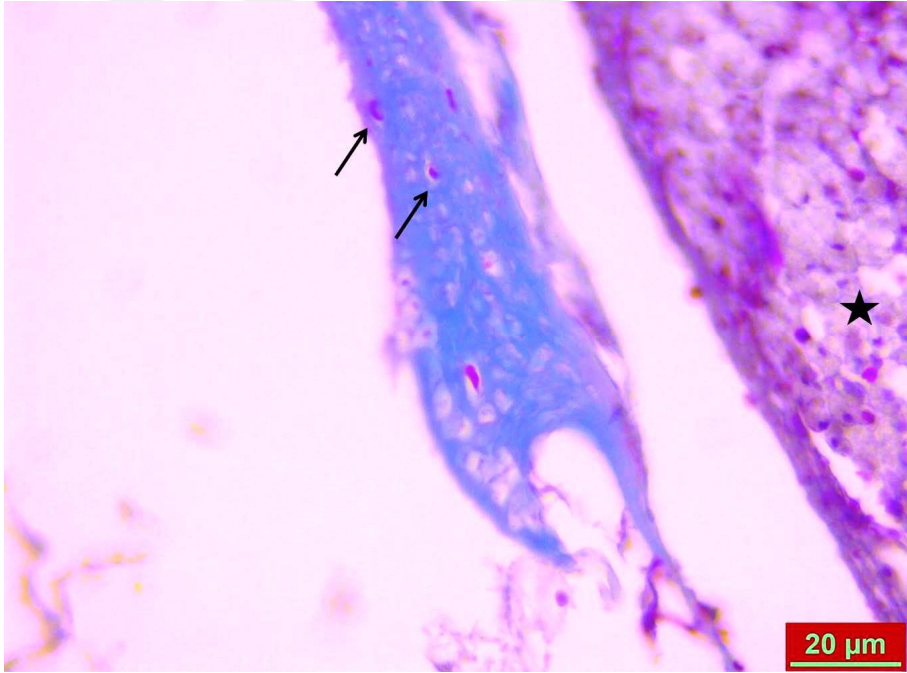


Şekil 12. Kontrol grubunda normal görünümlü korti organı.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında çalışmanın 4. gününde sisplatin (Şekil 13) ve Corteksin (Şekil 14) gruplarında hafif derecede ödem ve konjesyon izlendi.

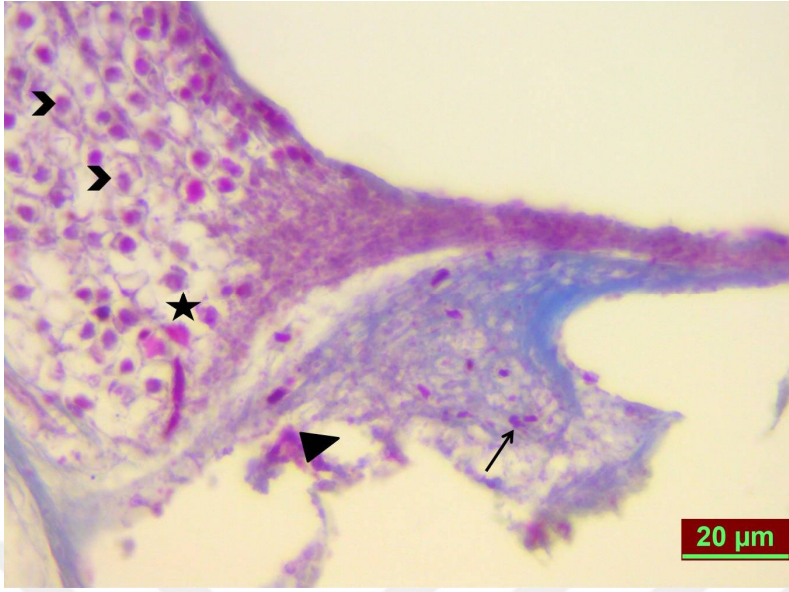


Şekil 13. Sisplatin grubu 4. Günde hafif derecede ödem (*) ve konjesyon (→).



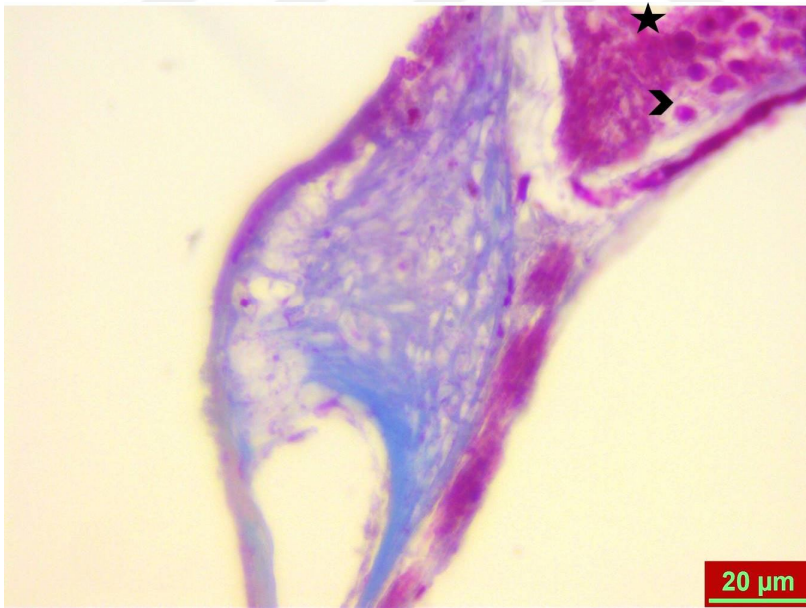
Şekil 14. Corteksin grubu 4.günde hafif derecede ödem (*) ve konjesyon (→).

Sisplatin grubunda 8. günde (Şekil 15) konjesyon ile dokuda ayrılma ve bozulmalar belirgindi. Bununla birlikte spiral gangliyon hücrelerinde ödem ve vakuolizasyon dikkat çekiyordu.



Şekil 15. Sisplatin grubu 8. Günde konjesyon (→), dokuda ayrılma ve bozulmalar (▶) ile spiral gangliyon hücrelerinde ödem (*) ve vakuolizasyon (>).

Corteksin grubunda 8. günde (Şekil 16) ise spiral gangliyon hücrelerindeki ödem ve vakuolizasyon belirgin şekilde iyileştiği ve kontrole yakın olduğu izlendi.



Şekil 16. Corteksin grubu 8.günde spiral gangliyon hücrelerinde hafif derecede ödem (*) ve vakuolizasyon (>).

Değişiklikler, histopatolojik durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Maksimum skor 15 olarak belirlendi. Her bir denek için skorlama yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı.

