



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE CORM-3'ÜN
(CARBON MONOXIDE RELEASING MOLECULE-3)
KORUYUCU ROLÜ**

Ekrem ÇOŞKUN

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Süleyman ÖZDEMİR**

ADANA-2025

KABUL VE ONAY



TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda eğitime başladığım günden itibaren güçlü bilgi ve birikimlerinden yararlandığım, beraber çalışmaktan onur duyduğum, bilimsel katkılarını ve hoşgörüsünü esirgemeyen, bu çalışmanın yürütülmesinde sonsuz desteğini hissettiğim, her sorunumda yanımda olan değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Süleyman ÖZDEMİR'E

Asistanlık eğitimim boyunca derin bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, cerrahi beceri gelişimimde kapsamlı bilgi ve bakış açısı kazanmamı sağlayan, fikirlerini ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, bu yolda bana örnek olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Mustafa Mete KIROĞLU, Prof. Dr. Özgür TARKAN, Prof. Dr. Özgür SÜRMELOĞLU ve Doç. Dr. Muhammed DAĞKIRAN'a

Asistanlık eğitim süreci boyunca, gerek cerrahi bilgi ve beceri konusunda gerek tez sürecimde destek ve yardımlarını her zaman hissettiğim, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Dr.Öğr.Üyesi Elvan ONAN'a ve Dr.Öğr.Üyesi Çağlar EKER'e

Asistanlık dönemim boyunca dostluklarını ve desteklerini daima hissettiğim, beraber çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, kliniğimizde görev alan tüm hemşire, teknisyen, personel ve odyoloji ekibine,

Tez çalışmamda titizlik ve hassasiyetle yardım eden, birlikte çalışma fırsatı bulduğum sevgili Uzm. Ody. Ahmet ATİLA ve SABİDAM'da çalışan tüm görevli veteriner ve personel ekibine,

Yaşamımın, karakterimin yön bulmasında sonsuz emek, özveri ve sabırları için kıymetli aileme,

Sonsuz teşekkür, saygı ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi	2
2.1.1.Dış Kulak	2
2.1.2.Orta Kulak	3
2.1.3.İç Kulak	4
2.1.4. Koklea	5
2.1.5. Korti Organı	6
2.1.6. İç Tüylü Hücreler	6
2.1.7. Dış Tüylü Hücreler	7
2.1.8. Kokleanın Diğer Hücreleri	8
2.1.9. Santral İşitme Yolları	9
2.2. İşitme Fizyolojisi	10
2.3. Sıçan Kulak Anatomisi ve İşitme Sistemi	11
2.4. Sisplatin Ototoksisitesi	13
2.5. Sisplatin Ototoksisitesi Önleme Stratejileri	17
2.6.Antioksidanlar	18
2.7. CORM-3 (Carbon Monoxide Releasing Molecule-3)	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları	23
3.2.Veri Toplama Araçları	24
3.3.Sisplatine Bağlı İşitme Kaybı Oluşturulması	25
3.4.Anestezi Yöntemi	25
3.5. İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	25

3.5.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Testi	25
3.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (ABR) Testi	26
3.6. İlaç Uygulaması	27
3.7. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR	30
4.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları	30
4.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (ABR) Bulguları	35
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
7.KAYNAKÇA	48
EKLER	56
EK 1. Etik Kurul Onayı	56

TABLO DİZİNİ

Tablo 1.Tüm grupların 1. Gün DPOAE sinyal/gürültü oranları	32
Tablo 2.Tüm grupların 8. Gün DPOAE sinyal/gürültü oranları	33
Tablo 3.DPOAE 1.gün ve 8.gün sinyal/gürültü oranlarının zamana göre değişimleri	33
Tablo 4.Tüm grupların 1. Gün ABR eşik ortalamalarının istatistiksel bulguları	36
Tablo 5.Tüm grupların 8. Gün ABR eşik ortalamalarının istatistiksel bulguları	37
Tablo 6.ABR 1.gün ve 8.gün eşik ortalamalarının zamana göre değişimlerinin istatistiki bulguları	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.Koklear yapının ve sisplatin emilim yerinin genel görünümü.....	15
Şekil 2.CORM tarafından salınan CO metabolizması ve HO yolağı.....	21
Şekil 3.CORM-3 kimyasal yapısı.....	22
Şekil 4.Wistar ratlara uygulanan DPOAE testi	26
Şekil 5. Wistar ratlara uygulanan ABR testi	27
Şekil 6.Wistar ratlara intraperitoneal CORM-3 uygulanması	28
Şekil 7. DPOAE sinyal/gürültü oranlarının zamana göre değişimi.....	31
Şekil 8. DPOAE değerlerinin zamana göre değişimi	34
Şekil 9. Ratın 8 kHz’de frekansında elde edilen ABR dalga morfolojisi.....	35
Şekil 10. ABR eşik ortalamalarının zamana göre değişimi	38

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

mg	:miligram
ABR	:Auditory Brain Response
BLB	:Kan Labirent Bariyeri
CO	:Carbon monoksit
CORM-3	:Carbon-monoxide releasing molecule-3
DTH	:Dış Tüy hücreleri
DNA	:Deoksiribonükleik asit
dB	:Desibel
DPOAE	:Distortion Product Otoacoustic Emissions
FDA	:ABD Gıda ve İlaç Dairesi
İTH	:İç Tüy Hücreleri
İUBP	: İşitsel Uyarılmış Bileşik Potansiyeller
ROT	:Reaktif Oksijen türevleri
SNİK	:Sensörinöral İşitme Kaybı
SP	:Sisplatin
SV	:Stria Vaskularis
SS	:Standart Sapma
S/N	:Sinyal Gürültü Oranı
STS	:Sodyum tiyosülfat

ÖZET

Sisplatin Ototoksisitesinde CORM-3'ün (Carbon Monoxide Releasing Molecule-3) Koruyucu Rolü

Giriş: Sisplatin kanser hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir ajandır. Ototoksisite, sisplatin kullanımının önemli bir yan etkisidir. Bu durum öncelikle oksidatif strese bağlı iç kulak tüylü ve spiral ganglion hücrelerinin kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Sisplatin kullanımıyla ilişkili işitme kaybı sensörinöral, bilateral, progresif ve genellikle geri döndürülemezdir. Bu deneysel çalışmanın amacı oksidatif stresi azalttığı bilinen CORM3'ün (Carbon Monoxide Releasing Molecule-3) sisplatin ototoksisitesi üzerinde koruyucu rolünü araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: İşitmesinin normal olduğu bazal ölçümlerle tespit edilen yirmi sekiz adet albino wistar erkek rat eşit şekilde 4 gruba ayrıldı. Sisplatin grubunda, 7 rata çalışmanın 5.gününde 16 mg/kg sisplatin tek doz intraperitoneal olarak uygulandı. Sisplatin+CORM-3 grubunda, 7 rata 8 gün boyunca hergün 10 mg/kg CORM-3 intraperitoneal olarak ve çalışmanın 5.gününde 16 mg/kg sisplatin tek doz intraperitoneal olarak uygulandı. CORM-3 grubunda, 7 rata 8 gün boyunca 10 mg/kg CORM-3 intraperitoneal olarak uygulandı. Kontrol grubunda, 7 rata 8 gün boyunca serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. Çalışmanın 1.gününde elektrofizyolojik testler (İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyeller ve otoakustik emisyonlar) yapıldı. Sisplatin ve CORM-3 kombinasyonu ile tedavi edilen grupta, CORM-3 uygulaması sisplatin uygulamasından 5 gün önce başladı. Sisplatin uygulamasından 3 gün sonra 8.gün ölçümleri ile testler tekrarlandı.

Bulgular: İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyeller ve otoakustik emisyon test sonuçları tüm frekanslarında sisplatin+CORM-3 grubunda sisplatin verilen diğer gruba kıyasla daha iyi işitme eşikleri olduğunu gösterdi. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Elde edilen verilere göre CORM-3, sisplatin ototoksisitesinde koruyucu ajan olarak kullanılabilecek etkili bir antioksidan olabilir. Ancak bu koruyucu etkinin kanıtlanmasına yönelik ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Carbon Monoxide Releasing Molecule-3, Ototoksisite, Rat, Sisplatin, CORM-3

ABSTRACT

Protective Role Of CORM-3 (Carbon Monoxide Releasing Molecule-3) In Cisplatin Ototoxicity

Introduction: Cisplatin is a powerful agent widely used in the treatment of cancer diseases. Ototoxicity is an important side effect of cisplatin use. This is primarily associated with loss of inner ear hairy and spiral ganglion cells due to oxidative stress. Hearing loss associated with cisplatin use is sensorineural, bilateral, progressive and usually irreversible. The aim of this experimental study was to investigate the protective role of CORM-3 (Carbon Monoxide Releasing Molecule-3), known to reduce oxidative stress, on cisplatin ototoxicity.

Materials and methods: Twenty-eight albino wistar male rats with normal hearing were divided equally into 4 groups. In the cisplatin group, 7 rats received a single dose of 16 mg/kg cisplatin intraperitoneally on the 5th day of the study. In the cisplatin + CORM-3 group, 7 rats were administered 10 mg/kg CORM-3 intraperitoneally every day for 8 days and 16 mg/kg cisplatin single dose intraperitoneally on the 5th day of the study. In the CORM-3 group, 7 rats were administered 10 mg/kg CORM-3 intraperitoneally for 8 days. In the control group, 7 rats were administered saline intraperitoneally for 8 days. Electrophysiological tests (Auditory evoked brainstem potentials and Otoacoustic emissions) were performed on the 1st day of the study. In the group treated with cisplatin and CORM-3 combination, CORM-3 administration started 5 days before cisplatin administration. The tests were repeated with day 8 measurements 3 days after cisplatin administration.

Results: Auditory evoked brainstem potentials and otoacoustic emission test results showed better hearing thresholds at all frequencies in the cisplatin+CORM-3 group compared to the cisplatin group. However, these findings were not statistically significant ($p>0.05$).

Conclusion: According to the data obtained, CORM-3 may be an effective antioxidant that can be used as a protective agent in cisplatin ototoxicity. However, additional studies are needed to prove this protective effect.

Keywords: Antioxidant, Carbon Monoxide Releasing Molecule3, Ototoxicity, Rat, Cisplatin, CORM-3

1.GİRİŞ

Sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin gibi platin bazlı kemoterapötik ilaçlar, testis, yumurtalık, serviks, meme, mesane, baş-boyun ve akciğer kanseri dahil olmak üzere hem yetişkin hem de pediatrik hastalarda solid malign tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sisplatin (sis-diamindikloroplatin (II)) en yaygın kullanılan platin bazlı ilaçtır. 1978'de ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmasından bu yana sisplatin, onkolojide temel bir tedavi ve germ hücreli malign tümörler için temel bir sistemik tedavi olmuştur¹.

Sisplatin, DNA'nın çapraz bağlanmasını ve DNA adüktlerinin oluşumunu indükler ve bunun sonucunda kanser hücrelerinde apoptozu tetikler^{2,3}. Klinik etkinliğine rağmen sisplatin, hem kanser hücrelerini hem de sağlıklı dokuları hedef alan spesifik olmayan etki mekanizmaları nedeniyle ciddi yan etkilere neden olabilir. Sisplatinin yan etkileri doza bağlıdır ve ototoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite, hepatotoksisite, gastrointestinal toksisite ve retinal toksisiteyi içerir. Ototoksisite, sisplatinin koklear dokularda birikmesi ve uzun süre tutulması nedeniyle en sık görülen yan etkidir⁴.

Sisplatin ototoksisitesi esas olarak duyuşal tüy hücreleri, spiral ganglion nöronları ve kokleanın salgı ve bağ dokuları (stria vaskülaris ve spiral ligament) üzerindeki etkilerden kaynaklanır². Tüy hücrelerinde ve spiral ganglionlarda rejeneratif kapasitenin olmaması, hasarları geri döndürülemez ve kalıcı sensörinöral işitme kaybına neden olur.

CORM ajanları ile yapılan, son yıllarda giderek artan sayıda çalışmada CO'nun vazodilatör, antiinflatuar, antioksidan, antiapoptotik ve antiiskemik etkilerini daha da destekleyerek, umut verici sonuçlar bildirilmiştir⁵.

Araştırmamızda CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesinde koruyucu ve terapötik rolü olup olmadığını odyolojik olarak araştırmayı amaçladık. Yapılan İngilizce literatür taramasında, CORM-3'ün sisplatin kaynaklı ototoksisite üzerinde koruyucu etkisine yönelik benzer bir odyolojik çalışma ile karşılaşmadık. Bu nedenle araştırmamız bu amaçtaki ilk çalışma olarak önem taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi

İşitme, ses dalgalarının kulak tarafından algılanıp, beyin bölgelerinde anlamlı bir bilgiye dönüştürülmesi sürecidir. Ses enerjisi aurikula ve dış kulak yolunda toplanıp içeriye doğru hareket ederken, önce kulak zarına çarpar ve orta kulaktaki malleus, inkus ve stapes iletilir. Bu mekanik iletim, iç kulağa ulaşır. Kokleadaki sıvı dalgalanması, sesin frekansına göre özel hücrelerin (tonotopik organizasyon hipotezi) uyarılmasına neden olur. Bu uyarılar koklear sinir aracılığıyla santral işitme merkezine doğru ilerleyerek temporal lobda bulunan transvers temporal girus (Heschl'in girusu) bölgesine ulaşır. Ayrıca, ses bilgisi, beyin sapında tonotopik bir şekilde işlenir ve ardından kortikal alanlarda daha karmaşık analizler için daha yüksek seviyedeki beyin merkezlerine iletilir. İşitme sistemi ayrıca, seslerin yönünü ve mesafesini belirlemeye yardımcı olan binaural dinleme mekanizmalarına da sahiptir, bu da iki kulak arasındaki ses farklarını analiz ederek yön belirleme yeteneği sağlar⁶⁻¹⁰.

2.1.1.Dış Kulak

Dış kulak, aurikula, dış kulak yolu (DKY) ve timpanik membran(TM) lateral yüzünü içeren bölgeyi kapsar ve sesin toplanması ile yönlendirilmesinde kritik bir rol oynar. Aurikula ince elastik bir kartilaj içerir, çeşitli bağlar ve kaslar ile kafatasına tutunmuştur. Timpanik membranın duruş açısına bağlı DKY uzunluğu ön-altta yaklaşık 30 ve arkada 25 mm'dir. Dış 1/3'ü kıkırdak yapısındadır, kıl folikülleri ile serümen bezleri bulundurur, iç 2/3'ü kemik yapısındadır, deri ekleri içermez ve burada timpanik membran ile sonlanır. Aurikula, ses dalgalarını 135 derecelik bir açıyla toplar ve DKY'ye yönlendirir, bu açının dışındaki sesleri ise yansıtır; bu, sesin yön tayininde önemli bir faktördür. Ayrıca, DKY sesi iletirken seslerin daha iyi duyulmasına ve ayrıştırılmasına yardımcı olacak 15-20 dB'lik bir akustik artış sağlar. Bu akustik artış, işitme fonksiyonunun optimize edilmesi ve çevresel seslerin etkili bir şekilde algılanması açısından önemlidir^{11,12}.

Timpanik membran, dıştan içe doğru DKY cildinin devamı olan epitelyal tabaka, fibroz tabaka ve orta kulak mukozasıyla devam eden mukozal tabakadan oluşmaktadır.

Fibroz tabaka sirküler, radyal, parabolik ve semilunar dizili lifler içerir; bu lifler membranın gerginliğini sağlar ve rotasyon hareketlerini destekler. Anulus fibrosus (Gerlach halkası), timpanik membranı temporal sulcusa sabitleyen fibroz bir yapıdır, üstte tam olmayıp ant. ve post. malleolar ligament ile devam eder ki bu ligamanların üstünde kalan zar bölgesine *pars flaksida*, altında kalan kısma *pars tensa* denir. Pars flaksida, daha gevşek ve dar bir yapıda olup, doğrudan işitme işlevini etkilemez; ancak östaki tüpü hareketlerine duyarlıdır ve orta kulakta basınç düzenlemesine katkıda bulunur. Pars tensa, zarın büyük kısmını oluşturur ve esas titreşen kısımdır^{13,14}.

2.1.2.Orta Kulak

Orta kulak, timpanik zar kemik labirent arasında kalan, aditus yoluyla mastoid ile, östaki tüpüyle dış ortamla ilişki kuran, mukozayla örtülü yaklaşık 0.5 cm³ hacminde bir boşluktur. Kulak zarına göre 3 topografik alana ayrılır; epitimpanum, mezotimpanum ve hipotimpanum.

Orta kulak boşluğunun altı duvarı vardır:

1. Üst duvar (Tegmen tympani): Epitimpanumun tavanını oluşturur, timpanik kaviteyi orta kranial fossadan ayırır.

2. Alt duvar: Hipotimpanumun döşemesini oluşturur. Juguler bulbus ve karotis interna ile komşudur.

3- Ön duvar: En alt bölümü karotis kanalının dikine parçası ile komşuluk gösterir. Üstte tensör timpani kasını içinde barındıran semisirküler kanal ve hemen altında ise östaki borusunun timpanik orifisi bulunur.

4- Arka duvar: Orta kulak ile mastoid arasındaki duvardır. Üst parçasını *aditus ad antrum* yapar. Piramidal eminens bu duvarda yer alır. Piramidal eminens üzerinde m.stapedius bulunur, fasyal sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösterir. Piramidal eminensin lateralinde fasyal reses, medialinde sinüs timpani bulunur.

5- Dış duvar: Bu duvarı kulak zarı ile skutum yapar. Kulak zarının pars tensa parçasında ortada yukardan aşağı doğru uzanan malleusun kulak zarı içerisinde yer alan parçası olan manubrium mallei bulunur. Manubrium mallei'nin bitimindeki nokta şeklindeki görüntüye *umbo* denir.

6-İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayırır. Epitimpanum kısmında üç semisirküler kanal ve Fallop kanalı bulunur. Mezotimpanum kısmında promontoryum ve labirent

pencereleri bulunur. Promontoryumun arka-üst tarafındaki çukurluk, oval pencere (fossula fenestra vestibüli) adını alır ve stapes tabanının yerleştiği yerdir, arka alt tarafında yuvarlak pencere (fossula fenestra cochlea) bulunur ve fibröz bir doku ile kaplıdır. Timpanik kaviteye uygulanan medikal preparatların iç kulak sıvılarına ana geçiş yeri yuvarlak penceredir ve membranı ayrıca ses iletiminde de rol alır^{13,14}.

Timpanik kavitede üst-arka yerleşimli ve çeşitli bağlarla orta kulak boşluğuna asılı üç hareketli kemikçik bulunur. Kemikçiklerin en büyüğü Malleus adını alır. Malleus baş, boyun ve üç çıkıntıdan oluşur, manibrium mallei çıkıntısı ile kulak zarına yapışır. İnkus, bir gövde ve iki koldan oluşur. İnkusun gövde kısmı malleus ile, uzun kolu ise stapes ile eklem yapar. En küçük kemikçik stapes, baş, boyun, taban ve iki bacedan oluşur, tabanı lig. annulare ile oval pencereye sıkıca yapışır^{14,15}.

Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlar ve nazofarenkse doğru anteroinferolateral seyir gösteren, huni şeklinde bir yapıdır. Çocuklarda daha kısa ve düz bir seyir gösteren bu tüpün açılıp kapanmasından m. tensör veli palatini, m. levator veli palatini ve m. salpingopharyngeus sorumludur. Östaki tüpü orta kulak basınçlarının dış ortamla eşitlenmesine, orta kulak ortamının temizliğine katkı sağlar¹⁴⁻¹⁶.

2.1.3.İç Kulak

İç kulak, temporal kemiğin petroz kısmında derin yerleşimi olan işitme ve denge organlarını barındıran karmaşık bir yapıdır ve morfolojik olarak iki ana bileşenden oluşur: membranöz labirent ve kemik labirent.