Tablo 4. Histopatolojik değişiklikler

		Ödem				Konjesyon				Dokuda ayrılma ve bozulmalar				Spiral gangliyon hücrelerinde				Spiral gangliyon hücrelerinde			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Grup I (Kontrol Grubu)	4.gün	4	1	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-
	8.gün	4	1	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-
Grup II (Sisplatin Grubu)	4.gün	-	2	3	-	-	3	1	-	4	1	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-
	8.gün	-	-	2	3	-	-	2	3	-	1	1	3	-	1	2	2	-	-	2	3
Grup III (Cortexin Grubu)	4.gün	-	3	2	-	-	4	2	-	4	1	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-
	8.gün	3	2	-	-	3	2	-	-	4	1	-	-	3	2	-	-	4	1	-	-

Çalışmamızda elde edilen histopatolojik değişiklikler baz alınarak yapılan histoskorlamada; çalışmanın 4. gününde Sisplatin ve Cortexin gruplarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda ödem ve konjesyon geliştiği gözlemlendi ($p<0.05$).

Çalışmanın 8. gününde sisplatin grubunda kontrol grubuna ve sisplatin grubunun 4. günündeki değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda ödem, konjesyon, dokuda ayrılma ve bozulma, spiral gangliyon hücrelerinde ödem, spiral gangliyon hücrelerinde vakuolizasyon skorlarında artış geliştiği izlendi ($p<0.05$).

Çalışmanın 8. gününde cortexin grubunda sisplatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda ödem, konjesyon, dokuda ayrılma ve bozulma, spiral gangliyon hücrelerinde ödem, spiral gangliyon hücrelerinde vakuolizasyon skorlarında azalma izlendi ($p<0.05$).

Tablo 5. Histopatolojik değişiklikler baz alınarak yapılan histoskorlama

		Ödem		Konjesyon		Dokuda ayrılma ve bozulmalar		Spiral gangliyon hücrelerinde ödem		Spiral gangliyon hücrelerinde vakuolizasyon	
Grup I (Kontrol Grubu)	4.gün	0.2 ± 0.44 ^a	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00
	8.gün	0.2 ± 0.44 ^a	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00
Grup II (Sisplatin Grubu)	4.gün	1.60±0.54 ^a	1.00±0.70 ^a	0.20 ± 0.44	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00
	8.gün	2.60±0.54 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}	2.40±0.89 ^{ab}	2.20±0.83 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}	2.60±0.54 ^{ab}
Grup III (Cortexin Grubu)	4.gün	1.40±0.54 ^a	1.20±0.44 ^a	0.20 ± 0.44	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00	0 ± 00
	8.gün	0.40±0.54 ^c	0.40±0.54 ^c	0.20 ± 0.44 ^c	0.40±0.54 ^c	0.20 ± 0.44 ^c	0.40±0.54 ^c	0.40±0.54 ^c	0.40±0.54 ^c	0.20 ± 0.44 ^c	0.20 ± 0.44 ^c

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Histopatolojik değişiklikler açısından 4. günde kontrol grubuna göre Sisplatin ve Cortexin grubunda, 8. günde ise Sisplatin grubu ile Kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlendi ($p<0.05$).

^b Sisplatin grubu 4. ve 8. günleri kendi arasında karşılaştırıldığında 8. günde histoskorlarda istatistiksel olarak anlamlı yükselmeler mevcut ($p<0.05$).

^c 8. günde Cortexin grubu ile Sisplatin grubu karşılaştırıldığında histoskorlarda Cortexin grubunda anlamlı azalma izlendi ($p<0.05$).

4. TARTIŞMA

Ototoksisite, çeşitli terapotik ilaçlar veya kimyasal ajanlarla karşılaşma sonucu koklear ve vestibüler yapılarda ortaya çıkan hasarlanma için kullanılan genel bir kavramdır (1). Ototoksisite gelişmesi sonrası meydana gelen başlıca yakınmalar çınlama, işitme azlığı ve baş dönmesidir (5, 6). Gelişen bu ototoksik etkiler geçici veya kalıcı olabilmektedir. Ototoksisitenin tanımlaması için birçok çalışma yapılmıştır. Genel olarak, kullanılan bir ajanın ototoksik olduğunun söylenebilmesi için bilateral olarak 250 ile 8000 Hz frekansları arasında en az 10 dB lik işitme kaybına neden olması gerekmektedir (52, 53).

Sisplatin kaynaklı ototoksisite genellikle kulak çınlaması ve yüksek frekanslarda başlayan işitme kaybı ile kendini gösterir, ancak bu etki konuşmayı algılama için önemli olan düşük frekanslarda uzanabilir (88, 89). Bu etki doz bağımlı, kümülatif etkili ve genellikle kalıcıdır (90). Sisplatinin ototoksik etkisi kokleanın tabanından başlayan dış tüylü hücre harabiyeti ile kendini gösterir (91, 92). Daha sonra yapılan çalışmalarda dış tüylü hücelere ek olarak stria vaskularis ve spiral ganglion hücrelerinde de harabiyet oluştuğu ve bunların doğrudan hedef olan dış tüylü hücre kaybı ile paralel bir zaman akışı içinde cereyan ettiği bildirilmiştir (93).

Literatürde kobaylarda ototoksisite gelişmesi için yeterli kümülatif intraperitoneal sisplatin dozunun 12 mg/kg olduğunu bildirilmiştir (94). Bu nedenle çalışmamızda 10 mg/ kg sisplatin, 2 gün süre ile intraperitoneal olarak toplam 20 mg / kg kümülatif dozda verilmiş olup istenen ototoksik etki sağlanabilmiştir. Çalışmamızda, cisplatinin nefrotoksik etkisinden korunmak için tüm deneklere 3 gün boyunca yirmişer cc serum fizyolojik subkutan (s.c) olarak verildi. Çalışma sırasında sisplatinin nonspesifik etkileri nedeniyle ölen hayvan olmadı.

Moleküler düzeyde, sisplatin süperoksit anyon gibi reaktif oksijen ürünlerinin (ROÜ), üretilmesini uyarır (12, 95). Reaktif oksijen ürünlerinin (ROÜ) artması ile glutatyon ve antioksidan enzimler azalır (96). Antioksidan enzimlerin inhibe olmasıyla beraber, süperoksitler, hidrojen peroksit ve toksik lipidlerin etkisiyle koklear hücreleri içinde kalsiyum girişi başlar ve apoptozis tetiklenir (12). Ototoksisite yolaklarındaki erken bir aşamada ROÜ üretilmesini önleyebilecek ideal

bir antioksidan bulabilmek için birçok deneysel çalışma yapılmıştır (10). Ne yazık ki, bu maddelerin pek çoğu, cisplatinin antitümör etkilerini inhibe ettiği ve/veya insanlar için toksik yada bilinmeyen etkilere neden olduğu bildirilmiştir (97).

Bazı yazarlar cisplatinin ototoksosite mekanizmasını; ROÜ artışı ile nitrik oksit sentaz (NOS) düzeyinin artması sonucu oluşan nitrik oksit (NO) üretimi ile ilişkilendirmektedirler. Bu düşünceyle yapılan bir çalışmada guinea piglerde cisplatinle indüklenen ototoksitede NOS inhibitörü olan NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) in koruyucu etkisi olup olmadığı araştırılmış ve çalışmanın sonucunda ABR eşik değişikliklerinin minimal olduğu ve histopatolojik incelemelerde de muhtemel NOS II aktivitesinin redüksiyonu sonucunda kokleada düşük NO seviyeleri tespit edilmiştir (98). Benzer düşünceyle yapılan başka bir çalışmada da cisplatin uygulanan rat koklealarında NO seviyelerinin arttığını saptanmıştır. Bu çalışmada nitrik oksit sentaz inhibitörü olan aminoguanidinin cisplatin kaynaklı işitme azlığını önemli ölçüde düzelttiği görülmüştür (99). Nagy ve ark.(100)ları tarafından cisplatin uygulaması sonrasında kokleaları immünohistokimyasal incelemeye tabi tutulmuş farelerde nükleer faktör kappa B (NF- kB) ve iNOS için stria vaskularis ve spiral ligamentte immun tutulumun artmış olduğu gösterilmiştir. NF- kB üretimindeki artışın spiral ligament ve stria vaskulariste iNOS artışını indüklediği ve NO üretimine ve işitme azlığına neden olduğu düşünülmüştür. Bununla beraber tüylü hücrelerde NF- kB'nin hücre yaşam süresini uzattığı öngörülmüştür. Steroidlerin NOS üretimi üzerindeki inhibitör etkisinden yola çıkarak yapılan bir çalışmada deksametazon ve hidrokortizonun NO ile indüklenen hücre hasarını azalttığı gösterilmiştir (101). Bu bulgular Himeno ve ark. 'nın (102) çalışmaları ile de desteklenmektedir. Ayrıca Daldal ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da bu bulguların paralelinde deksametazonun, NO sentez yolağı üzerinden cisplatin ile indüklenmiş ototoksiteden koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (58).

Sisplatin verilmesi sonrasında hücrenin poli (ADP- riboz) polimeraz (PARP-1) aktivasyonuna neden olarak başka bir apoptotik yoldan daha mevcuttur. Bu yolda c – Jun N- terminal kinaz 1 (JNK-1) enzimi apoptozisi arttıran faktörün üretilmesi ve bunu takiben gelişen hücre ölümü için gereklidir (103). Bu apoptotik

yolak için gerekli olan JNK indüksiyonunu ve hücre ölümünü; HSP 70, HSP 32 (hemoksijenaz HO-1) gibi ısı şok proteinleri inhibe ederler (104-106).

Ototoksisiteden korunmak için literatürde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların temelinde endojen mekanizmaları direk olarak aktive etmek veya ekzojen ajanlar vasıtasıyla endojen mekanizmaları aktive etmek mantığı yatmaktadır. Endojen koruyucu mekanizmalarda görevli ajanlar glutasyon, antioksidan enzimler, ısı şok proteinleri, adenosin reseptörleri ve hem oksijenaz – 1' dir (107).

Sisplatinin yaptığı tüylü hücre hasarına karşı glutasyonun belirgin koruyucu etkisi vardır. N-asetilsisteinin glutasyon sentezini indüklediği uzun yıllardır bilinmektedir. Burdan yola çıkarak Dickey ve ark. (108) larının ratlarda yaptıkları bir çalışmada N-asetilsisteinin sisplatin ototoksisitesinden koruyucu etkisi olup olmadığı araştırılmış ve çalışma sonucunda ABR ile yapılan ölçümlerde anlamlı oranlarda koruyucu etkinlik gösterilmiştir. Başka çalışmalarda da N-asetil sisteinin sisplatin ototoksisitesinde dış tüylü hücrelerde ve işitme sinirinde koruyucu etkinliği olduğu gösterilmiştir (60, 109).

Korver ve ark.(110)'ları tarafından D-metionin ile yapılan bir çalışmada yalnızca sisplatin alan hayvanlarla kıyaslandığında ABR ölçümlerinde tama yakın bir korunma izlenirken histolojik incelemelerde de dış tüylü hücre hasarının meydana gelmediği tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada da D-metioninin kokleada antioksidan etkinliğin artırdığı gösterilmiştir (111). L-metionin'inde sisplatin uygulanan ratlarda ABR eşiklerinde ve dış tüylü hücrelerde koruyucu olduğu gösterilmiştir (112).

Ebselen glutasyon peroksidaz gibi çalışan ve lipid peroksidasyonunda inhibe eden bir antioksidandır. Rybak ve ark. (113)'ları ratlarda yaptıkları bir çalışmada ebselenle birlikte reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azaltabilen bir ksanthine oksidaz inhibitörü olan Allopurinol'u sisplatinin ototoksik etkisine karşı koruyucu olarak tek başlarına ve kombine olarak uygulamışlar. Sonuç olarak bu ajanların ototoksisiteden koruyucu etkileri hem ABR ölçümleri ile hemde dış tüylü hücrelerde korunma ile gösterilmiştir. Lynch ve ark. (114)'ları da ebselenin DTH ni ve işitme eşiklerini koruduğunu göstermişlerdir.

Fetoni ve ark. (59)'ları wistar ratlarda bir çalışma yaparak sisplatin uygulanan deneklere eş zamanlı tiopronin (N-(2-mercaptopropionyl)-glycine) uygulamışlardır.

Hem DPOAE hem de elektronmikroskopik inceleme yapılan çalışmada DPOAE ölçümlerinde sadece sisplatin uygulanan gruba kıyasla tioproninin koruyucu etkileri olduğu görülmüştür. Benzer bulgular elektromikroskopik inceleme ilede desteklenmiştir. Sadece sisplatin uygulanan gruba kıyasla sisplatinle birlikte tiopronin verilen grupta kokleada daha az hasarlanma saptanmıştır.