Kemik labirent, vestibül, koklea ve semisirküler kanallar ile vestibuler ve cochlear aquaductuslardan oluşur, sodyum açısından zengin perilenf ile doludur. Kemik labirentin içerisinde yer alan membranöz labirent ise, korti organı, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis, duktus semisirkularis, utrikül ve sakkülden oluşur, potasyum açısından zengin endolenf ile doludur. Membranöz labirent, kemik labirentin ancak 1/3 ünü oluşturur. Bu yapılar arasındaki sıvı dengesi, hem işitme hem de denge sistemlerinin düzgün çalışması için hayati öneme sahiptir. Kemik labirent ve membranöz labirent arasındaki bu sıvı değişimleri ve yapısal farklar, ses ve denge algısının sağlıklı bir şekilde işleyebilmesi için gerekli koşulları sağlar¹⁶⁻¹⁸.

2.1.4. Koklea

Koklea, iç kulağın ön kısmında bulunan, salyangoza benzeyen kemik bir tüptür, işitme sisteminin temel bir bileşeni olup, akustik enerjiyi elektrokimyasal uyarıya dönüştüren reseptör organ olarak işlev görür. Kokleanın eksenini oluşturan modiolus içerisinde koklear sinir dalları ve damar yapıları bulunur. Modiolus etrafında yaklaşık 2.5 tur dönen koklear kanal, modiolustan koklear kanalın serbest kenarına uzanan baziler membran aracılığıyla iki bölmeye ayrılır; skala timpani ve skala vestibüli olarak adlandırılan bu iki skala kupula denen zirve noktasında birleşirler¹⁹.

Membranöz labirentin bir parçası olan duktus koklearis, histolojik kesitlerde kokleanın içinde üçgen benzeri bir yapı olarak izlenir (skala media); bu üçgen baziller membran, reissner membranı ve koklea dış duvarı ile sınırlıdır. Apikal ucunda çekum kupulare, bazalde çekum vestibulare ile sonlanan üç yüzlü tüp benzeri bu yapı, duktus reuniens ile sakkulusle bağlantılıdır. Kokleanın içindeki akustik uyarıların işlenmesi için gerekli olan yüksek potasyum içerikli endolenf bu boşluğu doldurur.

Endolenf, stria vaskülariste üretilir ve potasyum açısından zengin içeriği ile membranöz labirentin elektrokimyasal ortamını düzenler. Stria vaskularis basal membranı olmayan özel bir epitel türüdür; basal, intermediate ve marjinal olmak üzere 3 hücre grubu bulunur. Marjinal hücreler elektrokimyasal gradientin sağlanmasından sorumlu esas hücre grubudur. Stria vaskülaris, mitokondri bakımından zengin olması nedeniyle kokleanın enerji kaynağı olarak önemli bir işlev görür ve transdüksiyon süreçlerinde önemli rol oynar. Bu yapıda Na^+/K^+ ATPaz, karbonik anhidraz ve adenil siklaz gibi endolenf sıvısının ve iyonların taşınmasında görevli enzimler yoğun olarak bulunur.

Baziller membranının insanda ortalama uzunluğu 31.5 mm'dir. Bazal turdan apikale doğru genişliği artış gösterir, membranın uzunluğu boyunca kalınlığı ve genişliğindeki bu değişiklikler frekansa özgü maksimum titreşimler ve “ilerleyen dalga” oluşumundan sorumludur. Düşük frekanslı ses dalgaları, baziler membranın genişliğinin artması nedeniyle daha uzun mesafeler kat edebilirken, yüksek frekanslı sesler daha kısa mesafelerde etkili olur ve kokleanın apikal bölgesine ulaşamaz. Baziler membranının dış tarafında Claudius ve Boettcher hücreleri bulunur. Bundan sonra Korti organı başlar.¹⁹⁻

21.

2.1.5. Korti Organı

Korti organı, bazal membranın üzerinde ve skala media içerisinde çeşitli formlarda sıralanmış duyu ve destek hücrelerinden oluşan elektrokimyasal bir reseptör organdır. Duyusal hücreler, dış tüylü hücreler (DTH) ve iç tüylü hücreler (İTH) olarak iki gruba ayrılırken; Claudius, Deiters, Boettcher ve Hensen hücreleri ise destek hücrelerini oluşturur. Bazal membran üzerinde yerleşen bu organ, tıpkı bazal membran gibi apekse doğru genişleme gösterir. DTH'ler düzensiz bir dizilim gösterirken, İTH'ler tek sıra halinde düzenlenmiştir. Tüylü hücrelerin üst yüzeyinde bulunan stereosilyalar, gerçek silyalardan çok, hücre membranıyla çevrili aktin filamentlerinin oluşturduğu mikrovilluslardır ve mekanik uyarılara yanıt olarak hareket ederler.

Korti organındaki destek hücreleri, organın yapısal bütünlüğünü sağlarken, retiküler lamina ve tektoriyal membran ile birlikte duyu hücrelerinin işlevselliğine katkıda bulunur.

Tektoriyal membran, gelen ses dalgalarının etkisiyle hareket ederek, tüylü hücrelerin stereosilyalarının bükülmesini sağlayarak işitme sürecine katkıda bulunur. Bu mekanizmalar, sesin algılanmasında kritik bir rol oynar ve işitme sinirlerinin aktivasyonu için gerekli elektriksel sinyalleri oluşturur²²⁻²⁴.

2.1.6. İç Tüylü Hücreler

Bu hücreler baziler membrana ulaşan mekanik ses titreşimlerini elektriksel uyarılara dönüştüren ana hücrelerdir. Her bir insan kokleasında yaklaşık 3500 adet bulunurlar. Destek hücreler ile çevrili ve tek sıra halinde dizilmişlerdir. İç tüylü hücreler (İTH), işitme süreci temel bileşenleri olarak kabul edilir ve afferent sinirlerle yoğun bir bağlantı kurarlar. Koklea içindeki afferent sinir uçlarının yaklaşık %95'i İTH'lere bağlıdır ve bu sinirler Tip I olarak adlandırılır. Bu hücrelerin hücre gövdeleri, spiral gangliyonda yer alırken, aksonları beyin sapındaki koklear nukleusa gider. Dendritleri ise spiral lamina ve temporal kemikte yer alır²⁴⁻²⁶.

İTH'lerin üst kısmındaki stereosilyalar, mekano-elektriksel transdüksiyon sürecini içerir. Stereosilyaların uzun olan silyuma doğru eğilmesiyle birlikte, mekanik gerilimle iyon aktarım bağlantıları açılır. Bu kanal açılımı, hücre içindeki potansiyel farkı değiştirirken, potasyum iyonlarının (K⁺) hücreye girişini sağlar ve böylece depolarizasyon meydana gelir. Depolarizasyon sonucunda hücre içindeki negatif yük azalır ve bu durum,

voltaj duyarlı kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarının açılmasına yol açar. Ca^{2+} iyonlarının hücre içine girmesiyle, sinaptik boşluğa glutamat salınımı gerçekleşir ve afferent sinir lifleri uyarılır²⁴⁻²⁶.

Hücre içindeki Ca^{2+} iyonlarının artması, duyarlı K^+ kanallarını etkileyerek potasyum hücre dışına çıkar ve böylece repolarizasyon işleminin başlamasına yol açar. Dinlenme halinde, stereosilyalardaki mekano-elektriksel transdüksiyon kanalları açık durumdadır, bu da nörotransmitter salınımının devam etmesini sağlar. İTH'lerin fonksiyonu, işitme sürecinin dinamik ve hassas doğasını sürdüren karmaşık bir mekanizma olarak önemli bir rol oynar²⁴⁻²⁶.

2.1.7. Dış Tüylü Hücreler

Dış tüylü hücreler (DTH), kokleada işitme mekanizmasının kritik bir parçasını oluşturur. Yaklaşık 13,000 kadar bulunurlar ve boyutları 10-80 mikrometre arasında değişirken, çapları 8 mikrometre civarındadır. Hücrelerin tepe kısmında bulunan stereosilyalar, belirgin bir düzen içerisinde sıralanmıştır: bazal kıvrımda stereosilyalar *W* şeklinde orta bölgede *V* şeklinde, apekte ise düz bir hat boyunca dizilidir. Bu hücreler, tektoriyal membrana gömülü bir şekilde yer alır. Yapısal desteklerini: bazal kısımda Deiters hücreleri, apikal bölgede ise dış pillar ve Hensen hücreleri sağlar.

DTH'lerin stereosilya sayısı, bazaldan apikal bölgeye doğru ilerledikçe azalma gösterir. Bu özellik, baziler membranın frekansa özgü titreşimlerini düzenleyebilmesi için önemli bir anatomik adaptasyondur. Kokleanın tonotopik organizasyonu, farklı frekansların işitilmesini mümkün kılar. Bazal kısım yüksek frekanslı, apikal kısım ise düşük frekanslı seslere duyarlıdır. DTH'lerin bu tonotopik yerleşimi, işitme sisteminin geniş bir frekans aralığını algılamasına olanak tanır. Ayrıca, DTH'ler baziler membranın titreşim genliğini artırarak mekanik bir amplifikatör olarak görev yapar. Bu amplifikasyon mekanizması, düşük şiddetli seslerin algılanmasını mümkün kılar ve işitme sisteminin hassasiyetini artırır. Stereosilyaların hareketi, bu amplifikasyonun temel mekanizmasını oluşturur ve işitme fonksiyonunun geniş bir ses şiddeti aralığında etkin bir şekilde çalışmasını sağlar.

Dış tüylü hücrelerin (DTH) işlevselliği, somatik elektromotilite adı verilen özel bir mekanizma ile açıklanmaktadır. Bu özellik, DTH'lerin nöral uyarılara yanıt olarak şekil değiştirme, yani uzama ve kısalma yeteneği ile karakterizedir. Bu süreçte kritik rol

oynayan yapı, DTH'lerde bol miktarda bulunan *prestin* adlı motor proteindir. Prestin, hücre zarındaki iyon hareketlerine bağlı olarak hücrenin mekanik yanıt oluşturmada sağlar ve bu da kokleanın amplifikasyon fonksiyonuna katkıda bulunur.

DTH'lerin elektromotilite özelliğinin kaybı, koklear amplifikasyon mekanizmasının bozulmasına yol açabilir. Özellikle DTH hasarında, elektromotilitenin etkisiz hale gelmesi durumunda yaklaşık 40-60 dB düzeyinde bir işitme kaybı gözlemlenmektedir. Bu durum, düşük şiddetli seslerin algılanamaması ve işitme duyusunun genel hassasiyetinde belirgin bir düşüş ile sonuçlanır²⁷⁻²⁹.

Tüylü Hücrelerin İnervasyonu

Koklear sinir, işitme sisteminin temel bileşenlerinden biridir ve yaklaşık 30,000 adet miyelinli afferent sinir lifi barındırır. Bunlar, duyuusal bilgilerin iletilmesinde hayati bir rol oynar. Sinir lifleri, spiral ganglionda yer alan afferent hücrelerden oluşur. Afferent lifler, modiolus boyunca ilerleyerek spiral kanala ulaşır ve burada terminal dendritleri aracılığıyla tüylü hücrelerle sinaptik bağlantılar oluşturur²⁹.

Koklear sinirde iki ana afferent nöron türü yer alır. Tip I olarak adlandırılan nöronlar büyük hücre gövdelerine sahip olup miyelinli liflerden oluşur ve toplam sinir fibrillerinin %95'ini meydana getirir. Bu nöronlar, periferik kısımlarında İTHler ile bağlantı kurar ve santral kısımlarında koklear nukleusta son bulur. Tip II nöronlar ise Tip I nöronlara göre daha küçük hücre gövdelerine sahiptir ve miyelinsizdir. Afferent nöronların kalan %5'lik bir kısmını temsil eder. Tip II sinir lifleri, tek bir lifin birden fazla DTH ile bağlantı kurduğu bir düzenle karakterizedir³⁰.

Efferent sinir fibrilleri, beyinsapında düzeyinde bulunur ve spiral gangliyondan geçer. Bu efferent nöronlar, superior vestibüler sinir içerisinde yer alır ve işitme sisteminde geri bildirim görevini üstlenir. Efferent sinirlerin temel görevi, tüylü hücrelerin aktivitesini düzenlemektir. Bu düzenleme, işitme duyusunun hassasiyetini artırmayı ve yüksek şiddetli gürültüye karşı koruma sağlamayı amaçlar²⁹⁻³¹.

2.1.8. Kokleanın Diğer Hücreleri

Korti organının destek hücreleri, işitme sisteminde önemli bir işlev gören farklı hücre türlerinden oluşur. Bu destek hücreleri arasında Deiters hücreleri, pillar hücreleri, Hensen hücreleri ve falangeal hücreler yer alır. Bu hücreler, hem tüylü hücrelerin

mekanik stabilitesini sağlamak hem de kokleanın işlevsel bütünlüğünü desteklemek için kritik bir role sahiptir.

Deiters hücreleri, baziler membrana bağlı şekilde konumlanır ve dış tüylü hücreleri (DTH) çevreleyerek onlara destek olur. Hensen hücreleri ise korti organının yan sınırında yer alır ve apekse doğru uzanım gösterir. Hem Deiters hem de Hensen hücreleri, afferent ve efferent sinirlerle innerve edilmiştir, bu sayede işitme mekanizmasında dinamik rollerini güçlendirir.

Claudius hücreleri kübik şekilde olup skala media ve skala timpani arasında bir sınır oluşturur. Boettcher hücreleri ise tek katlı kübik şekilli hücreler olup koklea bazalinden apeksine doğru uzanır ve yol boyunca sayıları azalır. Bu hücreler fibronektin ve matriks yapılarını sağlar.

Claudius, Deiters ve Hensen hücrelerinin, iyon döngüsünde, özellikle potasyum dengesinde önemli bir görevi olduğu düşünülmektedir. Bu hücreler, kokleanın homeostazını sağlamak ve tüylü hücrelerin fonksiyonlarına katkı sağlamaktadır^{24,25,32}.

2.1.9. Santral İşitme Yolları

Spiral ganglionda yer alan bipolar nöron yapılarının santral uzantıları, VIII. sinirin miyelinli koklear kısmını meydana getirir. Bunlar, tonotopik bir düzene sahiptir; yani alçak frekanslı akustik uyarılar sinirin merkezinde, yüksek frekanslı akustik uyarılar ise dış yüzeyde yer alan apikal lifler tarafından algılanır. Bu yapı, işitsel girdilerin doğru bir şekilde işlenmesini sağlar.

Santral işitme yollarında, akustik girdilerin işlenmesinde yedi ana merkez önemli bir rol üstlenmektedir. Bu merkezler, aşağıdan yukarıya doğru şu şekildedir; medulla oblongatada yer alan koklear nükleus(CN), pons bölgesinde superior olivary kompleks (SOC), mezensefalonda bulunan lateral lemniskus, inferior ve superior kollikulus, talamusta medial genikulat cisim ve en son olarak temporal lobda yer alan işitsel korteks bulunmaktadır. Bu merkezi yollar, işitsel bilgilerin değerlendirilmesinde, sesin kaynağının konumunun tespitinde ve seslerin anlamlandırılmasında önemli bir rol üstlenir. İşitsel korteks, gelen uyarıları analiz ederek çevresel sesleri tanımamıza ve onlara uygun tepkiler göstermemize olanak tanır. Santral işitme yollarının verimli çalışması, işitme duyusunun sağlıklı bir şekilde işlev görmesi için gereklidir.

Koklear nukleustan kaynak alan liflerin büyük kısmı, kontralateral SOC'a ulaşırken daha az sayıda lif ipsilateral SOC'a gider. SOC, işitme yolundaki bilateral uyaran sonucu oluşan verilerin birleştiği ilk merkezdir. Burdaki nükleuslar, gelen uyarılara bağlı olarak eksitator veya inhibitör görevi görürler. Genellikle kontralateral uyarılar, nöronlarda eksitator bir yapı olarak çalışırken, ipsilateral kulaktan gelen uyarılar inhibitör bir etki meydana getirir.

Medial superior olivar kompleksi, DTH ile çapraz yapan efferent liflerin başlangıç noktasıdır. Bu lifler, sesin tespiti ve işitsel sinyallerin düzenlenmesinde büyük bir etkiye sahiptir. Öte yandan, lateral SOC, İTH ile sonlanan ve çapraz yapmayan efferent liflerin kaynağını oluşturur. Bu yapılar, işitsel uyarıların işlenmesi ve işitme duyusunun doğruluğunun artırılmasında kritik bir rol oynar. Bu özellikler, işitme yollarındaki kompleks bağlantılar aracılığı ile çevresel seslerin doğru bir şekilde analizinde ve sesin lokalizasyonunda yardımcı olur³³⁻³⁶.

2.2. İşitme Fizyolojisi

Akustik sinyaller, stapese ulaşır ve oval pencere üzerindeki hareketinin başlamasını sağlar. Başlayan bu hareket skala vestibüli boyunca dalgalar meydana getirir. Bu dalgalar, helikotrema adı verilen bağlantıdan skala timpaniye ulaşır ve yuvarlak pencerede dışa doğru baskılara yol açar. Perilenfte oluşan dalgalar, skala media ve baziler membran boyunca apikal bölgeye doğru hareket eder.

Yüksek frekanslı akustik uyarılar, kokleanın apikal bölgesine ulaşamazken, alçak frekanslı akustik dalgaları baziler membran boyunca daha fazla yayılabilir. Bu titreşimler sonucunda, iç tüylü hücrelerin (İTH) stereosilyaları bükülür ve bu durum, hücrelerdeki iyon kanallarının açılmasına neden olur. Endolenfteki potasyum iyonları, hücre içine geçerek depolarizasyonu başlatır.

Depolarizasyon, hücrede yer alan voltaj duyarlı kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarının açılmasına yol açar ve bu da perilenften kalsiyum transferine neden olur. İTH'lerden sinaptik boşluğa glutamat akışı sonucu afferent sinir uyarımı başlar. DTH'lerde elektromotilite devreye girer; stereosilyaların ters yönde hareketi hiperpolarizasyona neden olur. Bu mekanizmalar, işitme duyusunun temelini atarak mekanik ses dalgalarının elektriksel sinyallere dönüştürülmesinde önemli rol üstlenir ve işitme sisteminin etkinliğini destekler^{8,37}.

Endokoklear potansiyel, endolenf ve perilenf sıvılarının 80 mV'luk elektriksel farkına verilen addır. Bu potansiyel, işitme sürecinin önemli bileşenlerinden birini oluşturur. Kokleanın uyarılmasıyla oluşan elektriksel uyarılar, VIII. sinir nöronları ile ipsilateral koklear nukleusa aktarılır. Bu uyarılar, oradan kontralateral superior olivar komplekse iletilir^{37,38}. Sonraki kısımda, akustik girdiler lateral lemniskusu geçtikten sonra inferior kollikulusa iletilir. Bu yapı, işitsel bilginin entegrasyonu ve lokalizasyonunda önemli bir rol üstlenir. Arkasından, uyarılar medial genikulat nukleusa aktarılır. Sonunda, bilateral temporal lobdaki birincil işitsel kortekslere gelir, seslerin algılanması ve analizinde önemli süreçler tamamlanır^{37,38}. Bu yollar, işitme fonksiyonunun karmaşık sistemini ve seslerin işlenmesinde izlenen yolları yansıtır. İşitme ile ilgili bu merkezlerin etkili çalışması, çevresel seslerin doğru bir şekilde analiz edilmesi ve anlamlandırılması açısından çok önemlidir.

2.3. Sıçan Kulak Anatomisi ve İşitme Sistemi

İnsan hastalıklarının incelenmesinde hayvan modelleri kullanılmaktadır, çünkü biyomedikal bilgide ilerleme kaydetmek için gereken araştırmanın ana hatlarının çoğu, insanlar üzerinde etik olmayan paradigmaları kullanılmaktadır. Bilim insanlarının bir deneği yüksek düzeyde ototoksit bir ilaç vererek işitme kaybına neden yapmalarının etik olmayacağı açıktır. Bu nedenle, hayvan modelleri daha etik bir araştırma yolu sağlar.

Sıçan (*Rattus cinsi*), vücut uzunlukları 12-13 cm veya daha uzun olabilen, görece daha büyük kemirgen türlerini ifade etmek için kullanılan genel bir terimdir. Araştırma hayvanları olarak sıçanlar; uyumlulukları, sağlamlıkları, hayatta kalabilmeleri ve zekaları göz önüne alındığında tıbbi, biyolojik, genetik ve davranışsal olayların incelenmesi için mükemmel modeller oluştururlar. Yönetim açısından bakıldığında, sıçanlar ekonomiktir ve bakımları nispeten kolaydır³⁹⁻⁴⁰.