Literatürde sisplatin ototoksitesisi üzerine steroidlerin koruyucu etkilerini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Daha önceki çalışmalarda steroidlerin iç kulakta reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu önledikleri bildirilmiştir (115, 116). Hill ve ark. (117)'lerinin yaptıkları çalışmada, sisplatin uygulanan farelerde intratimpanik (i.t) olarak uygulanan deksametazonun otoprotektif etkisini araştırmışlar ve sisplatinle indüklenen ototoksitede i.t deksametazon uygulananın ABR eşik değişikliklerini azaltarak kokleada koruyucu bir etki gösterdiği sonucuna varmışlardır. Bunun yanında sisplatin verilen kobaylarda sistemik uygulanan deksametazonun koruyucu etkisini araştırma amaçlı yapılan başka bir çalışmada sadece deksametazon veya sadece salin veya sadece sisplatin verilen gruplarla karşılaştırılmasında ABR eşikleri tüm gruplarda benzer bulunmuştur. Ancak elektron mikroskopisi ile yapılan incelemeler ile deksametazonun stria vaskularis üzerine koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (118).

Literatürde sisplatin ototoksitesisi üzerine koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş bir başka ajanda E vitamini zincir kırıcı antioksidan olarak bilinmektedir. Teranishi ve Nakashima kobaylarda yaptıkları bir çalışmada sisplatin uygulanan deneklere Trolox (α -tokoferolün suda eriyebilen sentetik analogu) solüsyonunu lokal olarak direkt yuvarlak pencere üzerine uygulanmıştır. Trolox ve sisplatinin eş zamanlı uygulandığı bu hayvanlarda sisplatinin tek başına uygulandığı hayvanlara göre ABR eşiklerinde önemli ölçüde düzelmeler görülmüştür (119). E vitamininin bu koruyucu etkileri başka çalışmalarda desteklenmiştir (120, 121).

Cortexin 82 aminoasitten oluşan bir polipeptittir (122). Sığır beyninden elde edilen cortexin 1999 yılından beri klinik kullanıma girmiş bir ajandır. Molekül ağırlığının (7 kilodalton) düşük olması nedeniyle kan beyin bariyerinden geçebilir. Cortexin'in etki mekanizması kendi metabolik etkinliği ile ilişkilidir. GABA-erjik etkisi vardır eksitatör ve inhibitör aminoasit dengesini, seratonin ve dopamin seviyesini düzenler, beyinde antioksidan aktivitesi ve bioelektriksel aktiviteyi

düzenleyici etkisi vardır (14). Cortexin beyin korteks hücrelerinde serotonin, Ki-67 ve vimentin ekspresyonunu uyararak nöroprotektif etki gösterir (123).

Cortexin kaspaz -3 yolağı üzerinden antiapoptotik etki gösterir (124). Ayrıca ratlarda yapılan bir çalışmada cortexinin lipid peroksidasyonunu azaltarak antioksidan etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (125). Nörotropik bir ajan olan cortexin, nöropeptitler, amino asitler ve eser elementleri ihtiva eden hayvan korteksinden ekstrakte edilmiş liyofilize bir ilaçtır. Serebral korteksin bu nükleoprotein kompleksi DNA fragmanları ile kromatin elementlerini de muhafaza edebilir. Cortexinin bu bileşenleri patolojik sürecin çeşitli moleküler ve hücresel aşamalarında düzeltmeler yapmak için belirli bir hedef aralığına sahiptir (126).

Cortexin ile ilgili yapılan bir klinik çalışmada beyin iskemisi olan hastalarda cortexin tedavisini takiben hastalarda fokal nörolojik semptomlarda azalma yada tamamen gerileme, bilişsel bozukluk göstergelerinde olumlu değişiklikler, duygusal durumunun normalleşmesi ve depresyon düzeyinde azalma gibi olumlu etkiler bildirilmiştir (127).

Epilepsili hastaların standart tedavi protokollerine cortexin eklenmesi ile yapılan bir çalışmada nöbet sıklığında anlamlı bir azalma ve remisyona giren hasta sayısında artış olduğu bildirildi. Ayrıca elektroensefalografik bulgularda pozitifleşmelerin yanı sıra baş ağrısı, vertigo, halsizlik, bilişsel bozukluk, anksiyete ve depresyon, arteriyel hipertansiyon gibi semptomlardada iyileşmeler izlendiği bildirildi (128). Cortexinin epilepsi hastaları üzerindeki antiepileptik etkinliği üzerine yapılan bir çalışmada bu etkisinin doz bağımlı olduğu vurgulanmıştır (129).

Hafıza bozukluğu üzerine cortexinin etkisini araştıran bir çalışmada yaşları 7-12 arasında olan çocuklarda cortexin verilmesiyle vakaların %86.7 sinde iyileşme görüldüğü bildirilmiştir (130).

Yenidoğanlarda şiddetli beyin hasarı ve ensefalit gibi akut serebral patolojilerde cortexinin nöroprotektif etkinliği ve stres sınırlayıcı ajan olduğu prospektif plasebo kontrollü çalışmalarla teyit edilmiştir. Bu çalışmalarda erken dönemde tedaviye cortexin eklenmesinin iyileşme üzerine oldukça yararlı etkilerinin olduğu belirtilmiştir (131).

Antitüberküloz tedavi uygulanan ve merkezi ve periferik sinir sistemlerinde nörotoksik reaksiyonlar izlenen hastalarda yapılan bir çalışmada tedaviye cortexin

eklenmesiyle hastaların %90.9 unda nörotoksik reaksiyonlar üzerine faydalı etkiler gözlenmiştir (132).

Cortexinin ratlarda intraperitoneal yoldan verilmesiyle nöroprotektif etkilerin olduğu bildirilmiştir (133). Bu çalışmada ratlara intraventricüler verilen cortexin anksiyolitik semptomlar oluşturmuş ve bunun muhtemel nedeninin bu polipeptitlerin nonspesifik yollar üzerinden etki etmiş olabileceği düşünülmüştür. Bizde çalışmamızda cortexini intraperitoneal olarak uyguladık.

Cortexin ile ilgili özellikle son yıllarda yapılmış birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların çoğu cortexinin nöroprotektif ve antioksidan etkinliği üzerine yapılmıştır. Cortexinin bilinen bu etki mekanizmaları sisplatin ototoksitesinde görülen reaktif oksijen ürünleri sonrasında ortaya çıkabilecek mekanizmalar üzerine etkili olabileceği düşüncesiyle çalışmamızda kullanıldı. Cortexinin antioksidan etkinliğinin olması, kaspaz -3 yolağına etkisi olması, beyinde nöron koruyucu modülatörleri arttırıcı etkisinin olması, nöroprotektif olması bize sisplatin ototoksitesinden muhtemel koruyucu ajan olabileceğini düşündürdü. Ayrıca literatürde cortexinin ototoksitesite üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığını araştıran hiçbir çalışmanın olmaması bizi bu konuda çalışma yapmaya teşvik eden bir başka sebeptir.

Çalışmamızda yapılan ABR testlerine göre kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sisplatin verilen grupta çalışmanın 4. ve 8. günlerinde işitme kaybı tespit edilmiştir. Bununla beraber sisplatin ile birlikte cortexin uygulanan grupta ise 4. günde önemli bir iyileşme izlenmezken 8. günde belirgin olarak işitme kaybında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde iyileşmeler gözlenmiştir. Ayrıca yapılan DPOAE testlerinde çalışmanın 4. ve 8. günlerinde Sisplatin ve Cortexin gruplarında sisplatin ototoksitesitesi meydana gelirken, Cortexin grubunda bu günler arasında 2, 5 ve 12 kHz'de istatistiksel olarak anlamlı emisyon kaybı izlenmemiştir. Bu frekanslarda emisyon kayıplarının daha az olmasını cortexinin sisplatin ototoksitesisine karşı koruyucu etkisi olduğu şeklinde yorumlayabiliriz.

Çalışmamızdaki sisplatin uygulanan gruplarda oluşan işitme kaybının artan oksidatif hasar ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Zira sisplatin kokleada reaktif oksijen üretimine neden olmaktadır. Bununla birlikte sisplatin tedavisi ile NOX- 3 sentezi indüklenmektedir. Bu enzimin kokleada ROÜ oluşumunda esas kaynak

olduğu düşünölmektedir (65). Hidroksil radikalleri sisplatin bağımlı DTH harabiyetinde ve sonucunda gelişen sensörinöral işitme kaybında kritik rol oynamaktadır (11).

Çalışmamızdaki apoptotik hücrelerin tespiti için yaptığımız TUNEL boyama bulguları ile histopatolojik değerlendirme sonuçları, işitme testleri sonuçları ile paralellik göstermekteydi. Zira kontrol grubuyla kıyaslandığında sisplatin verilen grupta 8. günde daha belirgin olmak üzere apoptotik hücre artışı izlenmiş olup corteksin eklenen Grup III'te özellikle 8. günde apoptotik hücre sayıları belirgin olarak azalmıştı. Corteksinin apoptotik hücre sayısını anlamlı olarak azaltması antioksidan etkisine bağlı olabilir. Zira yapılan çalışmalarda Corteksinin kaspaz -3 yolağı üzerinden (124) ve lipid peroksidasyonunu azaltarak antioksidan etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (125).

Sonuç olarak; deneysel sisplatin uygulamasının ratlarda 4. ve 8. günlerde belirgin işitme kaybı, koklear apoptozis ve histopatolojik değişikliklere neden olduğu, koruyucu olarak verilen corteksinin 8. günde bu parametrelerde belirgin iyileşme oluşturduğu görölmektedir. Corteksinin bu etkisinin muhtemel sisplatin ototoksisitesinde görölen reaktif oksijen ürünleri sonrasında ortaya çıkabilecek mekanizmalar üzerine etkili olan antioksidan kapasitesine bağlı olabileceği düşünölebilir. Sisplatinin oluşturduğu ototoksisiteye karşı corteksinin koruyucu etkilerinin olmasının ilk olarak gösterilmesi açısından ele alındığında ototoksisite tedavisinde farklı bir bakış açısı kazandırmaktadır. Gelecekte yapılacak daha ileri ve ayrıntılı çalışmalarla, ototoksisiteyi önlemek amacıyla corteksin ile ilişkili tedavi yaklaşımlarının denenebileceğini düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

1. Mutlu C. Ototoxisite. Celik O, (ed). Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. İstanbul: Turgut Yayıncılık, 2002: 257-270.
2. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 2. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2002.
3. Ömür M, Dadaş B. Klinik Baş ve Boyun Anatomisi. Cilt 1. İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996.
4. Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. Otolaryngol Clin North Am 1993; 26: 857-871.
5. Riggs LC, Matz GJ, Rybak RP. Ototoxicity. Bailey BJ, Calhoun KH (eds). Head and Neck Surgery- Otolaryngology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998: 2165-2170.
6. Wackym PA, Storper IS, Newman AN. Cochlear and vestibular ototoxicity. Canalis RP, Lampert PR, (eds). The Ear Comprehensive Otology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000; 571-85.
7. 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.
8. Cooley ME, Davis L, Abraham J. Cisplatin: a clinical review. Part II–Nursing assessment and management of side effects of cisplatin. Cancer Nurs 1994; 17: 283–293.
9. Laurell G, Bagger-Sjoback D. Dose-dependent inner ear changes after i.v. administration of cisplatin. J Otolaryngol 1991; 20: 158–67
10. Rybak LP, Whitworth CA, Mukerjea D. Mechanisms of cisplatin- induced ototoxicity and prevention. Hear Res 2007; 226: 157- 167,.
11. Lee JE, Nagakawa T, Kita T, Kim TS, Iguchi F, Endo T, et al. Mechanisms of apoptosis induced by cisplatin in marginal cells in Mouse stria vascularis. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec 2004; 66: 111- 118.

12. Clerici WJ, DiMartino DL, Prasad MR. Direct effect of reactive oxygen species on cochlear outer hair cells. *Hear Res* 1995; 84: 30-40.
13. Alam SA, Ikeda K, Oshima T. Cisplatin- induced apoptotic cell death in Mongolian gerbil. *Hear Res* 2000; 141: 28- 38.
14. Skvortsova VI, Petrova EA, Meshkova KS. Development of the neuroprotective strategies in the treatment of acute ischemic stroke. *Registry of pharmaceuticals (Doctor: neurology and psychiatry)*. 2008; 11: 528-529.
15. Lepilin AV, Sholomov II, Erokina NL, Soyher MG, Nozdrina VD, Bisultanov HW. Changes in the trigeminal nerve under the influence of cortixin in patients with chronic generalized periodontitis. *Saratov J Med Sci Res*. 2012; 8: 481 – 484.
16. Moore KL, Persaud TVN. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Yayınları, 2009: 431- 432.
17. Duckart LG. *Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear*. Cummings CW, Fredrickson JM, Krause CJ, Richardson MA, Harker LA, Schüller DE (editors). *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. Ed 4, St. Louis. Mosby Publication, 1998: 2533-2546.
18. Aslan A, Belgin E. *Kulak anatomisi ve işitme fizyolojisi*. Koç C (ed). *Kulak Burun Bogaz Hastalıkları ve Bas-Boyun Cerrahisinde*. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi, 2004: 45–71.
19. Austin DF. *Kulak anatomisi*. Ballenger JJ, Snow JB, (eds). (Çev ed: Hafız G) *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000: 838-857.
20. Runge-Samuels CL, Friedland DR. *Anatomy of the Auditory System*. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT, Thomas JR. *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery 5th ed*. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc, 2010: 2181-2191.
21. Donaldson JA. *The ear: adult anatomy*. *Surgical Anatomy of the Temporal Bone*. Donaldson JA, Duckert LG, Lambert PM, Rubel EW (eds). New York: Raven Pres, 1992: 143–175.