İşitme açısından, insanlar ve sıçanlar arasında hem benzerlikler hem de önemli farklılıklar vardır. Gelişimsel olarak, sıçanların işitme duyusu ancak doğumdan sonra olgunlaşırken, insanlar doğumdan önce işitebilmektedir. Bu çok önemli fark, işitmenin insanlarda mümkün olandan daha fazla şekilde incelenmesini mümkün kılmaktadır. Başka bir deyişle, insan kokleası doğumdan önce olgunlaştığı için, bilim insanları kokleanın olgunlaşmasını, işitme hassasiyeti ve gelişmekte olan insan işitme sistemindeki diğer parametreler açısından inceleyememektedir. Buna karşılık, işitsel beyin sapı

cevapları (ABR) gibi objektif işitme ölçümleri, sıçan kokleası tam olarak olgunlaşmadan önce, doğumdan 12 ila 14 gün sonra sıçan yavrularından elde edilebilir. Bu, memeli kokleasının nasıl olgunlaştığı ve farklı yeteneklerini ve özelliklerini nasıl geliştirdiğine dair yenilikçi gelişimsel çalışmalar için fırsat yaratmaktadır. Ayrıca, insanlara kıyasla sıçanın bu benzersiz özelliği, araştırmacılara gelişimsel, yapısal ve işlevsel malformasyonlara ve bunların işitme sonuçlarını nasıl etkilediğine dair klinik açıdan önemli bir pencere sağlar. Sıçan işitme duyusunun frekans aralığı yaklaşık 250 Hz ila 80 kHz'dir ve en yüksek hassasiyet 8 kHz ila 38 kHz arasında meydana gelir; bu aralık insanlarda bulunandan çok daha yüksektir. Buna karşın, orta kulak mukozası ve kemikçikleri insanlara oldukça benzerdir. İnsanlar gibi, sıçan kokleası da iç ve dış duyu tüy hücrelerinin benzer bir düzenlemesi ile yaklaşık iki buçuk tura sahiptir. Sıçan merkezi işitme sistemi de insanlarda bulunan birçok anatomik ve fizyolojik özelliği paylaşır^{40,41}.

İşitme üzerine yapılan araştırmalarda, sıçanlar ve guinea pigler, insan kulağının anatomik ve fizyolojik yapısına benzerlik göstermesi sebebiyle önemli model denek olarak öne çıkmaktadır. Bu türlerin işitme fonksiyonları, insanlarda gözlemlenen patolojilerin tanımlanması ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından kritik veriler sağlar. Bu sebeple, sıçanlar işitme çalışmalarında en yaygın olarak kullanılan bir model haline olmuştur^{42,44}.

Ratların kulak anatomisi, insana benzer şekilde dış, orta ve iç kulak olmak üzere üç bölümden oluşur. Dış kulak yolunun medial bölümünde, insanlardaki mastoid hücrelere benzeyen yapı olan bulla bulunur. Timpanik membranın alanı, insanlarda yaklaşık 66 mm² iken, ratlarda bu alan yaklaşık 11 mm²'dir. Ayrıca, ratların timpanik membranında pars flaksida kısmı yoktur⁴⁴.

Bu anatomik farklılıklar ve benzerlikler her iki canlı için sistemin nasıl çalıştığını anlamak için önemlidir. Örneğin, ratların daha küçük alana sahip timpan membranı, akustik uyarının iletilmesinde farklı dinamikler ve mekanizmalara ihtiyaç duyar. Bu sebeple, ratlar, işitme çalışmaları için önemli bir model organizma olarak kabul edilmektedir^{45,46}.

Sıçan ve insan orta kulak yapıları benzerlik gösterir ve temporal kemikte bulunur. Orta kulak kemikçikleri, epitimpanumda yer alır ve insanlardaki malleus, inkus ve stapes yerine sıçanlarda malleoinkudal kompleks ile stapes bulunur. Bu yapılar, insan kemikçiklerinin yaklaşık dörtte biri büyüklüğündedir^{40,41}. Sıçanlarda östaki tüpü,

tamamen kıkırdaktan oluşur. Orta kulak ile nazofarenks arasında basınç dengesini sağlar. İnsanlarda yapısal olarak kemik doku daha fazladır.

Ratlarda koklea, modiolus çevresinde üç tur dönüş yapar ve yaklaşık 9-11 mm uzunluğundadır. Bu dönüş sayısı insanlarda 2.5-2.75 turdur. Kokleanın yapısında insanlara benzer şekilde skala media, skala vestibüli ve skala timpani yer alır. Endolenf ve perilenf iyon bileşenleri insanlar ile aynı özelliktedir. Bu benzerlikler, sıçanların işitme sisteminin değerlendirilmesinde kritik bir avantaj sunar ve işitme mekanizması üzerine yapılan çalışmalar için ratları kıymetli bir model organizma haline getirir^{45,46}.

Skala vestibüli oval pencereye, skala timpani yuvarlak pencereye açılır ve her ikisi de perilenf sıvısı içerir. Skala mediada endolenf bulunur. Skala vestibüli ve skala timpani apikalde birleşir. Skala media ve vestibülinin arasında, insanlara benzer şekilde Reissner membranı bulunur. Skala medianın tabanında ise korti organı yer alır.

Ratlarda, yaklaşık 7000 dış tüylü hücre (DTH), 2000 iç tüylü hücre (İTH) bulunur. Ratların kokleasındaki tüylü hücrelerin bu oransal dağılımları, insanlara olan benzerlikleri nedeniyle işitme çalışmalarında değerli bir model olmasını sağlar.

Sıçanlar, uyum kabiliyetleri, sağlamlıkları, hayatta kalma kabiliyetleri ve zekaları göz önüne alındığında tıbbi, biyolojik, genetik ve davranışsal olguların incelenmesi için mükemmel modeller oluştururlar. Sıçanın işitme sisteminin genel anatomisi ve fizyolojisi insanlarda gözlemlenenlere benzerdir ve bu, memeli işitme sistemi üzerindeki ototoksisite etkisinin araştırılmasında kullanılmalarına yol açmıştır.

2.4. Sisplatin Ototoksitesi

Sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin gibi platin bazlı kemoterapötik ilaçlar, testis, yumurtalık, serviks, meme, mesane, baş ve boyun ve akciğer kanseri dahil olmak üzere hem yetişkin hem de pediatrik hastalarda solid malign tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sisplatin (sis-diamindikloroplatin (II)) en yaygın kullanılan platin bazlı ilaçtır. 1978'de ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmasından bu yana sisplatin, onkolojide temel bir tedavi ve germ hücreli malign tümörler için temel bir sistemik tedavi olmuştur⁴⁷.

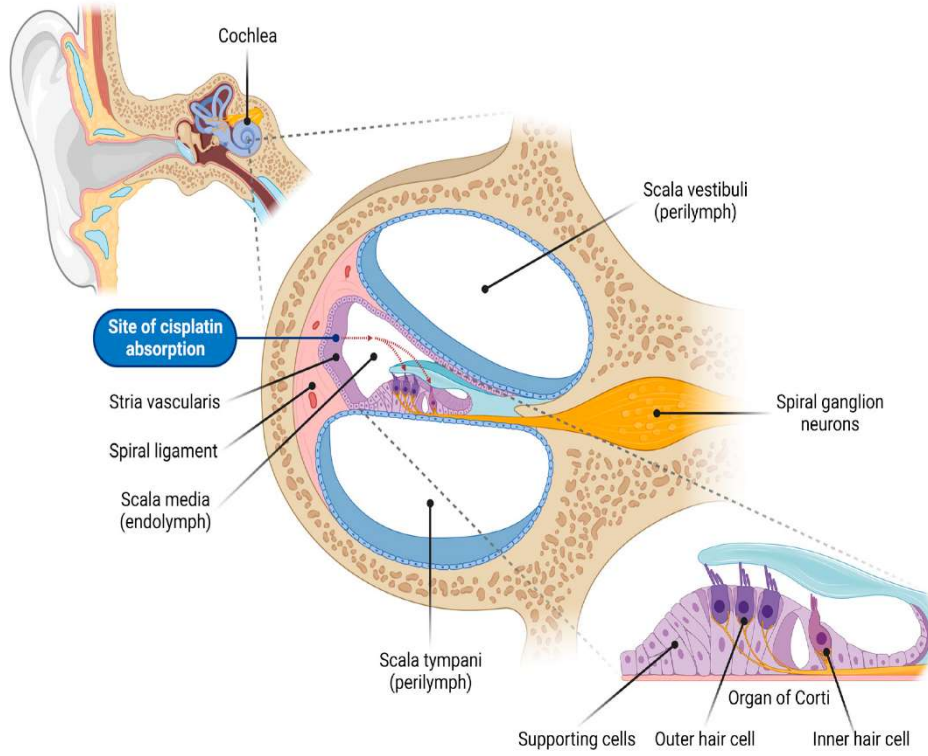
Sisplatin, DNA'nın çapraz bağlanmasını ve DNA adüktlerinin oluşumunu indükler ve bu da nihayetinde kanser hücrelerinde apoptozu tetikler^{48,49}. Klinik

etkinliğine rağmen sisplatin, hem kanser hücrelerini hem de sağlıklı dokuları hedef alan spesifik olmayan etki mekanizmaları nedeniyle ciddi yan etkilere neden olabilir. Sisplatinin yan etkileri doza bağlıdır ve ototoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite, hepatotoksisite, gastrointestinal toksisite ve retinal toksisiteyi içerir. Ototoksisite, sisplatinin koklear dokularda birikmesi ve uzun süre tutulması nedeniyle en sık görülen yan etkidir⁵⁰.

Sisplatin ototoksisitesi esas olarak duyuşal tüy hücreleri, spiral ganglion nöronları (SGN'ler) ve kokleanın salgı ve bağ dokuları (stria vaskülaris ve spiral ligament) üzerindeki etkilerden kaynaklanır (Şekil 1)⁴⁸. Kokleanın bazal dönüşünde önemli miktarda DTH kaybına sebep olan bu toksisite, tüy hücrelerinde ve SGN'lerde rejeneratif kapasitenin olmaması nedeniyle. irreversible hücre ölümüne ve kalıcı sensörinöral işitme kaybına neden olur. Sisplatin kaynaklı ototoksisite, bilateral, orta-ileri şiddette, yüksek frekansları tutan işitme kaybına sebep olur. Sisplatin esas olarak işitsel işlevi etkilese de, iç kulak toksisitesi, tinnitus ve nadiren de vestibülotoksisiteye bağlı denge bozukluğu olarak da ortaya çıkabilir^{51,52}. Ototoksisiteden etkilenme durumu, hastanın yaşı, kümülatif sisplatin dozu ve yatkınlık dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından belirlenir⁵³. Sisplatin kaynaklı işitme kaybı yetişkinlerin %40-60'ını etkiler ve bunların %18'inde sisplatin tedavisinden sonra ileri ila çok ileri derecede işitme kaybı görülürken, vakaların %40'ında tinnitus görülür⁵⁴. Sisplatin ile tedavi edilen çocukların ise %60 kadarı işitme kaybından etkilenir⁵⁵. Genellikle 4,000- 8,000 Hz aralığındaki frekanslarda başlar ve 15-65 dB arasında değışen şiddette bir işitme kaybına sebep olur.

Ototoksik etkiyi arttıran başka nedenler de vardır. Bunlar sisplatinin dozu, yaş, gürültüye maruziyet, nefropati, ek ototoksik ilaç kullanımı, yetersiz beslenme ve radyoterapi varlığıdır. Sisplatine bağlı ototoksisitede öncelikle yüksek frekanslarda işitme kaybı başlar. Dozu 100mg/m² 'yi aşan uygulamalarda orta frekanslarda da işitme kaybı meydana gelir. Histopatolojik incelemeler sonucunda sisplatin ototoksisitesinin zarar verdiği bölgelerin başında kokleanın bazal ve orta bölümlerinde DTH'ler olduğu ortaya çıkmıştır. Tüylü hücre hasarı sırasıyla bazalden apekse, 3. sıra DTH'lerden 1.sıra DTH'lere ve daha sonra İTH'lere doğru oluştuğı göstermektedir. Genellikle destek hücreleri ve stria vaskülaris de etkilenmektedir. Deneysel sisplatin ototoksisitesinde elde edilen elektrokokleografi bulgularında, koklear mikrofoniğlerdeki değışimlerin endokoklear potansiyel değışikliklerinden daha belirgin olması, etkilenen kısımların

DTH'ler olduğu sonucunu çıkarmıştır⁵⁶. DTH hasarı akustik uyarının mekanoelektriksel transdüksiyon sisteminde bozulmaya neden olur; bu durum kokleanın sensitivite ve frekans selektivite özelliklerini olumsuz etkileyerek koklear sistemin işleyişini ortadan kaldırmaktadır⁵⁷.



Şekil 1. Koklear yapının ve sisplatin emilim yerinin genel görünümü ⁴⁸

Bu şekil, iç kulakta bulunan işitme organı olan kokleanın anatomik yapısını tasvir ederek, sisplatin kaynaklı hasara karşı hassas olan çeşitli hücre tiplerini vurgulamaktadır. Koklea, üç sıvı dolu bölmeden oluşur; Na^+ bakımından zengin perilymph ile dolu skala vestibuli ve skala timpani, ve K^+ bakımından zengin endolymph ile dolu skala media. Skala media, iç tüy hücrelerini (işitsel transdüksiyondan sorumlu), dış tüy hücrelerini (koklear amplifikasyon için önemli) ve çevreleyen destek hücrelerini içeren Korti organını barındırır. Korti organının bitişiğinde, stria vaskülaris (duyusal transdüksiyonun itici gücü olan endokoklear potansiyeli oluşturmaktan ve sürdürmekten sorumlu) ve spiral ligamenti (stria vaskülarisi ve koklear sıvı homeostazını destekleyen) içeren lateral duvar bulunur. Spiral ganglion nöronları duyusal tüy hücrelerini innerve eder ve işitsel sinyalleri beyin sapındaki işitsel çekirdeklere iletir. Sisplatin, stria vaskülaristeki kapillerler aracılığıyla skala mediadaki endolymph girer ve daha sonra Korti organındaki duyusal tüy hücreleri tarafından emilir (kırmızı kesikli oklar).

Pediatric hastalar işitme bozuklukları nedeniyle konuşma ve dil gelişimi zorlukları yaşayabilir. Sisplatin kaynaklı işitme kaybının diğer sonuçları arasında hastanın genel refahını olumsuz etkileyen sosyal izolasyon, anksiyete ve depresyon bulunur. Ototoksisite yapma ihtimali olan ajanlarla medikal tedaviler esnasında odyolojik değerlendirmeler gerekir. Bunun için genellikle saf ses odyometrisi, yüksek frekans odyometri, TEOAE, DPOAE, ABR ölçümleri kullanılmaktadır.

Sisplatin Ototoksisitesinde Apoptozis Mekanizması

Sisplatin sitotoksisitesinin hücrel mekanizması tam olarak netleşmemiştir. Bu nedenle toksisite mekanizmasını anlamak amacıyla, sisplatinin etkisi çeşitli hayvan modelleri üzerinde çalışılmıştır. Sisplatin toksisitesinden sorumlu birden fazla mekanizmanın olduğu düşünülmektedir.

Uzun bir süredir, sisplatin ototoksisitesinin esas olarak iç kulak hücrelerinin sisplatin ile indüklenen apoptozisine bağlı olduğu düşünülmektedir. Sisplatin uygulaması kan akışı yoluyla kokleanın lateral kısmındaki stria vaskularise ulaşır. Bu bağlamda stria vaskularisin marjinal hücreleri ototoksik etkilenmenin ilk hedefi olabilir⁴⁶. Marjinal hücrelerin apoptozisi stria vaskularis fonksiyonunu bozarak endolenfatik potansiyelin kaybına ve normal işitsel fonksiyonun sürdürülebilmesi için gerekli olan endolenfatik elektrolit bileşiminde bozulmaya neden olur. Sisplatin kan-labirent bariyerini geçer (BLB) ve marjinal hücrelerdeki organik katyon taşıyıcı 2 (OCT2) ve bakır taşıyıcı 1 (CTR1) aracılığıyla skala mediadaki endolenfe girer⁵². Endolenfte sisplatin, apikal membranlarda pasif difüzyon yoluyla bile çeşitli katyon taşıma proteinleri ve mekano-elektriksel transdüksiyon (MET) kanalları yoluyla koklear tüy hücrelerine girebilir ve aylarca ve yıllarca kalabilir. Stria vaskularis tarafından üretilen endolenfatik potansiyel, tüy hücrelerinin MET'sini güçlendirerek koklear tüy hücrelerinin sisplatin alımını kolaylaştırabilir⁵⁷.

Koklear tüy hücresi hasarının ana tetikleyicisi, genetik materyalin replikasyonunu ve transkripsiyonunu etkileyen monohidrat sisplatin kompleksinin DNA'ya bağlanmasıdır. Böylece normal hücre içi metabolik faaliyetleri bozarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikmesine yol açar. Biriken reaktif oksijen türleri, mitokondriyal membran geçirgenliğinin artmasına, mitokondriyal redoks mekanizmasının bozulmasına,

solunum zinciri hasarına ve potasyum iyonu çıkışına yol açarak sonuçta geri dönüşü olmayan bir reaksiyona yol açar⁵²⁻⁵⁵.

2.5. Sisplatin Ototoksitesisi Önleme Stratejileri

Onkolojik hastalarda , sisplatine alternatif veya gerekli sisplatin dozunu azaltacak medikal kombinasyonlar sayesinde ototoksiteden etkilenme olasılığını azaltma yoluna gitmek akılcı ve pratik bir yaklaşım olabilir. Ancak sisplatin kullanımı bazı durumlarda tedavinin temel yapıtaşı konumundadır, bu bağlamda otoprotektif bir medikal uygulamaya ihtiyaç vardır. Onkoloji hastalarında uygulanabilecek, etkin, güvenli, yan etkisi az, kolay uygulanabilir ideal bir otoprotektif ajanın, sisplatinin antitümöral etkinliğini bozmaması veya azaltmamasını da gerektirir.

Sisplatin ototoksitesisini önlemeye yönelik en fazla araştırılan strateji, reaktif oksijen/nitrojen türlerinin toksik düzeyde oluşumunu veya proapoptotik faktörlerin üretimini engellemeye yönelik çalışmalar olmuştur. Sistemik olarak verilen ototoksik ajanların BLB'yi geçişinin ve iç kulak sıvılarına girmesinin engellenmesinde önemli bir rol oynar. Ancak ne yazık ki sisplatin ajanlar için ototoksitesinin azalmasına rağmen sisplatinin etkinliğin azalması da tartışma konusu olmuştur^{58,59}.

Preklinik ve klinik araştırmalardaki otokoruyucu ajanlarının çoğunun antioksidan veya anti-inflamatuar ajanları içermektedir. Sisplatin ototoksitesite mekanizmasındaki yollardan bir veya birkaçını inhibe ederek etki gösterirler. Otokoruyucu bileşiklerin oral veya sistemik olarak verilmesi gerekiyorsa ve birincil hedef bölge iç kulağın kendisi ise bu bileşiklerin öncelikle toksisite oluşturmayan terapötik dozlarının verilmesi ve BLB'yi geçmesi sağlanmalıdır. Bu durum pek mümkün değildir ve otokoruyucu ajanlar perilenfte etkili ise intratimpanik yol ile lokal yayılım gösterebilirler. Kemoterapi alan hastalarda yaşlanma, böbrek yetmezliği, inflamasyon, genetik polimorfizmler veya ek tedaviler gibi risk faktörleri daha yüksek derecede bir ototoksitesite riskine yatkın hale getirir. Nonfarmakolojik ek otokoruyucu uygulamalar içinde mikrobiyal DNA dizilerinin türe özgü tespit edilmesi veya ototoksitesiteyi arttıran genomik polimorfizmler için genomik taramaların yapılması faydalı olabilir. Günümüzde ototoksitesiteye yatkın hale getirdiği bilinen mitokondriyal polimorfizmler için klinik yönergeler vardır. Ayrıca popülasyondaki her bireyin tıbbi geçmişi ve ototoksitesiteye sebep olan dozlama

öyküsünün değişkenliği nedeniyle çoğu predispozan faktörün prevalansı ve insidansı belirlemek oldukça zorlaştırmaktadır. Kistik fibrozisteki gibi, hayatı tehdit eden kritik durumlarda bireylere ototoksik ajanların reçete edilmesi gerekliliği dikkate alındığında, ototoksisite izleme protokollerinin uygulanması oldukça önemlidir. Ototoksisite izleme protokollerinin yaygın şekilde uygulanması, kokleotoksisite ve vestibülotoksisitenin prevalansı ve insidansı hakkında daha güvenilir yeni bilgiler sağlayacaktır⁵⁸⁻⁶⁰.