22. Ickleys OJ. Physiology of the ear. In Wright D, editor. Scott-Brown's Otolaryngology. 5th ed. London: Butterworths – Heinemann; 1998: 47–80.
23. Lee KJ. Anatomy of the ear. Essential Otolaryngology. Connecticut: Appleton&Lange Company, 1999.
24. Donaldson JA, Duckert L. Anatomy of the Ear. In Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL, editors. Otolaryngology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1991: 23–58.
25. Dirckx JJ, Daemers K, Somers T, Offeciers FE, Govaerts PJ. Numerical assessment of TOAE screening results: currently used criteria and their effect on TOAE prevalence figures. *Acta Otolarygol* 1996; 116: 672–679.
26. Lawrence M. Introduction to inner ear (Fluid) physiology. Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhof WL, (eds). Otolaryngology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1991: 199–217.
27. Fex J, Altschuler RA. Neurotransmitter- related immunocytochemistry of the organ of Corti. *Hear Res* 1986; 22: 249.
28. Fisch U. Transtemporal surgery of the internal auditory canal: report of 92 cases, technique, indications and results. *Adv Otol Rhinol Laryngol* 1970; 17: 203.
29. Fisch U. Infratemporal fossa approach to tumors of the temporal bone and base of the skull. *J Laryngol Otol* 1978; 92: 949.
30. House WF. Surgical exposure of the internal auditory canal and its contents through the middle cranial fossa. *Laryngoscope* 1961; 71: 1363.
31. Arnesen AR, Osen KK. Fiber population of the vestibulocochlear anastomosis in the cat. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1984; 98: 255-256.
32. Silverstein H, Norrell H, Haberkamp T, McDaniel AB. The unrecognized rotation of the vestibular and cochlear nerves from the labyrinth to the brainstem: its implications to surgery of the eighth cranial nerve. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1986; 95: 543.

33. Arnesen AR, Osen KK. The cochlear nerve in the cat: topography, cochleotopy, fiber spectrum. *J Comp Neurol* 1978; 178: 661-662.
34. Guinan JJ, Norris BE, Guinan SS. Single auditory units in the superior olivary complex. II. Locations of unit categories and tonotopic organization 1972; 4: 147.
35. Silverstein H. Cochlear and vestibular gross and histologic anatomy (as seen from postauricular approach). *Otolaryngol Head Neck Surg* 1984; 92: 207.
36. Slepecky N, Hamernik R, Henderson D. The consistent occurrence of a striated organelle (Friedmann body) in the inner hair cells of the normal chinchilla. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1981; 91: 189.
37. Moore JK, Osen KK. The cochlear nuclei in man. *Am J Anat* 1979; 154: 393.
38. Brawer JR and others. The neuronal architectures of the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 1974; 155: 251.
39. Chien W, Lee DJ. Physiology of the Auditory System. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT, Thomas JR. Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc, 2010: 2181-2191.
40. Olson ES, Duifhuis H, Steele CR. Von Békésy and cochlear mechanics. *Hear Res* 2012; 293: 31-43.
41. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. *Brain Res Bull* 2003; 60: 397-422.
42. Roland, PS, Rutka JA. Ototoxicity. Hamilton, London: BC Decker Inc, 2004.
43. Liberman MC. The olivocochlear efferent bundle and susceptibility of the inner ear to acoustic injury. *J Neurophysiol* 1991; 65: 123-132.
44. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head and Neck Surg* 1997; 117: 438-447
45. Fleischer G. Evolutionary Principles of the Mammalian middle ear. *Adv. Anat Embryol Cell Biol* 1978; 55: 1-70.

46. Zimmer WM, Deborah FR, Saunders JC. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anatomical Record* 1994; 239: 475-84.
47. Daniels HJ, Fulgham RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of Eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982; 91: 82-89.
48. Hellström S, Stenfors LE. The pressure equilibrating function of pars flaccida in middle ear mechanics. *Acta Physiol Scand* 1983; 118: 337-341
49. Albiin N, Hellström S, Stenfors LE, Cerne A. Middle ear mucosa in rats and humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986; 126: 2-15.
50. Hellström S, Salén B, Stenfors LE. Anatomy of the rat middle ear. A study under the dissection microscope. *Acta Anat* 1982; 112: 346-352.
51. Arslan E, Orzan E, Santarelli R. Global problem of drug-induced hearing loss. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884: 1-14.
52. Chang KW, Chinosornvatana N. Practical grading system for evaluating cisplatin ototoxicity in children. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1788- 1795.
53. Brock PR, Knight KR, Freyer DR, Campbell KCM, Steyger PS, Blakely BW, et al. Platinum- induced ototoxicity in children: a consensus review on mechanisms, predispositions, and protection, Including a new international society of pediatric oncology Boston ototoxicity scale. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2408- 2417.
54. Rybak LP. Vestibular and Auditory Ototoxicity. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT, Thomas JR. *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery* 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc, 2010: 2181-2191.
55. Casano RA, Johnson DF, Byovskya Y. Inherited susceptibility to aminoglycoside ototoxicity: genetic heterogeneity and clinical implications. *Am J Otolaryngol* 1999; 29: 151-156.
56. Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC. Mitochondrial ribosomal ARNA mutation associated with both antibiotic- induced and non- syndromic deafness. *Nat Genet* 1993; 4: 289-294.

57. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320.
58. 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: 747-752.
59. Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. *Int J Audiol* 2004; 43: 465-470.
60. Van den Berg JH, Beijnen JH, Balm AJ, Schellens JH. Future opportunities in preventing cisplatin induced ototoxicity. *Cancer Treat Rev* 2006; 32: 390-397.
61. Schellens JH, Planting AS, Ma J, Maliapaard M, de Vos A, de Boer Dennert M, Verwei J. Adaptive inpatient dose escalation of cisplatin in patients with advanced head and neck cancer. *Anticancer Drugs* 2001; 12: 667-675.
62. Schweitzer VG. Ototoxicity of chemotherapeutic agents. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26: 759- 785.
63. Cesares C, Ramirez- Camacho R, Trinidad A, Roldan A, Jorge E, Ramon Garcia Berrocal J. Reactive oxygen species in apoptosis induced by cisplatin: review of physiopathological mechanisms in animal models. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269: 2455-2459.
64. Estrem SA, Babin RW, Ryu JH, Moore KC. Cis- diamminedi-chloroplatinum (II) ototoxicity in the guinea pig. *Otolaryngol Head Neck* 1981; 89: 638-645.
65. Watanebe KI, Jinnouchi K, Hess A, Michel O, Baba S, Yagi T. Carboplatin induces less apoptosis in the cochlea of guinea pigs than cisplatin. *Chemotherapy* 2002; 48: 82-87.
66. Barantsevich ER, diakonov MM, Krasnoruzhskiy AI, Melnikova EV, Pugacheva EL. the position of cortexin as a neuroprotector in critical conditions in neurology. *Medline-Express* 2008; 198; 51-55.