2.6.Antioksidanlar

Antioksidanlar, ROS oluşumunu engelleyen ve oksidatif stresi kontrol eden maddeler olarak tanımlanır. Antioksidanlar genel olarak, canlı organizmada üretilen endojen antioksidan enzimler ve vücudun dışından sağlanan ekzojen antioksidanlar olarak sınıflandırılır. Ekzojen antioksidanlar, suda ve lipitte çözünen bileşenlerden oluşur. Alfa-lipoik asit gibi bipolar antioksidanlar, antioksidan görevi görür ve glutatyon, A vitamini, C vitamini ve E vitamininin antioksidan etkilerini geri kazandırır.

Reaktif oksijen metabolitleri oksijen merkezli serbest radikallerdir veya serbest radikallerin indirgenme ürünleridir. Reaktif oksijen metabolitleri (süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit) normal metabolizma işleyişinde üretilmektedir. İnsanlarda serbest radikallerin tahribatını engelleyen, kısıtlayan ve kısmen onaran antioksidan mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalar normal biyokimyasal süreçler esnasında sınırlı miktarda meydana gelen radikalleri nötralizeedebilir. Ancak hiperoksijenasyon, iskemi ve sonrasında meydana gelen reperfüzyon, radyasyon, stres, dokularda reaktif oksijen radikallerini oluşturan ksenobiyotiklere (sigara dumanı, ozon, asbest, v.b gibi) maruziyet ve bu radikalleri bol miktarda meydana getiren aktive edilmiş nötrofiller eozinofiller ve makrofajların hücrelerde birikmesi gibi durumlarda oksidan/antioksidan dengesi bozularak antioksidan çalışma mekanizmasını engeller. Artan sitotoksik radikal etkinlik hücresel hasara ve apoptoza sebep olur^{58,59}.

Antioksidanlar, hücrelerin ROT/RNT'den zarar görmesini engelleyen veya en aza indirgeyen moleküllerdir. Fizyolojik şartlarda ROT/RNT seviyelerini toksik olmayan düzeyde tutmayı sağlarken; hücre içi ROT/RNT artışına neden olan patolojik sebeplere antioksidan savunma gücünün yetersiz kalması sonucu hasar mekanizmaları meydana gelir. Antioksidan savunma mekanizması, elektron çifti verici ve detoksifikasyon amacıyla gerekli enzimlerin çalışmasında katalizör görevini yerine getirir Antioksidanlar,

reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu, böylelikle lipid peroksidasyonunu önlemeyi sağlar. Antioksidanların dört farklı etki mekanizması vardır:

1. Toplayıcı özellik: Serbest radikallerle etkileşime geçerek daha zayıf yeni moleküllere çevirirler.
2. Bastırıcı özellik: Serbest oksijen radikallerine hidrojen aktararak etkinliklerini azaltma ya da inaktif forma dönüştürürler (*Vitaminler bu sistem ile etki ederler*).
3. Zincir kırıcı özellik: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerine zarar vererek, işlevsiz hale getirirler (*Seruloplazmin, hemoglobin ve mineraller bunlara örnektir*).
4. Onarıcı özellik: Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarı onarırlar.

Sisplatin ototoksitesine karşı antioksidanlar

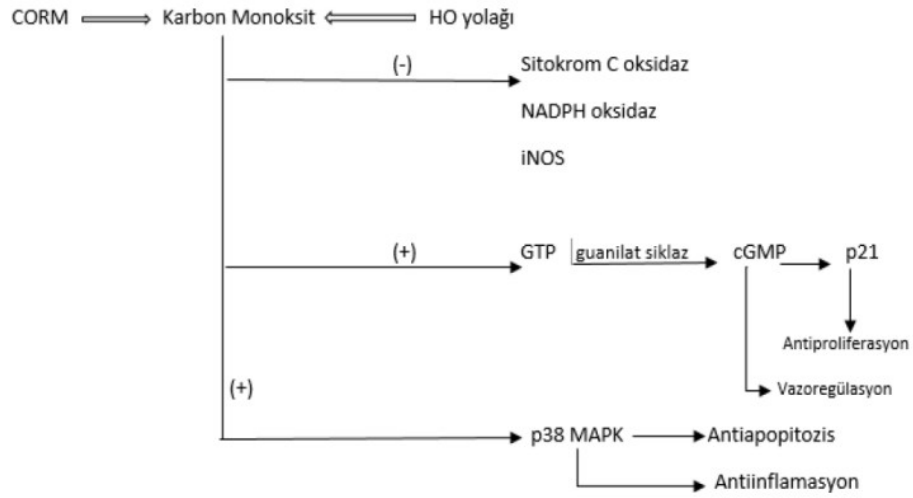
Geçmişten bu yana, sisplatinin antitümoral etkinliğini bozmadan vestibulokoklear sistem üzerindeki toksik etkilerini azaltmak amacıyla bir çok çalışmada sisplatin ve otoprotektif ajan kullanımı çalışılmıştır^{60,61}. Sisplatine karşı koruma mekanizmaları endojen enzimleri, eksojen ajanları veya endojen koruyucu mekanizmaları tetikleyen eksojen ajanların bir kombinasyonunu içerir⁵⁷. Endojen antioksidanlar yüksek doz sisplatine karşı etkili değildir. Klinik ve hayvan çalışmalarında kullanılan otoprotektif ajanlar arasında amifostin, D -veya L-metiyonin, metiltiyobenzoik asit, lipoik asit, tiopronin, glutatyon ester, sodyum tiyosülfat, melatonin , E vitamini ve trolox, N-asetilsistein, deksametazon, resveratrol, ginkgo biloba ekstresi, dietilditiyokarbamat, metiltiyobenzoat, CAPE (kafeik asit fenetil ester), tiyoüre, ebselen, salisilat⁶⁰⁻⁶². Tüm bu moleküller, başta serbest radikal temizleme olmak üzere farklı yolları aktive ederek deneysel modellerde işitme eşiği seviyelerini iyileştirmiştir, bu nedenle klinik uygulama için umut verici bileşikler olarak kabul edilirler⁶³. Ancak, bu ajanların hiçbirisi sisplatinin neden olduğu ototoksitesiyi önlemede etkili bulunmadığından, klinik uygulamada rutin kullanım için zaten önerilmemektedir^{64,65}.

Birçok antioksidanın umut verici olduğu görülmüştür, ancak bunların çoğu hala deneysel aşamadır. Kanseri tedavisine kişiselleştirilmiş bir yaklaşım perspektifinde, antioksidanların sisplatin ototoksitesine karşı koruyucu ajanlar olarak yararlı etkilerini göstermiş ve klinik çalışmalara yol açabilecek ön veriler sağlamıştır.

2.7. CORM-3 (Carbon Monoxide Releasing Molecule-3)

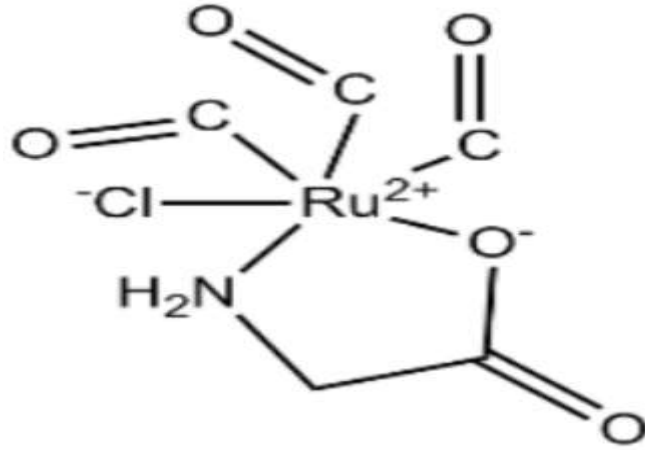
Hem oksijenaz-1 (HO-1) tarafından üretilen endojen bir parakrin faktör olan karbon monoksit (CO), güçlü anti-apoptotik ve anti-inflamatuar etkileriyle bilinmektedir ⁶⁶. CORM-3 molekülü; iskelet kası iskemi reperfüzyon hasarı, hemorajik şok, akut miyokard enfarktüsü, iskemik inme, renal transplantasyon sırasındaki hücre ölümleri, renal iskemiye sekonder akut renal yetmezliği gibi deney modellerinde test edilmiştir. Nitrik oksitin (NO) keşfi, nitrik oksitle karbon monoksitin (CO) yapısal benzerliklerinin tanımlanmasıyla, karbon monoksitin de vasküler tonus üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Ancak organizmalarda karbon monoksitin toksik etkileri belirsizlik yaratmaktadır. Karbon monoksit üzerine yapılan araştırmalarda, CO'nun farklı konsantrasyonlarda antioksidan, antiapoptotik, antiproliferatif ve nöroprotektif etkilerinin mevcut olduğu gösterilmiştir.

Endotelyal hücre metabolizma ürünü olarak meydana gelen CO düz kasta ve dolaşımdaki kan hücrelerine parakrin etkileri olmaktadır. Nitrik oksit gibi CO da, damar çeperlerindeki kas tonusunu üzerinde etkili olup, vasküler düz kas hücrelerinde de dilatasyona sebep olabilmektedir. Vasküler hasar sonrası damarların düz kas hücrelerinde, yıkılan endotelyal hücrelerin Hemoksijenaz-1 enzimini indüklemesi sonucu meydana gelen CO; vazodilatasyon, antiproliferasyon, antiinflamatuvar, antioksidan ve antitrombotik özellikleri vardır. Vasküler hasar sonucu, dolaşımdaki İnterlökin -1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri salan monosit ve makrofajlar, hasarlı bölgeye geçerek inflamatuvar sitokinlerde artışın gerçekleşmesini sağlar. Böylelikle Hemoksijenaz-1 enzimi aktive olur. Oluşan CO, cGMP miktarını arttırmasıyla nötrofillerin travmatik bölüme göçünü engelleyerek antiinflamatuvar etki sağlar. Oksidasyonu azaltarak, O₂ radikallerini zararsız hale getirip oksidatif hasarı engelleyen etkileri mevcuttur. Hemoksijenaz-1, Mitojen Aktive Protein Kinaz (MAPK) yolağını aktive ederek hücre apoptozisini de engellemesiyle; CO, antiapoptotik etki oluşturmaktadır. Hasar sonrası aktive olan HO-1 enziminin bir ürünü olan CO, hasarlı vasküler düz kas hücrelerinde vazokonstrüksiyonu engelleyerek ve antiproliferatif etki ile damar homeostazisini meydana getirir⁶⁷⁻⁷³. (Şekil 2).



Şekil 2.CORM tarafından salınan CO metabolizması ve HO yolu⁶⁷

Yapılan çalışmalarda CO'nun fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda aktif rol oynadığı gösterilmiştir. CO'nun daha kontrollü, güvenli dozlarda kullanımı amacıyla karbon monoksit releasing moleküller (CORM) geliştirilmiştir. CORM-1 $[Mn_2(CO)_{10}]$ ve CORM-2 $[Ru(CO)_3Cl_2]_2$ 'nin 400 mikromol/L varan dozlara kadar hücrede hayati fonksiyonları olumsuz etkilenmemiştir. CORM-3, vazodilatör etkisini cGMP salınımını etkileyip K^+ kanallarını uyararak gerçekleştirmektedir. CORM'lar sadece organik çözücülerde çözünebilen ve CO'yu salabilmesi için ışık gibi fiziksel ve kimyasal reaksiyonlara ihtiyaç duyan moleküllerdir. Karbon monoksiti kolaylıkla salabilen ve distile suda çözünebilen ilk üretilen molekül, trikarbonilkloro (glisinat) rutenyum(II) olan CORM-3'tür.(Şekil 3)



Şekil 3.CORM-3 kimyasal yapısı⁶⁷

CORM-3, CO salanımı yapabilen farmakolojik aktif bir moleküldür ve terapötik amaçlarla kullanılabilirler. CORM-3'ün bir canlıda CO bırakma süresi 1 ile 5 dakika arasında değişmektedir. CORM-3, oda sıcaklığında ve değişken şartlarda (oda sıcaklığında, suda, asidik ortamlarda vb.) 24 saatten uzun süre stable kalabilir. CORM-3 CO'yu hızla salması sayesinde nörotransmisyon, akut hipertansiyon, anjina ve iskemik inme hasarı gibi durumda kullanımına ilişkin birçok deneysel araştırma yapılmasına olanak sağlamıştır. CORM-3'ün toksisiteye neden olmadığı ve terapötik dozlarda canlı hücrelere olumsuz tepkimelere neden olmadığı gösterilmiştir⁶⁷⁻⁷³.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığının 04.08.2022 tarih ve 6 sayılı toplantı kararının onayı ile yürütülmüştür (Ek-1). Araştırma, deneysel çalışma olarak planlandı. Araştırmanın odyolojik değerlendirmeler kısmı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Ünitesinde ve deneysel kısmı Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Araştırmada ortalama 250-300 gr ağırlığında olan, 28 adet wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar araştırma süresince oda ısısında (21 ± 2 °C) ve 12' şer saatlik aydınlık / karanlık ortamında tutulup, standart pellet wistar rat yemi ve dinlendirilmiş musluk suyu ile ad-libitum beslendi, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

3.1.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmaya 28 ratın 56 kulağı dahil edildi. Tüm ratların işitme ölçümünden önce otoskop ile değerlendirilerek, otoskopik bakışı normal olanlar araştırmaya dahil edildi. Deney grupları aşağıdaki şekilde düzenlendi:

Grup 1 (i.p. serum fizyolojik, kontrol grubu, n=7): Kontrol grubuna bazal işitme ölçümünün ardından 1. günden 8. güne kadar intraperitoneal yol ile serum fizyolojik (SF) uygulandı. Birinci ve 8. günde işitme ölçümleri gerçekleştirildi. 9. günün sonunda histopatolojik değerlendirme amacıyla kurban edilmeleri planlandı.

Grup 2 (i.p. CORM-3 + Sisplatin grubu, n=7): CORM-3 + Sisplatin grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. Yarılanma ömrü göz önüne alınarak 1. günden 8. güne kadar intraperitoneal yolla 10 mg/kg CORM-3 uygulandı, Karaduman ve ark.⁷³'ün rat ekstremitesinde CORM-3'ün iskemi reperfüzyon hasarına etkisini değerlendirdiği çalışma baz alınarak, çalışmamızda 10 mg/kg/gün CORM-3 uygulandı, 5. gün 16 mg/kg tek doz olacak şekilde sisplatin uygulandı. 1. gün ve 8. gün işitme ölçümleri yapıldı. 9. günün sonunda histopatolojik değerlendirme amacıyla kurban edilmeleri planlandı.

Grup 3 (i.p. Sisplatin grubu, n=7): Sisplatin grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. 5.gün sisplatin 16 mg/kg tek doz olacak şekilde intraperitoneal enjeksiyon yapıldı. Birinci, beşinci ve sekizinci gün işitme ölçümleri değerlendirildi. 9. günün sonunda histopatolojik değerlendirme amacıyla sakrifiye edilmeleri planlandı.

Grup 4 (i.p. CORM-3 grubu n=7): CORM-3 grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. Yarılanma ömrü göz önüne alınarak 1. günden 8. güne kadar intraperitoneal yolla 10 mg/kg CORM-3 uygulandı. 1. gün ve 8. gün işitme ölçümleri yapıldı. 9. günün sonunda histopatolojik değerlendirme amacıyla sakrifiye edilmeleri planlandı.

Deneyssel modeller uygun şartlarda ve cerrahi setler ile gerçekleştirildi. Sakrifikasyondan sonra hayvanlar ve ortaya çıkan atıklar, tıbbi atık torbalarına alınarak Deney Hayvanları Laboratuvarı tarafından hastanenin imha bölümüne gönderilerek kurallara uygun koşullarda ve şekilde yok edildi.

3.2. Veri Toplama Araçları

Ratların işitme duyarlılıklarının 0.25 kHz ile 80 kHz arasında olması ve ototoksositeye bağlı işitme kaybı modellerinde işitsel fonksiyonların değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri testi ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon testi uygulandı. Ancak mevcut DPOAE test cihazı 1 kHz- 8 kHz frekans aralığında ölçüm yapabildiği için ve yüksek frekans ölçüm özelliğine sahip olmadığı için 8 kHz üzeri DPOAE değerlendirmesi gerçekleştirilemedi. Görülebilir bir dış kulak yolu olan, kulak zarında veya orta kulakta herhangi bir patoloji olmadığı otomikroskopi ile doğrulanan, DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi. İşitme fonksiyonları değerlendirilmeden önce ratlara 40 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar flk, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin hidroklorid (Basilazine %2, Bavet) intraperitoneal uygulanarak anestezi sağlandı. Otoskopik bakışı doğal ve DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlara İUBP testi uygulandı. İşitmesinin normal

olduğu odyolojik değerlendirme ile belirlenen ratların rastgele seçilmesiyle dört grup oluşturuldu.

3.3.Sisplatine Bağlı İşitme Kaybı Oluşturulması

Terzi ve ark.⁷⁴ çalışmasında sisplatine bağlı işitme kaybı grubu modelinde ratlara i.p. yolla tek doz 16 mg/kg sisplatin verilerek 72 saat sonra anlamlı odyolojik bozulma edildiğinden dolayı çalışmamızın CORM-3 + sisplatin grubunda ve sadece sisplatin grubunda çalışmanın 5. gününde sisplatin uygulaması yapıldı, her iki grubun da işitme ölçümleri 72 saat sonra yapıldı.

3.4.Anestezi Yöntemi

DPOAE ve İUBP testleri öncesinde ratlara anestezi uygulandı. Öncelikle 40 mg/kg %10'luk Ketamin (Ketalar flk, Pfizer) ve 10 mg/kg Ksilazin (Basilazin %2, Bavet İlaç San. ve Tic. A.Ş) intraperitoneal yolla verilerek anestezileri sağlandı (Şekil 17). Ratların 9. günün sonunda histopatolojik değerlendirme amacıyla sakrifiye edilmeleri planlandı.

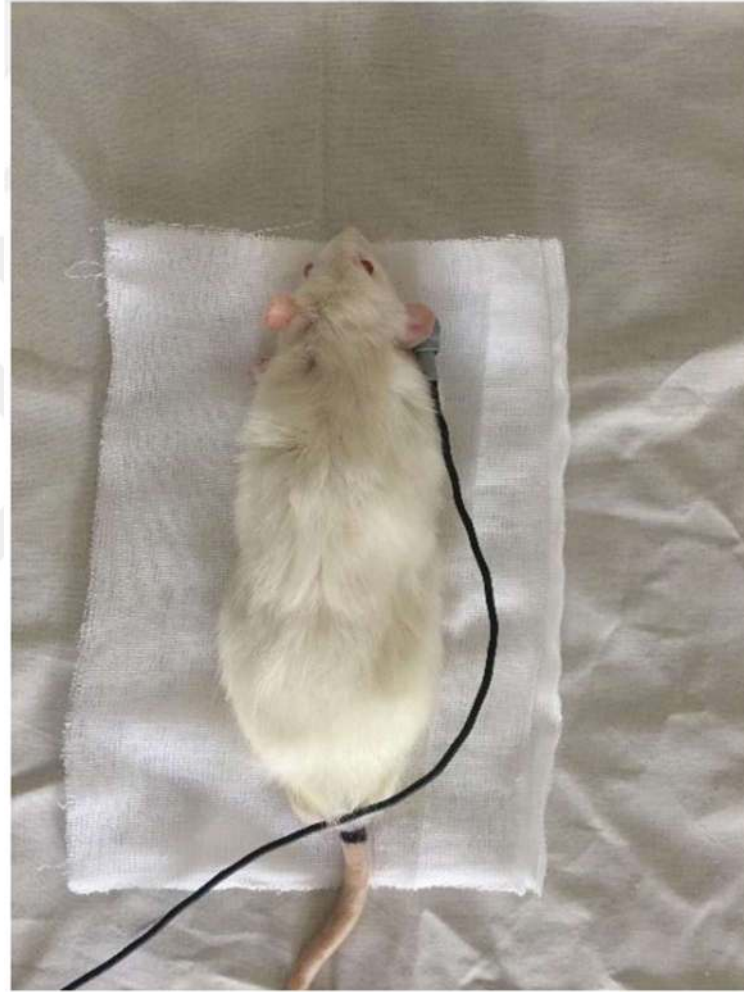
3.5. İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi (DPOAE) ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testi (İUBP); ratlara çalışmanın ilk günü bazal işitmelerini değerlendirmek için ve 8. gün işitsel bulguları değerlendirmek amacıyla uygulandı. DPOAE testinde 1 kHz sonrası tüm frekanslarda sinyal-gürültü oranı elde edilen ve İUBP testinde işitme eşikleri 25 dB SPL ve altında elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi. Odyolojik testler ketamin+xyzalin anestezisi altında ve 40 dB SPL (A)'nın altında ortam gürültüsü olan sessiz odada uygulandı.