67. Lukina EV, Kusnetsova D E. Assessment level of anxiety and depression in patients with multiple sclerosis. *Saratov J Med Sci Res* 2012; 8: 484–488.
68. Campbell KCM. Audiologic Monitoring for Ototoxicity. Roland P, Rutka J (Eds), *Ototoxicity*, New York: BC Decker, 2004:153-160.
69. Campbell KCM, Durrant JD. Audiologic monitoring for ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26: 903-914.
70. Campbell KCM, Kalkanis J, Glatz FR. Ototoxicity: mechanisms, protective agents, and monitoring. *Cur Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 8: 436-440.
71. Stravroulaki P, Apostolopoulos N, Dinopoulo D, Vossinakis I, Tsakanikos M, Douniadakis D. Otoacoustic emissions- an approach for monitoring aminoglycoside induced ototoxicity in children. *Int J Pediatr Otorhinolarngol* 1999; 50: 177-184.
72. American Academy of Audiology Position Statement and Clinical Practice Guidelines: Ototoxicity Monitoring, 2009.
73. Reddel RR, Kefford RF, Grant JM, Coates AS, Fox RM, Tattersall MH. Ototoxicity in patients receiving cisplatin: importance of dose and method of drug administration. *Cancer Treat Rep* 1982; 66: 19-23.
74. Muş N, Yenişehir S, Ozkaptan Y. Retrokoklear ABR anormalliklerinin norofizyolojik temeli. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 1991; 1: 65-70.
75. Cox C, Hack M, Metz D. Brainstem-evoked response audiometry: normative data from the preterm infant. *Audiology* 1981; 20: 53-64.
76. Yüçeturk AV. ABR hakkında genel bilgiler. *Kulak Burun Bogaz Ihtisas Dergisi* 1994; 2: 153-157.
77. Yüçeturk AV, İmamoğlu M, Unlu H. Normal kişilerde ABR bulguları. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 1994; 2: 33-36.
78. Kemp DT. Exploring cochlear status with otoacoustic emissions. Robinette MS, Glatke TJ, (eds). *Otoacoustic emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers, 2002: 1-47.

79. Johnson KC. Audiologic assessment of children with suspected hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 2002; 35: 711-732.
80. Hall JW 3rd, Baer JE, Chase PA, Schwaber MK. Clinical application of to acoustic emissions: what do we know about factors influencing measurement and analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 110: 22-38.
81. Lonsbory-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK. Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1993; 14: 11-22.
82. Harris FP, Probst R. Otoacoustic emissions and audiometric outcomes. In: Robinette MS, Glatke TJ, editors. *Otoacoustic emissions*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers, 2002: 213-242.
83. Moulin A, Collet L, Veuillet E, Morgon A. Interrelations between transiently evoked otoacoustic emissions, spontaneous otoacoustic emissions and acoustic distortion products in normally hearing subjects. *Hear Res* 1993; 65: 216-233.
84. Zorowka PG, Schmitt HJ, Gutjahr P. Evoked otoacoustic emissions and pure tone threshold audiometry in patients receiving cisplatin therapy. *Int Pediatr Otorhinolaryngol* 1993; 25: 73-80.
85. Ress BD, Sridhar KS, Balkany TJ, Waxman GM, Stanger BB, Lonsbury- Martin BL. Effects of cis-platinum chemotherapy on otoacoustic emissions: the development of an objective screening protocol. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 121: 693-701.
86. 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: 1190-1195.
87. American Speech- Language- Hearing Association. Guidelines for the audiologic management of individuals receiving cochleotoxic drug therapy. *ASHA* 1994; 36: 11-19.
88. Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT, Kollmannsberger C, Schmoll HJ, Kuczyk MA, Kanz L. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br J Cancer* 1998; 77: 1355–1362.

89. Biro K, Noszek L, Prekopp P. Characteristics and risk factors of cisplatin-induced ototoxicity in testicular cancer patients detected by distortion product otoacoustic emission. *Oncology* 2006; 70: 177–184.
90. Laurell G. High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *Laryngoscope* 1990; 100: 724–734.
91. Komune S, Asakuma S, Snow JBJ. Pathophysiology of the ototoxicity of cisdiamminedichloroplatinum. *Otolaryngol. Head Neck Surg* 1981; 89: 275–282.
92. Nakai Y, Konishi K, Chang KC. Ototoxicity of the anticancer drug cisplatin. An experimental study. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1982; 93: 227–232.
93. Van Ruijven MWM, de Groot JCMJ, Klis SFL, Smoorenburg G. Cochlear targets of cisplatin: an electrophysiological and morphological time-sequence study. *Hear Res* 2005; 205: 241–248.
94. Cardinaal RM, de Groot JC, Huizing EH, et al. Dose-dependent effect of 8-day cisplatin administration upon the morphology of the albino guinea pig cochlea. *Hear Res* 2000; 144: 135–146.
95. Dehne N, Lautermann J, Petrat. Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 174: 27–34.
96. Somani SM, Husain K, Jagannathan R, Rybak LP. Amelioration of cisplatin-induced oto- and nephrotoxicity by protective agents. *Ann Neurosci* 2001; 8: 101–113.
97. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today* 2005;10: 1313– 1321.
98. Watanabe KI, Hess A, Bloch W, Michel O. Nitric oxide synthase inhibitor suppresses the ototoxic side effect of cisplatin in guinea pigs. *Anticancer Drugs*. 2000; 11: 401-406.
99. Kelly TC, Whitworth CA, Husain K, Rybak LP. Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. *Hear Res* 2003; 186: 10-16.

100. Naggy I, Monge A, Albinger- Hegyi A, Schmid S, Bodmer D. NF-kappaB is required for survival of immature auditory hair cells in vitro. *J Assoc Res Otolaryngol* 2005;6: 260-268.
101. Palmer RM, Bridge L, Foxwell NA. The role of nitric oxide in endothelial cell damage and its inhibition by glucocorticoids. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 11–12.
102. Himeno C, Komeda M, Izumikawa M. Intra-cochlear administration of dexamethasone attenuates aminoglycoside ototoxicity in the guinea pig. *Hear Res* 2002; 167: 61–70.
103. Xu Y, Huang S, Liu ZG, Han J. Poly (ADP- ribose) polymerase-1 signalling to mitochondria in necrotic cell death requires RIP/TRAF2- mediated JNK1 activation. *J Biol Chem* 2006; 281: 8788-8795.
104. Kim HJ, So HS, Lee JH, Park C, Park SY, Kim YH, et al. Heme oxygenase-1 attenuates the cisplatin- induced apoptosis of auditory cells via down- regulation of reactive oxygen species generation. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 1810-1819.
105. Choi BM, Chen XY, Gao SS, Zhu R, Kim BR. Antiapoptotic effect of phloretin on cisplatin- induced apoptosis in HEI-OCI auditory cells. *Pharmacol Rep* 2011; 63: 708-716.
106. Cunningham LL, Brandon CS. Heat shock inhibits both aminoglycoside- and cisplatin induced sensory hair cell death. *J Assoc Res Otolaryngol* 2006; 7: 299- 307.
107. Rybak LP. Mechanisms of cisplatin ototoxicity and progress in otoprotection. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 15: 364-369.
108. Dickey DT, Muldoon LL, Kraemer DF, Neuwelt EA. Protection against cisplatin induced ototoxicity by N-acetylcysteine in a rat model. *Hear Res* 2004;193: 25–30.
109. Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R. The use of organotypic cultures of Cort's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol* 1997; 18: 559- 571.

110. Korver KD, Rybak LP, Whitworth C, Campbell KM. Round window application of D-methionine provides complete cisplatin otoprotection. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 126: 683-689.
111. Campbell KC, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. The effect of D-methionine on cochlear oxidative state with and without cisplatin administration: mechanisms of otoprotection. *J Am Acad Audiol* 2003; 14: 144-156.
112. Li G, Frenz DA, Brahmlatt S. Round window membrane delivery of L-methionine provides protection from cisplatin ototoxicity without compromising chemotherapeutic efficacy. *Neurotoxicology* 2001; 22: 163-176.
113. Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Am J Otol* 2000; 21: 513-520.
114. Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Combined oral delivery of ebselen and allopurinol reduces multiple cisplatin toxicities in rat breast and ovarian cancer models while enhancing anti-tumor activity. *Anticancer Drugs* 2005; 16: 569-579.
115. Kolls J, Xie J, LeBlanc R. Rapid induction of messenger RNA for nitric oxide synthase II in rat neutrophils in vivo by endotoxin and its suppression by prednisolone. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 205: 220-229.
116. Nagura M, Iwasaki S, Wu R. Effects of corticosteroid, contrast medium and ATP on focal microcirculatory disorders of the cochlea. *Eur J Pharmacol* 1999; 366: 47-53.
117. Hill GW, Morest DK, Parham K. Cisplatin-induced ototoxicity: effect of intratympanic dexamethasone injections. *Otol Neurotol* 2008; 29: 1005-1011.
118. Waissbluth S, Salehi P, He X, Daniel SJ. Systemic dexamethasone for the prevention of cisplatin-induced ototoxicity. *Eur Arch Otolaryngol* 2013; 270: 1597-1605.
119. Teranishi MA, Nakashima T. Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003; 67: 133-139.

- 120.** Fetoni AR, Sergi B, Ferraresi A, Paludetti G, Troiani D. Protective effects of alphatocopherol and tiopronin against cisplatin-induced ototoxicity. *Acta Otolaryngol* 2004; 124: 421-426.
- 121.** Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduces cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 2004; 114: 538-542.
- 122.** Coulter PM, Bautista EA, Margulies JE, Watson JB. Identification of cortexin: a novel, neuron-specific, 82-residue membrane protein enriched in rodent cerebral cortex. *J Neurochem* 1993; 61: 756-759.
- 123.** Umnov RS, Linkova NS, Khavinson VKh. Peptides stimulate expression of signal molecules in neuronal cultures from animals of different age. *Bull Exp Biol Med* 2014; 157: 701-704.
- 124.** Mendzheritskiĭ AM, Karantysh GV, Ryzhak GA, Dem'ianenko SV. Regulation of content of cytokines in blood serum and of caspase-3 activity in brains of old rats in model of sharp hypoxic hypoxia with Cortexin and Pinealon. *Adv Gerontol* 2014; 27: 94-97.
- 125.** Zarubina IV, Shabanov PD. Cortexin and cortagen as correcting agents in functional and metabolic disorders in the brain in chronic ischemia. *Eksp Klin Farmakol* 2011; 74: 8-15.
- 126.** Gomazkov OA. Cortexin. Molecular mechanisms and targets of neuroprotective activity. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova* 2015; 115: 99-104.
- 127.** Mashin VV, Belova LA, Chaplanova OI, Khusnullina AF, Manasian AM. An open clinical trial of cortexin in treatment of brain ischemia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2014; 114: 49-52.
- 128.** Belskaya GN, Ponomareva IV. New possibilities of pharmacological treatment of adult epilepsy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2014; 114: 59-62.
- 129.** Aniol VA, Novitskaia IU, Borodina TN, Bukreeva TV, Lazareva NA, Moiseeva IuV, et al. Evaluation of antiepileptic effects of cortexin in a model of convulsions. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova* 2011; 111: 68-673.

- 130.** Chutko LS, Surushkina SIu, Iakovenko EA, Bykova IuL, Nikishena IS. Efficacy of cortexin in the treatment of memory disorders in children. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova 2011; 111: 37-40.
- 131.** Shmakov AN, Kasymov VA, Kokhno VN. Adjuvants to the treatment of acute cerebral insufficiency in newborns. Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova 2011; 111: 60-63.
- 132.** Lysov AV, Mordyk AV, Zatvornitskiĭ VA, Kondria AV. Adverse neurotoxic reactions of chemotherapy for tuberculosis and their treatment. Probl Tuberk Bolezn Legk 2006;14: 45-48.
- 133.** Shabanov PD, Lebedev AA, Pavlenko VP, Ganapol'skiĭ VP. Comparative study of behavioral effects of cortexin and cerebrolysine upon intraventricular and intraperitoneal administration in rats. Eksp Klin Farmako 2007; 70: 13-19.

6. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Yaklaşık bir yıl pratisyen hekim olarak görev yaptıktan sonra 2011 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım ve halen bu görevimi sürdürmekteyim. Evli ve 1 çocuk babasıyım.