3.5.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Testi

Ketamin anestezisi altında, ratlar yatar duruma alınıp probalar uygun konumda yerleştirilerek DPOAE testleri yapıldı. Ratların sağ ve sol kulakları “Otodynamics ILO-V6 Cochlear Emission Analyzer”, 5.61 (Otodynamics, London) versiyonu kullanılarak ayrı ayrı test edildi. DPOAE testi için f2 ve f1 frekansları arasındaki oran (f2/f1) 1.22 olacak şekilde ayarlandı. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1 = 65 dB SPL,

L2 = 55dB SPL) şiddetinde tutuldu. DPOAE, f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz'deki sinyal-gürültü oranları kaydedildi. DPOAE'lar, 2f1-f2 frekansında ölçüldü. Sinyal gürültü oranı her bir frekansta 3 dB SPL'den büyük olarak elde edilen değerler OAE var olarak değerlendirildi.

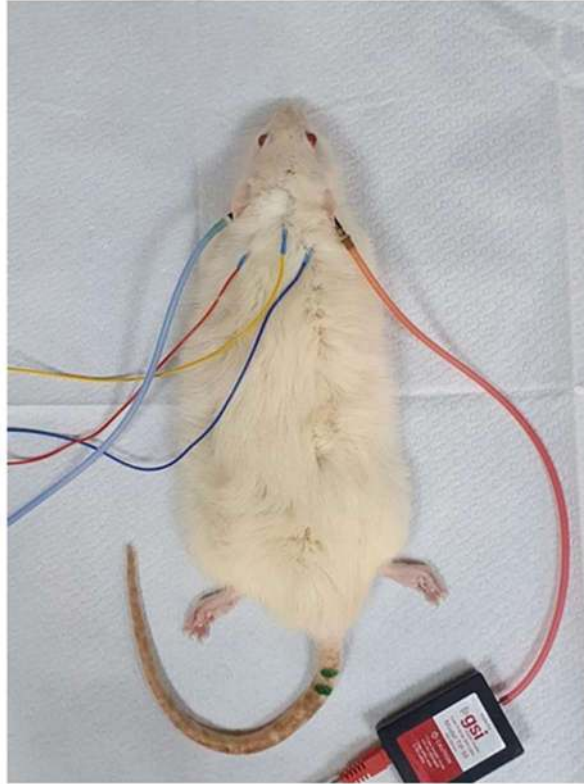


Şekil 4.Wistar ratlara uygulanan DPOAE testi

3.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (ABR) Testi

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri ölçümleri için GSI Audera cihazı versiyonu kullanıldı. Ölçüm sırasında ciltaltı iğne elektrodlar kullanıldı. Aktif elektrod vertekse, referans elektrod test kulağına, toprak elektrod ise karşı kulağın ventrolateraline

(kulak altı) yerleştirildi. Elektrod dirençleri 1 k Ω 'nin altında tutuldu. Elektrodlarla toplanan biyoelektriksel yanıtlar 31.3 mikrosaniye örnekleme hızında analogdan dijitalle çevrildi. ABR testinde 4, 6 ve 8 kHz'de, uyaranın frekans spektrumunu daha darlaştırmak amacıyla Blackman zarfiyla, iniş-çıkış süresi 1000 ms olan ton burst uyaran kullanıldı. II. dalganın elde edildiği en düşük şiddet düzeyi ratın o frekanstaki işitme eşiği olarak kabul edildi. 70 dB SPL şiddetinden başlanarak II. dalga elde edildiğinde eşik üstü seviyelerde uyaran şiddeti 10 dB, eşiğe yaklaştıkça uyaran şiddeti 5 dB azaltılırken, II. dalga elde edilmediğinde uyaran şiddeti 5 dB arttırılarak her iki kulağın işitme eşikleri belirlendi.



Şekil 5. Wistar ratlara uygulanan ABR testi

3.6. İlaç Uygulaması

Toz formdaki CORM-3, distile su içerisinde çözülerek günlük 10 mg/kg/gün dozunda olacak şekilde ayrı ayrı eppendorf tüplere konularak -20°C'de saklandı. Her gün tüplerdeki hazır dozlar oda sıcaklığına getirildikten sonra intraperitoneal yolla uygulandı

(Şekil 20). CORM-3+sisplatin grubuna ve sadece CORM-3 alan gruba 8 gün boyunca her gün aynı saatte, intraperitoneal yol ile verildi. CORM-3 için uygulanan uygun intraperitoneal doz daha önce yapılmış araştırmalarda belirtilen dozlar dikkate alınarak belirlendi.



Şekil 6.Wistar ratlara intraperitoneal CORM-3 uygulanması

3.7. İstatistiksel Analiz

Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. İki den fazla grubun sayısal ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Tek Yönlü Varyans Analizi, varsayımların sağlanmaması

durumunda ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu karşılaştırmalarda anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanması durumunda grup içi varyansların homojen olmağından göre Games-Howell testleri kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanmaması durumunda ise Bonferroni düzeltmesi yapılmış Mann Whitney U testi kullanıldı. Aynı bireyler üzerinde farklı zamanlarda yapılan sayısal ölçümlerinin zaman içindeki değişimini karşılaştırmada Tekrarlı ölçümler analizi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.



4. BULGULAR

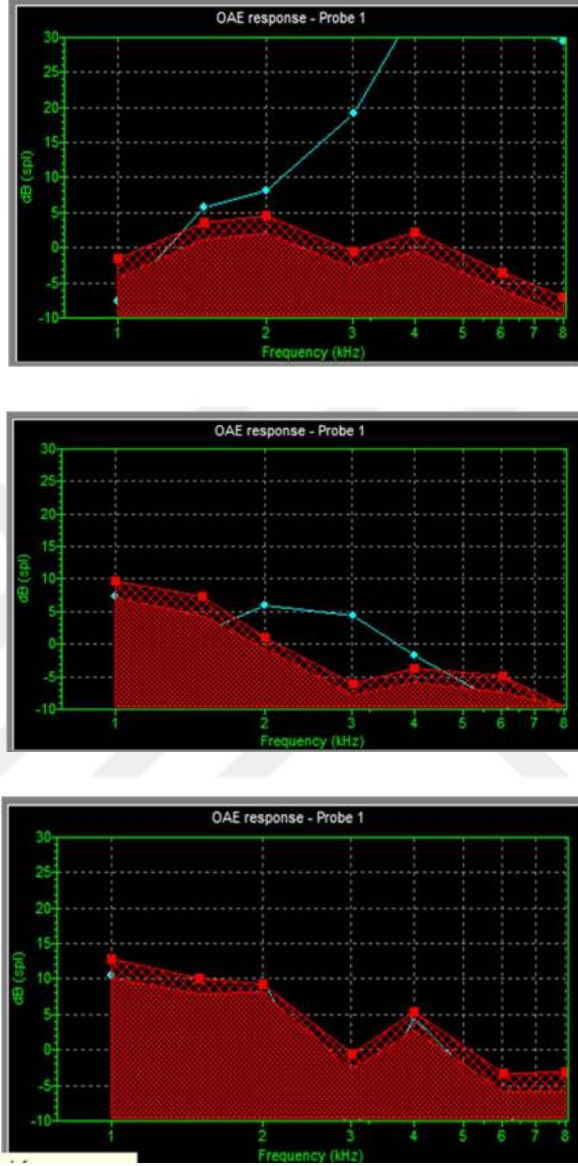
Araştırmamızda CORM-3'ün deneysel oluşturulmuş sisplatin ototoksitesisi üzerinde koruyucu rolü araştırıldı. Bu etkiyi değerlendirmek amacıyla her biri 8 wistar rattan oluşan 4 grup eşit şekilde rastgele ayrılarak DPOAE ve ABR testleri kullanıldı. CORM-3 ve CORM-3+sisplatin grubuna çalışmanın 1. gününden itibaren intraperiotenal CORM-3 verildi ve 1. günde ABR testi eşik ve DPOAE amplitüd değişiklikleri değerlendirildi. 5. günde CORM-3+sisplatin grubuna ve sisplatin grubuna intraperitonel sisplatin enjeksiyonları yapıldı. Sisplatin kaynaklı ototoksitesiteyi değerlendirmek için enjeksiyondan 72 saat sonra (*çalışmanın 8. gününde*) elektrofizyolojik testler tekrarlandı. Elde edilen bulgular analiz edildi.

4.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) yanıtları 1 kHz, 1,5 kHz, 2 kHz, 3 kHz, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz frekanslarında ve 65/55 dB SPL uyaran şiddetlerinde sinyal gürültü oranı (S/N) hesaplanarak amplitüdlere değerlendirildi.

Tüm grupların 1.gün DPOAE amplitüdlere ilişkin ortalama, $\pm$ standart sapma değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Tüm gruplarda 7 rat ($n=14$) olmak üzere toplam 56 kulak değerlendirildi. Tüm frekanslarda elde edilen 1. gün DPOAE sinyal/gürültü oranları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (hepsi için $p>05$).

Wistar ratlarda zamana göre oluşan sinyal /gürültü oranları Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 7. DPOAE sinyal/gürültü oranlarının zamana göre değişimi

Tablo 1. Tüm grupların 1. Gün DPOAE sinyal/gürültü oranları

1. Gün	Grup				P
	Kontrol ^a	Sisplatin ^b	Sisplatin + CORM-3 ^c	CORM-3 ^d	
1 kHz	-0,7±2	-0,7±1	-0,1±1	-0,5±1	$p<0,05^*$
1.5 kHz	4,2±3	0,9±2	5,1±1	1,5±2	$p<0,05^*$
2 kHz	9,9±5	4,3±5	11,1±1	8,6±3	$p<0,05^*$
3 kHz	16,4±6	11,2±5	13,7±2	17,5±5	$p<0,05^*$
4 kHz	26,3±9	22,7±6	23,5±3	28,2±7	$p<0,05^*$
6 kHz	32,9±5	29,5±4	36,2±2	35,7±2	$p<0,05^*$
8 kHz	38,9±5	37,9±3	42,2±3	40,7±2	$p<0,05^*$

Tüm grupların 8.gün DPOAE amplitüdlerine ilişkin ortalama, $\pm$ standart sapma değerleri Tablo 2’de verilmiştir. Tüm gruplarda 7 rat ($n=14$) olmak üzere toplam 56 kulak değerlendirildi. DPOAE bulgularında 1 kHz ve 1,5 kHz frekanslarında tüm deney gruplarında kabul edilebilir S/N oranı elde edilemediği için analiz edilememiştir.

Tüm deney gruplarında 8.gün oluşan S/N oranları istatistiksel olarak incelendi. Elde edilen bulgulara göre gruplar arası karşılaştırmada Bonferroni analizi uygulandığında 2,3,4,6,8 kHz frekanslarında; kontrol grupları ile çalışma grupları arasında anlamlı farklılık gözlemlendi($p<0.05$). Sisplatin ve CORM-3+sisplatin grupları arasında 4 kHz frekansı hariç diğer frekanslarda anlamlı farklılık gözlemlendi($p<0.05$).

Tablo 2. Tüm grupların 8. Gün DPOAE sinyal/gürültü oranları

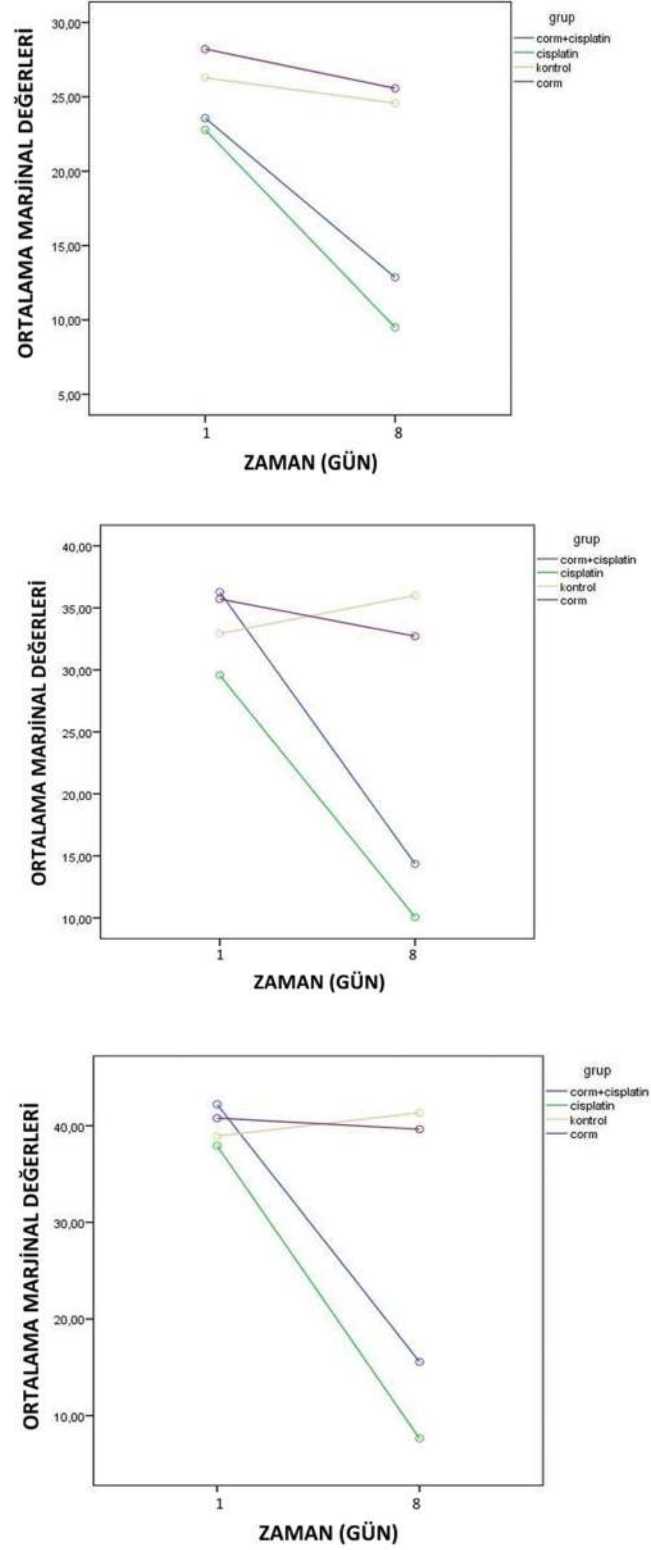
	Kontrol ^a	Sisplatin ^b	Sisplatin + CORM-3 ^c	CORM-3 ^d	P
8. Gün					
1 kHz	-0,2±1	1±8	0,1±1	-0,5±1	**
1.5 kHz	6±1	-0,3±1	2,1±3	1,1±2	**
2 kHz	12,3±1	2,3±3	6,2±1	7,5±3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c<0,05</i>
3 kHz	19,7±2	5,3±5	11,2±8	16,7±3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c<0,05</i>
4 kHz	24,5±2	9,5±8	12,8±8	25,5±2	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
6 kHz	36±3	10±9	14±11	32,7±3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c<0,05</i>
8 kHz	41,3±2	7,6±7	15,5±14	39,6±6	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c<0,05</i>

Tüm gruplarda DPOAE 2,3,4,6 ve 8 kHz frekanslarında S/N oranlarının 1.günden 8.güne olan değişimleri Games-Howell analizi ile incelendi. Sisplatin ve CORM-3+sisplatin grupları arasında tüm frekanslarda anlamlı farklılık gözlemlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 3. DPOAE 1.gün ve 8.gün sinyal/gürültü oranlarının zamana göre değişimleri

	Kontrol ^a	Sisplatin ^b	Sisplatin + CORM-3 ^c	CORM-3 ^d	P
1 kHz	-0,2±2,1	1,7±6,9	0,0±0,9	0,0±1,4	**
1.5 kHz	1,7±5,1	-1,2±3,0	-2,2±3,8	-0,4±2,3	**
2 kHz	2,4±6,1	2,0±5,2	-5,6±5,1	-1,1±5,1	<i>a,b>0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
3 kHz	3,2±6,9	-5,8±6,9	-7,4±7,5	-0,8±6,6	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
4 kHz	-1,7±10,1	-13,2±11,2	-10,7±7,3	-2,6±8,3	<i>a,b>0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
6 kHz	3,0±6,5	-19,5±12,0	-21,9±10,4	-3,0±4,4	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
8 kHz	2,4±6,2	-30,2±8,6	-26,6±13,3	-1,1±5,8	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>

Tüm gruplarda 8. gün DPOAE sinyal/gürültü oranlarının (sırasıyla 4,6,8 kHz) zamana göre değişimi Şekil 8’de verilmiştir.



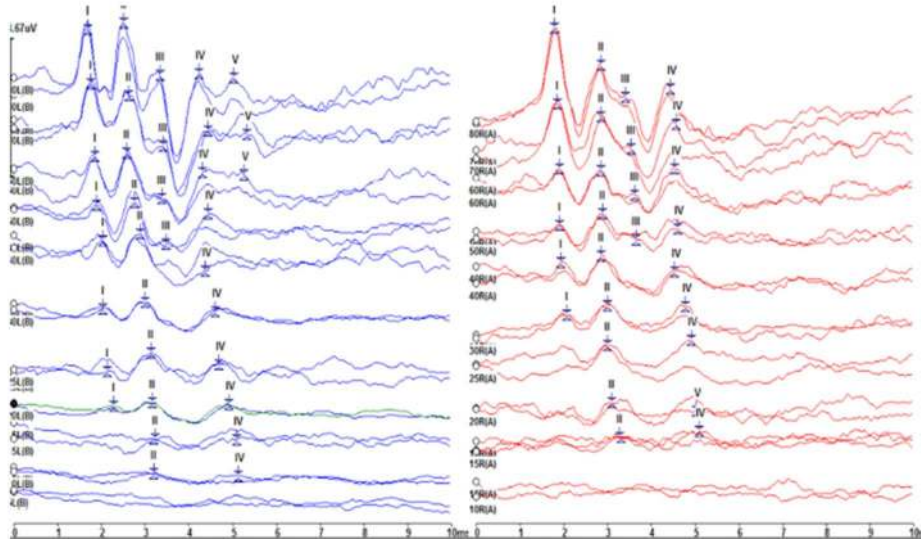
Şekil 8. DPOAE değerlerinin zamana göre değişimi

4.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (ABR) Bulguları

DPOAE ölçümü, 30-35 dB işitme kaybına kadar işitsel fonksiyon hakkında bilgi verirken; 35-100 dB aralığındaki işitme kayıplarında tüylü hücre, vestibülokoklear sinir ve iç kulak fonksiyonu hakkında bilgi vermediğinden DPOEA, sisplatin ototoksisitesine bağlı işitme kaybı modelinde yeterli değerlendirme sağlamamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda elektrofizyolojik test olan ABR uygulandı.

Dalga Morfolojisi

Ratlara yapılan bazal ABR ölçümünde elde edilen dalgalar, morfolojileri açısından değerlendirildi. Bazal ABR değerlendirmesinde I, II, III, IV ve V. dalgalar elde edildi. Tespit edilenler içerisinde II. dalga en belirgin dalga iken, III. dalga genellikle II. dalga ile birleşik durumda ve en düşük amplitüdlü dalga olarak gözlemlendi. V. dalga her zaman elde edilemedi. İlk ortaya çıkan, en belirgin ve en son kaybolan dalga olması nedeniyle eşğin belirlenmesinde II. dalga kullanıldı.



Şekil 9. Ratın 8 kHz'de frekansında elde edilen ABR dalga morfolojisi

Tüm grupların 1.gün ABR eşiklerine ilişkin ortalama, $\pm$ standart sapma değerleri Tablo 4'te verilmiştir. Tüm gruplarda 7 rat ($n=14$) olmak üzere toplam 56 kulak değerlendirildi. Tüm frekanslarda elde edilen 1. gün ABR ortalamaları kontrol grubu, sisplatin grubu, CORM-3 grubu ve CORM-3+sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p>0,05$).

Tablo 4. Tüm grupların 1. Gün ABR eşik ortalamalarının istatistiksel bulguları

1. Gün	Grup				P
	Kontrol ^a	Sisplatin ^b	Sisplatin + CORM-3 ^c	CORM-3 ^d	
4 kHz	16,1 $\pm$ 3	16,4 $\pm$ 2	17,1 $\pm$ 2	16,1 $\pm$ 3	$p<0,05^*$
6 kHz	15,7 $\pm$ 3	15,7 $\pm$ 3	16,4 $\pm$ 3	14,6 $\pm$ 3	$p<0,05^*$
8 kHz	12,8 $\pm$ 2	13,2 $\pm$ 3	13,5 $\pm$ 3	15,7 $\pm$ 2	$p<0,05^*$

Tüm grupların 8.gün ABR eşiklerine ilişkin ortalama, $\pm$ standart sapma değerleri Tablo 5'te verilmiştir. Tüm gruplarda 7 rat ($n=14$) olmak üzere toplam 56 kulak değerlendirildi. Tüm frekanslarda elde edilen 8. gün ABR ortalamaları kontrol grubu, sisplatin grubu, CORM-3 grubu ve CORM-3+sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p>0,05$).

Tüm deney gruplarında 8.gün oluşan ABR eşik ortalamaları istatistiksel olarak incelendi. Elde edilen bulgulara göre gruplar arası karşılaştırmada Bonferroni analizi uygulandığında 4,6,8 kHz frekanslarında; kontrol grupları ile çalışma grupları arasında anlamlı farklılık gözlemlendi($p<0,05$). Sisplatin ve CORM-3+sisplatin grupları arasında tüm frekanslarda anlamlı farklılık gözlemlenmedi($p>0,05$).

Tablo 5. Tüm grupların 8. Gün ABR eşik ortalamalarının istatistiksel bulguları

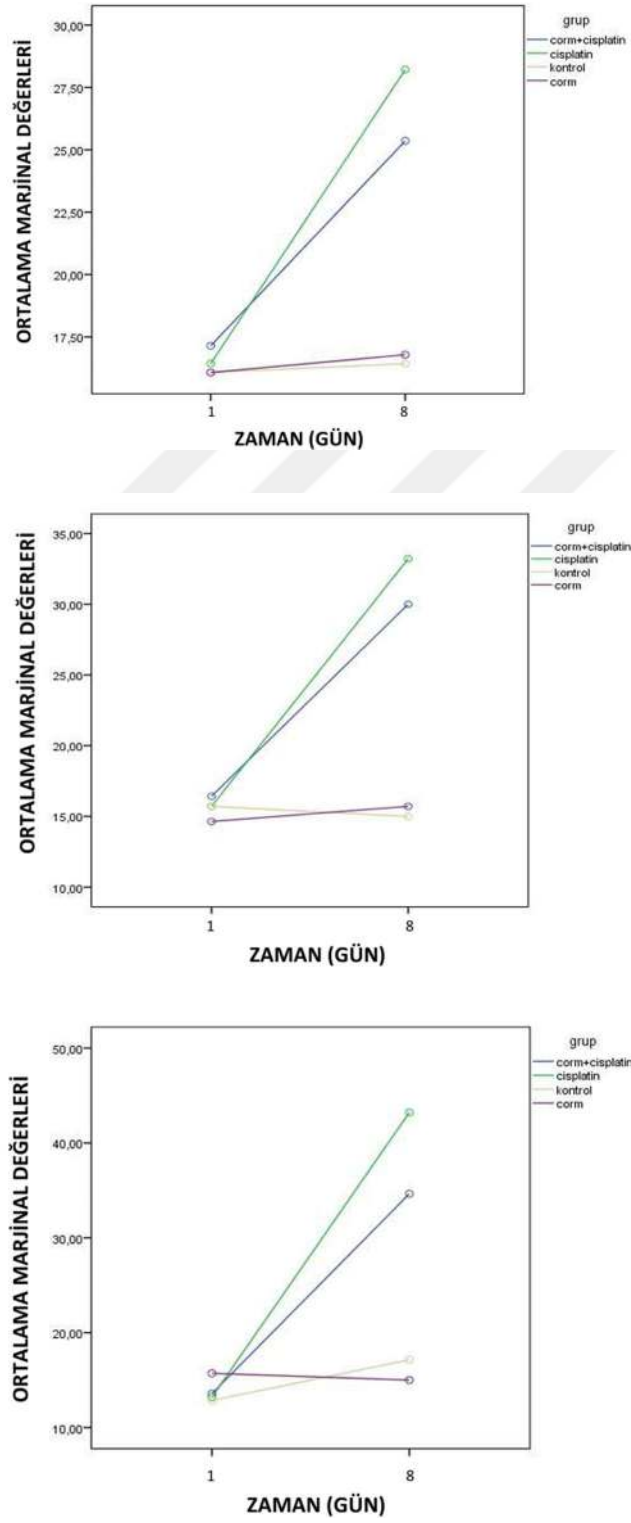
	Grup				<i>P</i>
	Kontrol ^a	Sisplatin ^b	Sisplatin + CORM-3 ^c	CORM-3 ^d	
8. Gün					
4 kHz	16,4±3	28,1±7	25,3±10	16,7±3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
6 kHz	15±3	33,2±10	30±13	15,7±3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
8 kHz	17,1±2	43,2±12	34,6±17	15±3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>

Tüm deney gruplarında 8.gün oluşan ABR eşik ortalamaları istatistiksel olarak incelendi. Elde edilen bulgulara göre gruplar arası karşılaştırmada Bonferroni analizi uygulandığında 4,6,8 kHz frekanslarında kontrol grupları ile çalışma grupları arasında anlamlı farklılık gözlemlendi($p<0.05$). Sisplatin ve CORM-3+sisplatin grupları arasında tüm frekanslarda anlamlı farklılık gözlemlenmedi($p>0.05$).

Tablo 6. ABR 1.gün ve 8.gün eşik ortalamalarının zamana göre değişimlerinin istatistiki bulguları

	Grup				<i>P</i>
	Kontrol ^a	Sisplatin ^b	Sisplatin + CORM-3 ^c	CORM-3 ^d	
4 kHz	0,35±4,5	11,7±8,2	8,2±11,3	0,7±6,1	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
6 kHz	0,7±5,1	17,5±10,1	13,5±14,8	1,07±5,2	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>
8 kHz	4,2±3,3	30,0±13,5	21,0±17,4	0,7±4,3	<i>a,b<0,05</i> <i>b,c>0,05</i>

Tüm gruplarda 8. gün ABR eşik ortalamalarının (sırayla 4,6,8 kHz) zamana göre değişimi Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. ABR eşik ortalamalarının zamana göre değişimi

5. TARTIŞMA

Platin bazlı kemoterapi ajanları, yüksek etkinlikleri, maliyetleri ve erişilebilirlikleri nedeniyle birçok onkolojik ve hematolojik protokol tedavisinin temel taşıdır. Ancak, ototoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite, hepatotoksisite, gastrointestinal toksisite ve retinal toksisite dahil olmak üzere ciddi yan etkiler nedeniyle klinik kullanımı sınırlıdır. Ototoksisite, sisplatin ve karboplatin gibi platin bazlı bileşiklerin iyi bilinen bir yan etkisidir ve bu ajanlar ile tedavi edilen yetişkinlerin %40-60'ında ve çocukların ise %60 kadarında geri döndürülemez, bilateral, yüksek frekansları tutan sensörinöral işitme kaybı olarak ortaya çıkar. DSÖ'ye göre, 2022 yılında dünya çapında 20 milyon yeni kanser vakası teşhis edilmiştir. Bu hastaların tahmini bir milyonunun sisplatin ve/veya karboplatine maruz kalması, yaklaşık yarım milyon işitme kaybı vakasıyla sonuçlanacaktır. 2050 yılında yeni kanser vakalarının görülme sıklığının yılda 35 milyon olması öngörüldüğünden, bu 2022'ye göre %77'lik bir artışı temsil etmektedir. Platin bazlı kemoterapiye bağlı yeni işitme kaybı vakalarının da paralel olarak artacağı tahmin edilmektedir. Onkolojik tedavilerin iyileştirilmesi ve kanser hastalarının artan sağkalım oranları, yaşam kalitelerini iyileştirmek için yeterli önlemlerin belirlenip uygulanmasını gerektirmektedir. Doz azaltma veya alternatif bir ilaç seçimi gibi tedavi değişiklikleri genellikle mümkün olmadığından ve işitme kaybının geri döndürülemez doğası göz önüne alındığında, bu ortamda önleyici önlemlere acil ihtiyaç vardır^{75,76,77}.

Ototoksisitenin türü ve etkilenme derecesi, cinsiyet, yaş, genetik yatkınlık, protein ekspresyonlarındaki değişiklikler, önceki nörotolojik patolojiler, kemoterapi uygulama aralığı, dozajı (150 ila 225 mg/m² doz aralığında hastaların %100 kadarının etkilendiği bulunmuştur), eşlik eden radyoterapi tedavileri ve hatta hastanın stres düzeyine bağlı olarak değişmektedir⁷⁸⁻⁸⁰. Mevcut bilgiler platin kaynaklı ototoksisitenin, serbest radikal oksijen türlerinin artmasına, endojen antioksidanların tükenmesine neden olup ve lipid peroksidasyonunu artırarak Korti organındaki dış saç hücresi stereosilyalarının yırtılmasına neden olduğu multifaktöriyel bir süreç olduğunu göstermiştir. Sisplatin kokleada süresiz olarak tutulduğundan ve endolenf kompozisyonunu koruyan stria vaskülaris bölgesindeki marjinal hücrelerde apoptotik yolu aktive ettiğinden, bu süreç akut veya ilerleyici bir başlangıca sahip olabilir⁸⁰⁻⁸².

Sisplatinin neden olduğu işitme kaybı kalıcıdır ve özellikle çocuk hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde bozar. Bu nedenle, sisplatin ototoksisitesini önlemek veya en aza indirmek için etkili tedaviler geliştirmek hayati önem taşımaktadır. Kapsamlı araştırmalar, sisplatin kaynaklı ototoksisitede yer alan mekanizmaların esas olarak oksidatif stres, DNA hasarı, inflamasyon, apoptoz ve ferroptozis olduğunu doğrulamıştır. Ayrıca, oksidatif strese neden olabilen ROT birikiminin, sisplatin kaynaklı işitme kaybının arkasındaki önemli mekanizma olduğu ve birçok patolojik süreçte yer aldığı düşünülmektedir⁸³⁻⁸⁵. Şu anda, sisplatin kaynaklı işitme kaybını tedavi etmek için birkaç etkili ilaç veya yerleşik terapötik yaklaşım mevcuttur. Bu, çeşitli antioksidanlar ve anti-inflamatuar ilaçlar da dahil olmak üzere koruyucu ajanların belirlenmesine yönelik gelişmelerin önünü açmıştır.

Karbon monoksit (CO), birçok fizyolojik role sahip, stabil, yayılabilir, gaz halinde bir araçtır. Çeşitli memeli hücrelerinde ve dokularında, hem oksijenazları (HO'lar) adı verilen bir enzim ailesi tarafından üretilir. CO'nun iyi karakterize edilmiş fizyolojik etkileri vardır. Bunlar; anti-inflamatuar, antiproliferatif, anti-apoptotik ve antikoagülan etkilerdir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda CO sitotoksik hale gelir. Son yıllarda, çok sayıda deneysel çalışmalarda endojen CO üretiminin artırılmasının ve ekzojen CO iletiminin faydalarını göstererek, kanser dahil olmak üzere birçok hastalıkta CO'nun ümit verici terapötik potansiyeli vurgulanmıştır. Gaz halindeki CO'nun saf formunun farklı deneysel ortamlarda faydalı etkiler gösterdiği bildirilmiş olsa da, CO uygulamasının solunumu, esas olarak doku özgüllüğü ve güvenlik sorunları nedeniyle zorlayıcı olmaya devam etmektedir. CO'yu kontrollü bir şekilde biyolojik sistemlere zamansal ve mekansal olarak salan bir dizi bileşik oluşturmak için büyük çaba sarf edilmiştir. Bunlar CO salgılayan moleküller (CORM'ler) olarak da bilinir ve klinik uygulamada gaz halindeki CO'nun solunmasına umut verici bir alternatif sunar⁸⁶⁻⁹⁰.

Karbon monoksit salan moleküllerin (CORM'ler) uygulanması, özellikle onkoloji alanında olmak üzere çeşitli patolojik durumlarda terapötik müdahaleler için umut verici bir stratejidir. CORM'lerin gaz halindeki CO ile karşılaştırıldığında, özellikle antiinflamatuar aktiviteleri ortaya çıkardığı deneysel olarak gösterilmiştir^{91,92}. Oksidatif stres ve kanser hücrelerindeki inflamasyon arasındaki bağlantı dikkate alındığında, bu bileşikler araştırmacıların potansiyel otoprotektif ajan adayları olarak ilgisini çekmiştir. Yakın zamanda yapılan bir incelemede,

meme, prostat , kolon, serviks , pankreas, cilt, akciğer adenokarsinomu , lenfoma ve akut miyeloid lösemi dahil olmak üzere farklı kanser türlerinde CORM'lerin terapötik potansiyellerine ilişkin kapsamlı bir genel bakış sunmuştur⁹². Ayrıca CORM'lerin doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisite, sisplatin kaynaklı nefrotoksisite ve radyasyon kaynaklı sekonder kanser gibi onkolojik tedavi yöntemlerinin neden olduğu diğer olumsuz yan etkileri önlediği de bildirilmiştir. CORM'lerin kanser tedavisinde de rol oynadığı öne sürülmüş olsa da, ilgili araştırmalar henüz erken bir aşamadadır ve tartışmalı sonuçlar vermektedir.

CORM'nin bir türevi olan CORM-3, su ve yağda hızla çözünebilmesi nedeniyle dokulara kolay geçiş sağlamaktadır. Bundan dolayı CORM-3 ile ilgili araştırma sayıları her geçen gün artmaktadır. Yaptığımız araştırmada da elde ettiğimiz odyolojik bulgular ışığında CORM-3 molekülü ile ilgili daha çok akademik çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Araştırmamızda antioksidan özelliği bilinen CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesinde koruyucu ve terapötik rolü olup olmadığını odyolojik olarak araştırmayı amaçladık. Yapılan literatür taramasında, sisplatin kaynaklı ototoksisiteye CORM-3'ün etkisine yönelik benzer bir odyolojik çalışma ile karşılaşmadık. Bu nedenle araştırmamız bu amaçtaki ilk çalışma olarak önem taşımaktadır. Sisplatin ototoksisitesinde CORM-3'ün etkisini göstermek amacıyla İUBP ve DPOAE testleri ile değerlendirmeler yapıldı. DPOAE bulgularına göre sisplatin+ CORM-3 grubunun sisplatin grubuna göre daha yüksek S/N oranları elde edildi. ABR bulgularına göre sisplatin+ CORM-3 grubunun sisplatin grubuna göre daha korunmuş eşikler elde edildi. Özellikle bu koruyuculuk 6 ve 8 kHz'de 4 kHz'ye göre daha belirgin ortaya çıktı. Çalışma sonuçları CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesinde koruyucu rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada, sisplatin enjekte edilen sıçanların ABR eşiklerinin yükseldiği ve amplitüdlerinin azaldığı gözlemlendi, bu da koklear tüy hücresi yıkımına işaret etmektedir. Kobaylarda sisplatin enjeksiyonunu takiben dış tüy hücrelerinde morfolojik değişiklikler bildirilmiştir ve bu değişiklikler ağırlıklı olarak kokleanın yüksek frekans bölgesini temsil eden bazal bölgesinde oluşmuştur ve sonuçlarımız klinik ve kobay çalışmalarında gösterilen yüksek frekans işitme kaybı sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir^{94,95}. Bu çalışmada sisplatin enjekte edilen sıçanlarda dalga amplitüdlerinin azalması strial hasarı düşündürmektedir. Bu bulgular, sisplatin uygulamasını takiben stria vasküleriste seçici olarak daha yüksek platin seviyeleri bildiren Schweitzer ve ark. sonuçlarıyla uyumludur⁹⁵. Dalga

amplitüdünün ve ABR'lerdeki değişikliklerin koklear hasarın birden fazla bölgede olabileceğini düşündürmektedir.

CORM-3 ile ilgili mevcut tüm çalışmalarda koruyucu ajan olarak intraperitoneal yol ile uygulanmıştır. Biz de literatüre dayanarak CORM-3'ü çalışmamızda intraperitoneal uygulama yolu tercih ettik. Çalışmamızda sisplatin ototoksitesinde CORM-3'ün koruyucu rolünü araştırmak amacıyla ajanımızı çalışmanın 1. Günden itibaren vermeye başladık. Sisplatin+CORM grubuna sisplatin uygulamadan önce 5 gün boyunca her gün CORM-3 intraperitoneal olarak verildi. Yapılan bazı çalışmalarda sisplatin uygulaması sonrası koruyucu ajan verilmiştir. Hipotezimiz sisplatin maruziyeti öncesi CORM-3 verilerek otoprotektif etkisinin varlığının araştırılmasıydı.

Sisplatin uygulaması sonrası ototoksiste meydana gelmesi hemen gerçekleşmemektedir. Campell ve ark. yaptığı ve D-metionin otoprotektif rolünü araştıran çalışmada elektrofizyolojik ölçümleri 72 saat sonra yapmışlardır⁹⁴. Anlamlı sonuçlar elde edilen bu çalışmada kullanılan metodu kendi çalışmamızda kullandık.

Bugüne kadar, hayvan modellerinde veya klinikte, sisplatin kaynaklı hasardan koklear yapıları ve işitmeyi tamamen koruyan hiçbir yöntem veya ajan tanımlanmamıştır. Bu gerçek, platin bazlı kemoterapi sırasında antineoplastik etkilerini ortadan kaldırmadan iç kulağın korunmasında ilerleme sağlamak için iyi kurulmuş hayvan modelleri ile daha fazla deneysel çalışmanın önemini vurgulamaktadır. Ancak, sisplatinin yüksek toksisitesi nedeniyle ilgili hayvan modelinin kurulması zor bir girişimdir. Kobaylarda sisplatin araştıran birçok çalışmada, deneyler sırasında hayvanların sağlık durumu, ölüm oranları ve hayvanlarda kabul edilebilir bir sağlık durumunu sürdürmek için kullanılan bakım protokolü bildirilmemiştir.

Histolojik ve fonksiyonel işitme sistemi hasarının kapsamı ve derecesi, uygulanan sisplatin dozu ile ilişkili görünmektedir. Bu ilişkiyi araştırmak için kobay modellerinde farklı metodolojiler çalışılmıştır. 4, 8, 12 ve 16 gün boyunca günde 1 mg/kg doz uygulayan Schweitzer, maksimal hücre kaybına (bu çalışmada % 78) neden olmak için 16 mg/kg kümülatif doz gerektiğini öne sürmüştür. Cardinaal ve ark. sekiz gün boyunca 2 mg/kg/gün dozunu takiben kokleanın bazal dönüşünün dış tüy hücrelerinde maksimal (yani % 65) kayıp bildirmiştir (bu da 16 mg/kg kümülatif dozu temsil etmektedir)⁹⁶.

Pollera ve ark. yaptıkları çalışmalarında, iki doz Sisplatin tedavisi alan hastaların %75'inde 4-8 kHz arasında 15 dB'den daha fazla işitme kaybı saptamışlardır. Çalışma

sonucuna göre, hastaların yarısında, ilk doz verildikten 48 saat sonra 15 dB veya daha fazla işitme kaybı tespit etmişlerdir⁹⁷. Sisplatin ototoksitesisi hücresel düzeyde 3. günde başlar ve 7-10 günde maksimum düzeyine ulaşır. Sisplatine bağlı ototoksitede işitme kaybı genellikle ilk sisplatin dozunu takiben 3-4 gün sonra, yüksek frekanslarda görülmektedir⁹⁸. Çoklu doz sisplatin uygulama modellerinde görülen ölüm oranlarının artması nedeniyle çalışmamızda işitme kaybı oluşturacak ve minimal hayvan ölümü ile sonuçlanmasını hedeflenerek tek doz 16 mg/kg sisplatin uygulanmıştır.

Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda işitme değerlendirmesi için genellikle OAE ve ABR kullanılmaktadır. Çalışmaların çoğunda tek bir test kullanılmıştır. OAE, dış tüylü hücrelerin aktivitesini yansıtan, objektif, hızlı, güvenilir noninvazif bir test yöntemidir. Koklear patolojiler pür tone odyometrisinde bulgu vermeden OAE ile saptanabilir. Özellikle yüksek frekanslarda DPOAE ile saf ses odyometresinde elde edilen seviyeler korele olmaktadır. Dış tüylü hücrelerin hasarına duyarlı olan DPOAE, özellikle yüksek frekanslarda meydana gelen kaybın erken teşhisinde önemli rol oynar. Sisplatin ototoksitesisi ile ilgili çalışmalarda en çok kullanılan test yöntemidir. DPOAE testinin yüksek frekanslardaki hassasiyeti sebebiyle biz de çalışmamızda DPOAE testini kullandık. Ayrıca sisplatinin bilinen nörotoksik etkilenim sebebiyle nöral işitme kaybını daha net ortaya çıkarabilmek için ABR de uyguladık. ABR beyinsapı düzeyinde işitme eşiği tayininde kullanılan bir testtir. Deney hayvanları ve insan ABR yanıtları arasında amplitüd, morfoloji ve latans parametrelerinde farklılıklar vardır. İnsan ABR dalga formunda en yüksek ve en düşük şiddetli tespit edilebilen dalga V. dalga iken ratlarda bu II. dalgadır. Ratlarda II. dalga koklear nükleuslardan köken alır^{99,100}. Bu bilgilere dayanarak biz de çalışmamızda ABR yorumlamasında II. dalgayı baz aldık. Sisplatin ototoksitesisinde meydana gelen hem kokleanın motor fonksiyonları hem nöral etkilenmeyi değerlendirmek için her iki testin birlikte kullanılması tercih edildi.

Lyo ve ark. CO'nun başka bir türevi olan trikarbonildiklororutenyum (II) dimeri CORM-2'nin sisplatin kaynaklı işitme bozukluğunu tersine çevirme ve iç kulakta sisplatin birikimini azaltma potansiyelini gösteren bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre bu iç kulakta aktif etkisi olan sisplatin azaltıcı bir ajanın ilk raporuydu. Önemli bir sonuç olarak; CORM-2 eş tedavisi yüksek kılcal sızıntı, perisitler ve perivasküler yerleşik makrofaj tipi melanositlerdeki hasar, inflamasyon, nekroptoz, plazma membran bozulması ve apoptotik hücre ölümü dahil olmak üzere sisplatin kaynaklı toksik hücresel

tepkilere karşı etkili bir şekilde koruma sağlandığı bildirilmiştir. Bu bulgular, CORM-2 eş tedavisinin, sisplatin kaynaklı işitme kaybına karşı umut verici bir tedavi stratejisi sağladığını düşündürmektedir¹⁰¹.

Yoon ve ark. CO-salgılayan molekül-3'ün (CORM-3) böbrek epitel hücrelerini sisplatin kaynaklı sitotoksiteden koruduğunu bildirmiştir¹⁰². İlginç bir şekilde, CO'nun çeşitli kanser hücre tipleri üzerindeki kemoterapötik ajanların anti-tümör etkilerini artırdığı da bildirilmiştir¹⁰³⁻¹⁰⁵. Bu sonucu desteklemek için, Kawahara ve ark. fotoaktif CORM'un, kanser hücrelerinin hayatta kalmasında rol oynayan bir enzim olan sistatinyonin β -sentazın aktivitesini inhibe ederek yumurtalık kanseri hücrelerinin sisplatine duyarlılığını artırdığı bildirilmiştir¹⁰⁶. Bu nedenle, ekzojen CO uygulamasının sisplatinin anti-tümör etkilerinin artırılması için umut verici bir strateji olduğu öngörülmektedir.

Sisplatin kaynaklı ototoksisitenin önlenmesine veya azaltılmasına yönelik çalışmalarda ilerlemeler, kokleadaki oksidatif stresi ve inflamasyonu baskılamayı amaçlayan birkaç ümit verici otoprotektif tedavinin keşfine yol açmıştır. Birçok tedavi klinik öncesi çalışmalarda ümit verici sonuçlar göstermiş olsa da şu ana kadar FDA tarafından onaylanan tek tedavi olan sodyum tiyosülfat olarak bilinmektedir. Araştırılan ajanların çok azı klinik çalışmalarda otoprotektif etkinlik göstermiştir. Şu anda klinik geliştirme aşamasında olan diğer farmakolojik müdahalelerin etkinliğini ve güvenliğini kapsamlı bir şekilde değerlendirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sisplatinle ilişkili sensörinöral işitme kaybıyla mücadele için olası bir tedavi stratejisi, aynı anda birincil mekanik yolları ek veya sinerjistik etkilerle hedef alan "kokteyl terapisi" adı verilen çok yönlü bir kombinasyon terapisini içerebilir. Bu yaklaşım, özellikle mitokondriyal oksidatif stresi önlemeye, koklear inflamasyonu azaltmaya ve mitokondriyal apoptozu engellemeye yönelik bileşikler kapsamaktadır. Sodyum tiyosülfatın son zamanlardaki başarısı, sisplatinin kemoterapötik etkinliğini korurken sensörinöral işitme kaybını etkili bir şekilde önlemek için tedavinin optimum başlangıcını ve süresini belirlemenin hayati ihtiyacını vurgulamaktadır^{107,108}.

Antioksidan sodyum tiyosülfat (Pedmark[®], Fennec Pharmaceutical Inc., Research Triangle Park, NC, ABD) yakın zamanda lokalize, metastatik olmayan solid tümörleri olan 1 aylık ve daha büyük pediatrik hastalarda sisplatin kaynaklı işitme kaybını önlemek için FDA onaylı ilk tedavi olmuştur^{107,108}. Bu onay, iki Faz 3 klinik çalışma sodyum

tiyosülfat (STS), sisplatin kemoterapisinden 6 saat sonra başlamak üzere 15 dakika boyunca intravenöz olarak uygulanmıştır¹⁰⁹⁻¹¹². STS, iki farklı mekanizma aracılığıyla etki ederek 1 ay ile 18 yaş arası çocuklarda işitme kaybı insidansını önemli ölçüde azaltmıştır. Pedmark[®], 1 aylık ve daha büyük kişiler üzerinde yaptığı 2 farklı çalışmada sisplatin kullanımının kişinin işitme duyusunu korumaya yardımcı olabileceğini gösterdi. Uluslararası Çocukluk Çağı Karaciğer Tümörü Strateji Grubu (SIOPEL), standart riskli hepatoblastoma (karaciğerdeki solid tümör) nedeniyle sisplatin bazlı kanser tedavisi gören 1 ay ile 18 yaş arasındaki toplam 114 hasta inceledi (STS+sisplatin grubunda 61 hasta, sadece sisplatin grubunda 53 hasta). Pedmark[®], sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında işitme kaybını %42 oranında azalttığı rapor edilmiştir. Çocuk Onkoloji Grubu (COG), sisplatin bazlı kanser tedavisi gören ve metastatik olmayan 1 ile 18 yaş arasındaki hastaları inceledi. Toplamda 77 hasta (STS+sisplatin grubunda 39 hasta, sisplatin grubunda 38 hasta) işitme kaybı açısından test edildi.. Pedmark[®] grubu sisplatin grubuna göre işitme kaybını %25 oranında azalttığı raporlanmıştır¹⁰⁹⁻¹¹⁵

İlk olarak, STS bir ROT tutucu olarak hareket eder ve sodyum sülfat kotransporter 2 yoluyla saç hücrelerine girdikten sonra endojen antioksidan seviyelerini artırır^{39,40}. İkinci olarak, sisplatin ile doğrudan etkileşime girerek ototoksik etkilerini nötralize eder. Sisplatin tedavisinden sonra STS'nin gecikmeli olarak uygulanması, sisplatinin STS tarafından nötralize edilmeden önce anti-kanser özelliklerini göstermesini sağlar¹¹³⁻¹¹⁵.

Sisplatin kaynaklı ototoksisiteyi oksidatif stres ve koklear inflamasyonu hedef alarak önlemek veya azaltmak için klinik öncesi (hayvan modelleri ve hücre hatları) ve klinik çalışmalarda çeşitli potansiyel tedaviler araştırılmıştır¹¹⁸⁻¹²⁰. Bu yaklaşımlar, sisplatinin ototoksik etkilerini hafifletmek ve işitme kaybını önlemek için tedavilerin geliştirilmesi açısından ümit vericidir. Ana koşul, sisplatin ototoksisitesini önleyen herhangi bir tedavinin antitümöral aktivitesine müdahale etmemesidir. Lokal intratimpanik otoprotektan uygulaması, sistemik uygulamaya kıyasla sisplatin kaynaklı işitme kaybını önlemek için giderek daha cazip bir öneri haline gelmiştir. Lokal uygulama kan beyin bariyerini atlar ve sistemik yan etkilere neden olmadan koklea içinde daha yüksek ilaç konsantrasyonları sağlar. İlaç uygulama sistemlerindeki diğer yenilikler arasında nanopartiküller, hidrojel ve iç kulağa uygulanan çevresel uyaran sistemleri yer almaktadır^{121,122}.

N-asetil sistein (NAC) hem doğrudan serbest radikal temizleyici hem de antioksidan glutatyonun sentezi için bir substrat olarak işlev görür. Hayvanlarda intratimpanik olarak uygulandığında sisplatin kaynaklı ototoksisiteyi önlemede etkili olduğu gösterilmiş olsa da, insan çalışmaları intratimpanik NAC uygulamasıyla tartışmalı sonuçlar vermiştir^{123,124}. Baş ve boyun kanseri hastalarında sisplatin kaynaklı işitme kaybını azaltmada intratimpanik NAC enjeksiyonunun optimum dozajı ve etkinliği, şu anda devam eden bir Faz 2 klinik çalışmada değerlendirilmektedir¹²⁵. Yakın tarihli bir çalışma, kan-beyin bariyeri geçirgenliğini geçici olarak artıran bir diüretik olan mannitolün, NAC ve STS'nin otoprotektif etkilerini artırabileceğini öne sürmüştür¹²⁶.

Sisplatin kaynaklı ototoksisiteyi önleyen ilk tedavi yönteminin FDA tarafından onaylanmasının heyecan verici duyurusu ve şu anda devam eden çok sayıda ümit verici klinik öncesi ve klinik çalışma göz önüne alındığında, gelecekte sisplatin kaynaklı işitme kaybını tedavi etmek için klinik olarak onaylanmış daha fazla otoprotektif tedavinin ortaya çıkacağı ve kanser hastalarında tedavi sonuçlarını iyileştireceği öngörülebilir.

Bu çalışma literatürde deneysel düzeyde CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesi üzerindeki koruyucu rolünü araştıran ilk çalışmadır. Sonuçlarımıza göre CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesi üzerinde koruyucu bir ajan olabileceği düşünülmüştür. Ancak literatüre bu konuda özgüllük veren çalışmamızda bazı sınırlamalar bulunmaktadır. Deneyin 9.gününde sakrifiye edilmesi planlanan gruplarda hayvanların beklenmedik toplu erken ölümleri nedeniyle histopatolojik inceleme gerçekleştirilememiştir. Çünkü histopatolojik inceleme için deney hayvanının sakrifikasyonunun ardından yaklaşık 20 dk içerisinde gerekli diseksiyonun yapılması ve örneğin uygun solüsyonun içerisinde fiks edilmesi gerekmektedir Bu ölümlerin sisplatin toksisitesine bağlı olabileceği düşünüldü. Aynı zamanda çalışmamızda 4, 6 ve 8 kHz ABR ölçümü yapılmıştır, ancak yüksek frekans ölçüm(12, 16, 20, 32 kHz) özelliğine sahip ABR cihazı ve ekipmanları kliniğimizde mevcut olmaması nedeniyle yüksek frekans ölçümler gerçekleştirilememiştir. Çalışmamızın önemi ve eksikliklerine dayanarak; uygun deney modelleri oluşturarak, yüksek frekans etkilenimini değerlendirecek ekipmanlar ile ve bu bulguları hücresel düzeyde değerlendirecek histopatolojik inceleme ile destekleyecek çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda ratlarda deneysel olarak oluşturulan sisplatin ototoksisitesinde antioksidan bir ajan olan CORM-3'ün (Carbon Monoxide Releasin Molecule-3) koruyucu rolünün olup olmadığı araştırılmıştır.

1. ABR ve DPOAE bulgularında kontrol grupları (Kontrol grubu ve CORM-3 grubu) ve çalışma grupları (Sisplatin grubu ve CORM-3+Sisplatin grubu) arasında anlamlı farklılık görülmüştür. Deneysel açıdan sisplatin ototoksisitenin başarıyla oluşturulduğu görülmüştür.
2. ABR 8.gün sonuçlarında 4,6,8 kHz seviyelerinde Sisplatin grubunun işitme eşik ortalamaları CORM-3+Sisplatin grubuna göre daha düşük olarak saptandı. Bu farklılık özellikle 6 ve 8 kHz'de daha belirgin ortaya çıktı. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.
3. DPOAE 8.gün sonuçlarında özellikle 2,3,6 ve 8 kHz frekanslarda CORM-3+Sisplatin verilen grubun Sinyal/Gürültü oranları sisplatin verilen gruba göre daha yüksek saptandı. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı saptandı.
4. DPOAE ve ABR bulgularında, tüm frekanslarda zamana göre değişim açısından gruplar arası istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı. Ancak gruplar arasında Sinyal/Gürültü ve eşik ortalamaları bakımından CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etkileri olabileceği düşünüldü.
5. Bu çalışma CORM-3'ün sisplatin ototoksisitesi üzerindeki koruyucu rolünü araştıran ilk çalışmadır. Bu çalışmada elde edilen verilere dayanarak CORM-3'ün ototoksisite tedavisi için alternatif olabilecek, umut vadeden bir antioksidan ajan olabileceği düşünüldü. Çalışmamızın önemi ve sınırlamaları göz önüne alınarak; sisplatin ototoksisitesinde CORM-3 etkinliğini araştırarak, daha ileri ekipmanlar ile yüksek frekansları da değerlendiren ve bu değişimleri histopatolojik düzeyde inceleyen yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7.KAYNAKÇA

1. **Dasari S, Tchounwou PB.** Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, **2014**; 740, 364-378.
2. **Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V.** Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing research*, **2007**; 226(1-2), 157-167.
3. **Callejo A, Sedó-Cabezón L, Domenech Juan I, Llorens J.** Cisplatin-induced ototoxicity: effects, mechanisms and protection strategies. *Toxics*, **2015**;3(3), 268-293.
4. **Breglio AM, Rusheen AE, Shide ED, Fernandez KA, Spielbauer KK, McLachlin KM, Cunningham LL.** Cisplatin is retained in the cochlea indefinitely following chemotherapy. *Nature communications*, **2017**; 8(1), 1654.
5. **Stanford SJ, Walters MJ, Hislop AA.** Heme oxygenase is expressed in human pulmonary artery smooth muscle where carbon monoxide has an anti-proliferative role. *Eur J Pharmacol.* **2003**;473(2):135- 141.
6. **Kanlıkama M.** İşitme fizyolojisi. In: *Otoloji ve Nörootoloji*. İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; **2013**. p. 59–84.
7. **Mills SJH, Khariwala S, Weber PC.** İşitmenin Anatomi ve Fizyolojisi. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD, editors. *Baş & Boyun Cerrahisi - Otolarengoloji*. 4th ed. Ankara: Lippincott Williams & Wilkins; **2011**. p. 1883–904.
8. **Moller AR.** Hearing: Anatomy, Physiology, and Disorders of the Auditory System, *Second Edition*. USA: Elsevier Inc.; **2006**. p. 3–300.
9. **Akyıldız AN.** Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. *Bilimsel Tıp Yayınevi*, Ankara; **1998**. p. 29–90.
10. **Gacek RR.** Ballenger's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. **2009**; 1:3.
11. **Çakır O.** Otolaringoloji, Baş ve Boyun Cerrahisi. *Nobel Tıp Kitabevi*; **1996**;p.5.
12. **Akyıldız AN.** Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. Ankara: *Bilimsel Tıp Yayınevi*; **2002**. p. 1–87.
13. **Keseroğlu K, Bayır Ö.** Orta Kulağın Endoskopik Anatomisi. *Türkiye Klinikleri Kulak Burun Boğaz-Özel Konular*. **2016**; 9(1): 4–11.
14. **Francis HW.** Anatomy of the Temporal Bone, External Ear, and Middle Ear. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. *Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 6th ed. Canada: Elsevier Inc; **2015**. p. 1821–30.
15. **Mills JH, Khariwala SS, Weber PC.** Anatomy and Physiology of Hearing. In: Bailey BJ, Johnson JT, editors. *Head & Neck Surgery - Otolaryngology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; **2006**. p. 1883–1900.
16. **Aas S, Tronstad TV.** Diffusion-Based Model for Noise-Induced Hearing Loss. Norwegian University of Science and Technology. Master of Science; **2007**. p. 1–81.

17. **Moller AR.** Hearing: Anatomy, Physiology, and Disorders of the Auditory System. 2nd ed. California, USA: *Elsevier*; **2006.** p. 1.
18. **Lee KJ.** Essential Otorhinolaryngology, *Head and Neck Surgery*. 10th ed. McGraw Hill Companies; **2012.** p. 24–65.
19. **Santi PA, Mancini P.** Koklear Anatomi ve Santral İşitme Yolları (Çeviri: F. Karayel). In: Koç C, editor. *Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*, Cilt 4. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; **1998.** p. 3373–3397.
20. **Esmer N, Akiner MN, Karasalihoğlu AR, Saatçi MR.** *Klinik Odyoloji*. Özişik Matbaacılık; **1995.** p. 17–43.
21. **Stach BA.** Clinical Audiology: An Introduction. 2nd ed. New York, USA: *Delmar Cengage Learning*; **2010.** p. 62–63.
22. **Svere A, Vedul T.** Diffusion-Based Model for Noise-Induced Hearing Loss. Norwegian University of Science and Technology, Department of Electronics and Telecommunications. Master of Science in Electronics; **2007.**
23. **Lim DJ.** Cochlear Anatomy Related to Cochlear Micromechanics: *A Review*. *J Acoust Soc Am*. **1980**; 67(5): 1686–95.
24. **Madanoğlu NA.** Kohleanın İşitme Mekanizmasındaki Yeri. *Otoskop*. **2003**; 2: 78–82.
25. **Corey DP.** Transduction and Adaptation by Vertebrate Hair Cells. In: Berlin CI, Bobbin RP, editors. *Hair Cells, Micromechanics and Hearing*. First Edition. Canada: Thomson Learning Inc.; **2001.** p. 1–26
26. **Cho Y.** Molecular Mechanisms of the Cochlear Response to Noise and Deafness. Doctor of Philosophy, *University of Michigan*; **2001.** p. 1–159.
27. **Bulut E.** Corti organı frekans seçiciliğinde dış tüylü hücrelerin rolü. Edirne, Doktora tezi, *Trakya Üniversitesi*; **2009.**
28. **Kelley MW, Wu DK.** Development neurobiology of the ear: Current and future directions. In: Kelley MW, Wu DK, Popper AN, Fay RR, editors. *Development of the Inner Ear*, First Edition, United States of America: Springer Science+Business Media Inc; **2005.** p. 1–9.
29. **Lim DJ.** Cochlear anatomy related to cochlear micromechanics: *A review*. *J Acoust Soc Am*. **1980**; 67(5): 1686–95.
30. **Seikel JA, King DW, Drumright DG.** Anatomy of Hearing. In: *Anatomy & Physiology for Speech, Language, and Hearing*, 4th ed. Bellegarde M, editor; **2010.** p. 447–478.
31. **Gelfand SA.** Hearing, an Introduction to Psychological and Physiological Acoustics, 4th ed. *Marcel Dekker*; **2004.** p. 71–75.
32. **Lim DJ.** Cochlear Anatomy Related to Cochlear Micromechanics: *A Review*. *J Acoust Soc Am*. **1980**; 67(5): 1686–95.
33. **Muller M.** Frequency representation in the rat cochlea. *Hear Res*. **1991**; 51: 247–54.
34. **Kulesza RJ, Lukose R, Stevens LV.** Malformation of the human superior olive in autistic spectrum disorders. *Brain Research*. **2011**; 1367: 360–371.
35. **Moore JK.** The human auditory brain stem: a comparative view. *Hearing Research*. **1987**; 29(1): 1–32.

36. **Skottun BC, Shackleton TM, Arnott RH, Palmer AR.** The ability of inferior colliculus neurons to signal differences in interaural delay. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2001**; 98(24): 14050–14054.
37. **Özdemir S. İ.** Kulak, İşitme Siniri ve Santral Koklear Yolların Fizyolojisi. In: Önerci M, Güneri EA, editors. *Nörootoloji*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi; **2016**. p. 26–34.
38. **von Békésy GE.** Travelling waves as frequency analysers in the cochlea. *Nature*. **1970**; 225(5239): 1207–1209.
39. **Emre B, Salgırlı Y.** Deneklerin Fizyolojik Özellikleri ve Deneysel Çalışmalarda Model Oluşturmadaki Zorlukları. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. **2000**.
40. **Poyraz Ö.** Laboratuvar Hayvanları Bilimi. Ankara: *Kardelen Ofset*; **2000**.
41. **Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA.** The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comparative Medicine*. **2008**; 58: 424–30.
42. **Albuquerque AF, Rossato M, Aparecido de Oliveira JA, Hyppolito MA.** Understanding the anatomy of ears from guinea pig and rats. *Bfraz J Otorhinolaryngol*. **2009**; 75(1): 43–9.
43. **Zimmer WM, Rosin DF, Saunders JC.** Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *The Anatomical Record*. **1994**; 239(4): 475–484.
44. **Kayabaşoğlu G.** Cep telefonlarından kaynaklanan elektromanyetik alanın işitme üzerindeki etkilerinin sıçanlarda incelenmesi. İstanbul: Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıpta Uzmanlık Tezi; **2009**. p. 1–73.
45. **Arıcı M.** Sıçanlarda akustik travmaya bağlı işitme kaybı modelinde likopenin etkisinin araştırılması. İzmir: *Dokuz Eylül Üniversitesi*, Tıpta Uzmanlık Tezi; **2015**. p. 4–62.
46. **Göksu N.** Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **1992**; 101: 699–704.
47. **Dasari S, Tchounwou PB.** Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol*. **2014**; 740: 364–378.
48. **Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjee D, Ramkumar V.** Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hear. Res*. **2007**; 226: 157–167.
49. **Callejo A, Sedó-Cabezón L, Juan ID, Llorens J.** Cisplatin-induced ototoxicity: Effects, mechanisms and protection strategies. *Toxics*. **2015**; 3: 268–293.
50. **Breglio AM, Rusheen AE, Shide ED, Fernandez KA, Spielbauer KK, McLachlin KM, Hall MD, Amable L, Cunningham LL.** Cisplatin is retained in the cochlea indefinitely following chemotherapy. *Nat. Commun*. **2017**; 8: 1654.
51. **Prayuenyong P, Taylor JA, Pearson SE, Gomez R, Patel PM, Hall DA, Kasbekar AV, Baguley DM.** Vestibulotoxicity associated with platinum-based chemotherapy in survivors of cancer: A scoping review. *Front. Oncol*. **2018**; 8: 36.
52. **Prayuenyong P, Baguley DM, Kros CJ, Steyger PS.** Preferential cochleotoxicity of cisplatin. *Front. Neurosci*. **2021**; 15: 695268.
53. **Yu D, Gu J, Chen Y, Kang W, Wang X, Wu H.** Current strategies to combat cisplatin-induced ototoxicity. *Front. Pharmacol*. **2020**; 11: 999.

54. **Frisina RD, Wheeler HE, Fossa SD, Kerns SL, Fung C, Sesso HD, Monahan PO, Feldman DR, Hamilton R, Vaughn DJ, et al.** Comprehensive audiometric analysis of hearing impairment and tinnitus after cisplatin-based chemotherapy in survivors of adult-onset cancer. *J. Clin. Oncol.* **2016**; 34: 2712–2720.
55. **Knight KR, Kraemer DF, Neuwelt EA.** Ototoxicity in children receiving platinum chemotherapy: Underestimating a commonly occurring toxicity that may influence academic and social development. *J. Clin. Oncol.* **2005**; 23: 8588–8596.
56. **Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D.** Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol.* **1997**; 18(5): 559–571.
57. **Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjee D, Ramkumar V.** Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hear. Res.* **2007**; 226(2): 157–167.
58. **Laurell G, Jungnelius U.** High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *Laryngoscope.* **1990**; 100(7): 724–734.
59. **Hitchcock YJ, Tward JD, Szabo A, Bentz BG, Shrieve DC.** Relative contributions of radiation and cisplatin-based chemotherapy to sensorineural hearing loss in head-and-neck cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* **2009**; 73(3): 779–788.
60. **Fetoni AR, Paciello F, Mezzogori D, et al.** Molecular targets for anticancer redox chemotherapy and cisplatin-induced ototoxicity: the role of curcumin on pSTAT3 and Nrf-2 signalling. *Br J Cancer.* **2015**; 113(10): 1434–1444.
61. **Paken J, Govender CD, Pillay M, et al.** A review of Cisplatin-associated ototoxicity. *Semin Hear.* **2019**; 40(2): 108–121
62. **Prasad KN, Bondy C.** Increased oxidative stress, inflammation, and glutamate: potential preventive and therapeutic targets for hearing disorders. *Mech Ageing Dev.* **2020**; 185: 111191.
63. **Le Prell CG.** Otoprotectants: from research to clinical application. *Semin Hear.* **2019**; 40(2): 162–176.
64. **Yu D, Gu J, Chen Y, et al.** Current strategies to combat Cisplatin-induced ototoxicity. *Front Pharmacol.* **2020**; 11: 999.
65. **Wang J, Lloyd Faulconbridge RV, Fetoni A, et al.** Local application of sodium thiosulfate prevents cisplatin-induced hearing loss in the guinea pig. *Neuropharmacology.* **2003**; 45(3): 380–393.
66. **Zhang Z, Zhang Q, Li F, Xin Y, Duan Z.** Contributions of HO-1-dependent MAPK to regulating intestinal barrier disruption. *Biomolecules & Therapeutics.* **2020**; 29(2): 175.
67. **Karaavcı NÇ.** Deneysel subaraknoid kanama modelinde karbonmonoksit releasing molekül-3'ün serebral vazospazm üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzm Tezi. **2017**; Erzurum. p. 82.
68. **Dulak J, Józkowicz A, Foresti R, et al.** Heme Oxygenase Activity Modulates Vascular Endothelial Growth Factor Synthesis in Vascular Smooth Muscle Cells. *Antioxidants & Redox Signal.* **2002**; 4(2): 229–240.

69. **Stanford SJ, Walters MJ, Hislop AA, et al.** Heme oxygenase is expressed in human pulmonary artery smooth muscle where carbon monoxide has an anti-proliferative role. *Eur J Pharmacol.* **2003**; 473(2): 135–141.
70. **Nakao A, Kimizuka K, Stolz DB, et al.** Protective effect of carbon monoxide inhalation for cold-preserved small intestinal grafts. *Surgery.* **2003**; 134(2): 285–292.
71. **Yabluchanskiy A, Sawle P, Homer-Vanniasinkam S, Green CJ, Foresti R, Motterlini R.** CORM-3, a carbon monoxide-releasing molecule, alters the inflammatory response and reduces brain damage in a rat model of hemorrhagic stroke. *Crit Care Med.* **2012**; 40(2).
72. **Clark JE, Naughton P, Shurey S, et al.** Cardioprotective Actions by a Water-Soluble Carbon Monoxide–Releasing Molecule. *Circ Res.* **2003**; 93(2): e2–e8.
73. **Karaduman H.** Comparison of the effects of the CORM-3 molecule with Ginkgo biloba, N-Acetylcysteine and Pentoxifylline in a rat lower extremity acute ischemia-reperfusion model. *Published online* **2020**.
74. **Terzi S, Özgür A, Çeliker M, Mercantepe T, Yilmaz A, Tümkaya L, Dursun E.** The protective effect of astaxanthin on cisplatin-induced ototoxicity. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* **2021**; 30(3).
75. **Dillard LK, Lopez-Perez L, Martinez RX, Fullerton AM, Chadha S, McMahon CM.** Global burden of ototoxic hearing loss associated with platinum-based cancer treatment: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol.* **2022**; 79(March): 102203.
76. **Frisina RD, Wheeler HE, Fossa SD, Kerns SL, Fung C, Sesso HD, et al.** Comprehensive audiometric analysis of hearing impairment and tinnitus after cisplatin-based chemotherapy in survivors of adult-onset cancer. *J Clin Oncol.* **2016**; 34(23): 2712–20.
77. **World Health Organization.** Global cancer burden growing amidst mounting need for services. Available online: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services> (Accessed November 20, 2024).
78. **Kirkim G, Olgun Y, Aktas S, Kiray M, Kolatan E, Altun Z, et al.** Is there a gender-related susceptibility for cisplatin ototoxicity? *Eur Arch Otorhinolaryngol.* **2015**; 272(10): 2755–63.
79. **El Charif O, Mapes B, Trendowski MR, Wheeler HE, Wing C, Dinh PC, et al.** Clinical and genome-wide analysis of cisplatin-induced tinnitus implicates novel ototoxic mechanisms. *Clin Cancer Res.* **2019**; 25: 4104–16.
80. **Chan SL, Ng LS, Goh X, Siow CH, Goh HL, Goh BC, et al.** Time course and clinical characterization of cisplatin-induced ototoxicity after treatment for nasopharyngeal carcinoma in a southeast Asian population. *Head Neck.* **2018**; 40(7): 1425–33.
81. **Gentilin E, Simoni E, Candito M, Cazzador D, Astolfi L.** Cisplatin-induced ototoxicity: updates on molecular targets. *Trends Mol Med.* **2019**; 25(12): 1123–32.
82. **Breglio AM, Rusheen AE, Shide ED, Fernandez KA, Spielbauer KK, McLachlin KM, et al.** Cisplatin is retained in the cochlea indefinitely following chemotherapy. *Nat Commun.* **2017**; 8(1): 1654.
83. **Sheth S, Mukherjea D, Rybak LP, Ramkumar V.** Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and otoprotection. *Front. Cell. Neurosci.* **2017**; 11: 338.
84. **Xu B, Li J, Chen X, Kou M.** Puerarin attenuates cisplatin-induced apoptosis of hair cells through the mitochondrial apoptotic pathway. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* **2022**; 1869(4): 11920.

85. **Rybak LP, Mukherjea D, Ramkumar V.** Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Semin. Hear.* **2019**; 40(2): 197-204.
86. **Zuckerbraun BS, et al.** Carbon monoxide signals via inhibition of cytochrome c oxidase and generation of mitochondrial reactive oxygen species. *FASEB J.* **2007**; 21: 1099–1106.
87. **Chin BY, et al.** Hypoxia-inducible factor 1 α stabilization by carbon monoxide results in cytoprotective preconditioning. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2007**; 104: 5109–5114.
88. **Motterlini R, Otterbein LE.** The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat Rev Drug Discov.* **2010**; 9(9): 728-743.
89. **Goebel U, Wollborn J.** Carbon monoxide in intensive care medicine—time to start the therapeutic application?! *Intensive Care Med Exp.* **2020**; 8(1): 2.
90. **Motterlini R, Clark JE, Foresti R, Sarathchandra P, Mann BE, Green CJ.** Carbon monoxide-releasing molecules: characterization of biochemical and vascular activities. *Circulation Res.* **2002**; 90(2): e17–e24.
91. **Motterlini R, Mann BE, Foresti R.** Therapeutic applications of carbon monoxide-releasing molecules. *Expert Opin Investig Drugs.* **2005**; 14(11): 1305-1318.
92. **Motterlini R, Haas B, Foresti R.** Emerging concepts on the anti-inflammatory actions of carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs). *Med Gas Res.* **2012**; 2: 1-12.
93. **Kourti M, Jiang WG, Cai J.** Aspects of carbon monoxide in form of CO-releasing molecules used in cancer treatment: more light on the way. *Oxid Med Cell Longev.* **2017**; 2017: 9326454.
94. **Campbell KC, Hughes LP, Meech RP, Rybak LP.** D-methionine provides excellent protection from cisplatin ototoxicity in the rat. *Hear Res.* **1996**; 102: 90-8.
95. **Schweitzer VG.** Cisplatin-induced ototoxicity: the effect of pigmentation and inhibitory agents. *Laryngoscope.* **1993**; 103: 1–52.
96. **Cardinaal RM, de Groot JC, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF.** Histological effects of co-administration of an ACTH(4-9) analog ORG 2766 on cisplatin ototoxicity in the albino guinea pig. *Hear Res.* **2000**; 144: 157–67.
97. **Pollera CF, Marolla P, Nardi M, Ameglio F, Cozzo L, Bevere F.** Very high-dose cisplatin-induced ototoxicity: a preliminary report on early and long-term effects. *Cancer Chemother Pharmacol.* **1988**; 21(1): 61–4.
98. **Cakil B, Suren Basar F, Atmaca S, Kurnaz Cengel S, Tekat A, Tanyeri Y.** The protective effect of Ginkgo biloba extract against experimental cisplatin ototoxicity: Animal research using distortion product otoacoustic emissions. *J Laryngol Otol.* **2012**; 126(11): 1097–101.
99. **Arnold DJ, Lonsbury-Martin BL, Martin GK.** High-frequency hearing influences lower-frequency distortion-product otoacoustic emissions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* **1999**; 125(2): 215-22.
100. **Chen TJ, Chen SS.** Generator study of brainstem auditory evoked potentials by a radiofrequency lesion method in rats. *Exp Brain Res.* **1991**; 85(3): 537-42.
101. **Lyu AR, Kim SJ, Park MJ, Park YH.** CORM 2 reduces cisplatin accumulation in the mouse inner ear and protects against cisplatin-induced ototoxicity. *J Adv Res.* **2024**; 64: 183-194

102. **Yoon Y, Lee KS, Lee YJ, Lee HH, Han WK.** Renoprotective effects of carbon monoxide-releasing molecule 3 in ischemia-reperfusion injury and cisplatin-induced toxicity. *Transplant Proc.* **2017**; 49(5): 1175-1182.
103. **Tayem Y, Johnson TR, Mann BE, Green CJ, Motterlini R.** Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by a carbon monoxide-releasing molecule. *Am J Physiol Renal Physiol.* **2006**; 290(4): F789-F794.
104. **Kawahara B, Ramadoss S, Chaudhuri G, Janzen C, Sen S, Mascharak PK.** Carbon monoxide sensitizes cisplatin-resistant ovarian cancer cell lines toward cisplatin via attenuation of levels of glutathione and nuclear metallothionein. *J Inorg Biochem.* **2019**; 191: 29-39.
105. **Cui Q, Liang XL, Wang JQ, Zhang JY, Chen ZS.** Therapeutic implication of carbon monoxide in drug-resistant cancers. *Biochem Pharmacol.* **2022**; 201: 115061.
106. **Kawahara B, Mascharak PK.** Inhibition of Cytochrome P450 by Carbon Monoxide: Relevance to Drug Resistance in Human Breast Cancer Therapy. *Med Res Arch.* **2023**; 11(4).
107. **FDA.** FDA Approves Sodium Thiosulfate to Reduce the Risk of Ototoxicity Associated with Cisplatin in Pediatric Patients with Localized, Non-Metastatic Solid Tumors. Erişim: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-sodium-thiosulfate-reduce-risk-ototoxicity-associated-cisplatin-pediatric-patients> (Erişim tarihi 17 Aralık, 2024).
108. **Dhillon S.** Sodium thiosulfate: Pediatric first approval. *Pediatr Drugs.* **2023**; 25: 239–244.
109. **Freyer DR, Chen L, Krailo MD, Knight K, Villaluna D, Bliss B, et al.** Effects of sodium thiosulfate versus observation on development of cisplatin-induced hearing loss in children with cancer (ACCL0431): A multicenter, randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* **2017**; 18: 63–74.
110. **Brock PR, Maibach R, Childs M, Rajput K, Roebuck D, Sullivan MJ, et al.** Sodium thiosulfate for protection from cisplatin-induced hearing loss. *N Engl J Med.* **2018**; 378: 2376–2385.
111. **Freyer DR.** Sodium Thiosulfate in Preventing Hearing Loss in Young Patients Receiving Cisplatin for Newly Diagnosed Germ Cell Tumor, Hepatoblastoma, Medulloblastoma, Neuroblastoma, Osteosarcoma, or Other Malignancy (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00716976). Erişim: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00716976> (Erişim tarihi 17 Aralık, 2024).
112. **Ronghe MD.** Cisplatin with or without Sodium Thiosulfate in Treating Young Patients with Stage I, II, or III Childhood Liver Cancer (SIOPEL6) (ClinicalTrial.gov Identifier: NCT00652132). Erişim: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00652132> (Erişim tarihi 17 Aralık, 2024).
113. **Hazlitt RA, Min J, Zuo J.** Progress in the development of preventative drugs for cisplatin-induced hearing loss. *J Med Chem.* **2018**; 61: 5512–5524.
114. **Dhillon S.** Sodium thiosulfate: Pediatric first approval. *Pediatr Drugs.* **2023**; 25: 239–244.
115. **Harned TM, Kalous O, Neuwelt A, Loera J, Ji L, Iovine P, et al.** Sodium thiosulfate administered six hours after cisplatin does not compromise antineuroblastoma activity. *Clin Cancer Res.* **2008**; 14: 533–540.
116. **Hammill TL, Campbell KC.** Protection for medication-induced hearing loss: The state of the science. *Int J Audiol.* **2018**; 57: S87–S95.

117. **Isherwood B, Gonçalves AC, Cousins R, Holme R.** The global hearing therapeutic pipeline: 2021. *Drug Discov Today*. **2022**; 27: 912–922.
118. **Le Prell CG.** Investigational medicinal products for the inner ear: Review of clinical trial characteristics in ClinicalTrials.gov. *J Am Acad Audiol*. **2021**; 32: 670–694.
119. **Schilder AGM, Su MP, Blackshaw H, Lustig L, Staecker H, Lenarz T, et al.** Hearing protection, restoration, and regeneration: An overview of emerging therapeutics for inner ear and central hearing disorders. *Otol Neurotol*. **2019**; 40: 559–570.
120. **Tang Q, Wang X, Jin H, Mi Y, Liu L, Dong M, et al.** Cisplatin-induced ototoxicity: Updates on molecular mechanisms and otoprotective strategies. *Eur J Pharm Biopharm*. **2021**; 163: 60–71.
121. **Yu D, Gu J, Chen Y, Kang W, Wang X, Wu H.** Current strategies to combat cisplatin-induced ototoxicity. *Front Pharmacol*. **2020**; 11: 999.
122. **Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW.** Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otol Neurotol*. **2004**; 25: 910–915.
123. **Yoo J, Hamilton SJ, Angel D, Fung K, Franklin J, Parnes LS, et al.** Cisplatin otoprotection using transtympanic L-N-acetylcysteine: A pilot randomized study in head and neck cancer patients. *Laryngoscope*. **2014**; 124: E87–E94.
124. **Riga MG, Chelis L, Kakolyris S, Papadopoulos S, Stathakidou S, Chamalidou E, et al.** Transtympanic injections of N-acetylcysteine for the prevention of cisplatin-induced ototoxicity: A feasible method with promising efficacy. *Am J Clin Oncol*. **2013**; 36: 1–6.
125. **Le TN.** Intratympanic N-Acetylcysteine for Prevention of Cisplatin-Induced Ototoxicity (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04291209)
Erişim: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04291209> (Erişim tarihi 17 Aralık, 2024).
126. **Noman A, Mukherjee S, Le TN.** Manipulating the blood labyrinth barrier with mannitol to prevent cisplatin-induced hearing loss. *Hear Res*. **2022**; 426: 108646.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı

