

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
Prof. Dr. Savaş Kansoy

SİSPLATİNE BAĞLI GELİŞEN OTOTOKSİSİTEDE
RİSK FAKTÖRLERİ VE DNA TAMİR
GEN POLİMORFİZMLERİYLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Caner TURAN

TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. Mehmet KANTAR

İZMİR – 2015

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli tez hocam Prof. Dr. Mehmet Kantar'a ve Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Buket Kosova ve Uzm. Dr. Çağdaş Aktan'a, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet Orman'a, çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım başta Prof. Dr. Savaş Kansoy olmak üzere tüm değerli hocalarıma ve uzmanlarıma, yardımlarını ve güler yüzlerini esirgemeyen onkoloji kliniği çalışanlarına, dört yıllık asistanlığım süresince hem pediatri hem de hayat üzerine bana en çok şeyi öğreten, en güzel günlerde olduğu gibi en kötü anları da birlikte geçirdiğimiz abim ve hocam Doç. Dr. Eylem Ulaş Saz'a, intörlüğümünden asistanlığımın sonuna kadar hep yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen ablam ve hocam Doç. Dr. Özge Altun Köroğlu'na, ne olursa olsun hep yanımda olan ve beraber gülüp beraber ağladığımız ve her zaman doğru yolu gösteren sevgili ablam ve kardeşime, beni sabır ve sevgiyle büyüten, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili anne ve babama, birlikteyken mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, yaşama sınıksız tutunan ve verdiğimiz emeğin boşa gitmediğini her zaman bize gösteren tüm bebek ve çocuklara...

Dr. Caner Turan

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
GRAFİKLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. ÇOCUKLUK ÇAĞI KANSERLERİ.....	3
2.2. İŞİTME, OTOTOKSİSİTE VE DNA TAMİR GENLERİ.....	6
2.2.1. İŞİTME ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ.....	6
2.2.2. SES DALGALARININ İLETİM FİZYOLOJİSİ.....	9
2.2.3. SİSPLATİN VE OTOTOKSİSİTE	13
2.2.4. SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE GENETİK	21
2.2.5 SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE EVRELEME	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ.....	51
7. EK-1	52
8. EK-2	60
ÖZET	61
SUMMARY	63
KAYNAKLAR.....	65

TABLolar DİZİNİ

- Tablo-1.** Türkiye’de çocukluk çağı kanserleri dağılımı
- Tablo-2.** Brock ototoksisite evrelemesi
- Tablo-3.** CTCAE ototoksisite evrelemesi.
- Tablo-4.** Fonksiyonel işitme kaybı skalası.
- Tablo-5.** Chang ototoksisite evrelemesi.
- Tablo-6.** Tedavi protokolleri.
- Tablo-7.1.** Araştırmada kullanılan cihazlar.
- Tablo-7.2.** Termal profil programı.
- Tablo-8.1.** Hasta ve kontrol grubuna göre cinsiyetin dağılımı.
- Tablo-8.2.** Hasta ve kontrol grubu yaş ortalamaları.
- Tablo-8.3.** Hasta grubunda tanılarının dağılımı.
- Tablo-8.4.** Hasta grubunda SSS tümör tiplerinin dağılımı.
- Tablo-8.5.** Hasta grubunda radyoterapi uygulaması.
- Tablo-8.6.** İşitme kaybının olup olmamasına göre hastaların dağılımı.
- Tablo-8.7.** İşitme kaybı türüne göre hastaların dağılımı.
- Tablo-8.8.** İşitme kaybına göre hastaların yaş, tanı yaş ve almış oldukları kümülatif sisplatin değerleri (ortalama $\pm$ SD).
- Tablo-8.9.** Kümülatif sisplatin dozu ile işitme kaybı arasındaki ilişki.
- Tablo-8.10.** Sisplatin tedavi sonrası geçen süre ile işitme kaybının değerlendirilmesi
- Tablo-8.11.** Hasta grubunda amifostin ve aminoglikozid kullanımı.
- Tablo-8.12.** ERCC1 geninde mutasyon olup olmama durumuna göre dağılım.
- Tablo-8.13.** ERCC2 geninde mutasyon olup olmama durumuna göre dağılım.
- Tablo-8.14.** XRCC1 geninde mutasyon olup olmama durumuna göre dağılım.
- Tablo-8.15.** Hasta grubunda işitme kaybı olup olmama durumuna göre ERCC1 mutasyonları.
- Tablo-8.16.** Hasta grubunda işitme kaybı olup olmama durumuna göre ERCC2 mutasyonları.
- Tablo-8.17.** Hasta grubunda işitme kaybı olup olmama durumuna göre XRCC1 mutasyonları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sisplatin ototoksisite mekanizması

Şekil 2. Sisplatin etki mekanizması ve genetik faktörler

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik-1.1. rs25487 polimorfizmindeki erime pik dereceleri

Grafik-1.2. rs25487 polimorfizmindeki erime eğrisi

Grafik-2.1. rs11615 polimorfizmindeki erime pik dereceleri

Grafik-2.2. rs11615 polimorfizmindeki erime eğrisi

KISALTMALAR

4-HNE	:	4-hidroksinoneal
AA	:	Adenin-Adenin
ABR	:	Beyin sapı işlevsel cevabı
AG	:	Adenin-Guanin
CAD	:	Caspase activated deoksiribonükleaz
CC	:	Sitozin-Sitozin
CDDP	:	cis-diamminedichloridoplatinum
COMT	:	Katekol-O-Metiltransferaz
CT	:	Sitozin-Timin
CTCAE	:	Common Terminology Criteria for Adverse Events
dB	:	Desibel
DDIT4	:	DNA-damage-inducible transcript 4
DDP	:	Diamminedichloridoplatinum
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DPOAE	:	Distortion-Product Otoakustik Emisyon ()
EOI	:	European Osteosarcoma Intergroup
ERCC	:	Excision Repair Cross-Complementing Group 1
FDA	:	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GG	:	Guanin-Guanin
GHT	:	Germ hücreli tümörler
GJB2	:	Gap junction beta-2 protein
GST	:	Glutasyon-S-Transferaz
KBB	:	Kulak Burun Boğaz
LDL	:	Low dansity lipoprotein
LRTOMT2	:	Leucine-Rich Transmembrane O-Methyltransferase 2
NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBL	:	Nöroblastom
NCI	:	Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü
NEK2	:	Serine/threonine-protein kinase
NER	:	Nükleotid eksizyon tamiri
OAE	:	Otoakustik emisyon
PEB	:	Sisplatin-Bleomisin-Etoposid

PUFA	:	Çoklu doymamış yağ asitleri
PVB	:	Sisplatin-Vinblastin-Bleomisin
SAM	:	S-AdenosilMetionin
SD	:	Standart Deviasyon
SLC26A4	:	Solute carrier family 26, member 4
SNP	:	Tek nükleotid polimorfizmi
SOR	:	serbest oksijen radikali
TG	:	Timin-Guanin
Tm	:	Erime noktası
TPMT	:	Tiyopürin S-Metiltransferaz
TPOG	:	Türk Pediatrik Onkoloji Grubu
TT	:	Timin-Timin
XPC	:	Xeroderma pigmentosum, complementation group C
XRCC1	:	X-ray repair cross-complementing protein 1

1. GİRİŞ VE AMAÇ :

1.1. Giriş :

Sisplatin [cis-dichlorodiammineplatinum-(II)], platin benzeri kemoterapötik bir ajan olarak birçok çocukluk çağı kanseri tedavisinde etkili olarak kullanılmaktadır. Sisplatin, çocukluk çağı kanserleri içinde özellikle osteosarkom, germ hücreli tümörler, nöroblastom, karaciğer tümörleri, nazofarenks karsinomu ve santral sinir sistemi tümörleri tedavisinde kullanılan protokoller içerisinde önemli yer tutmaktadır.

Sisplatin kullanımı sonrasında bulantı, kusma, nefrotoksisite, ototoksisite ve periferik nöropati gibi komplikasyonlar meydana gelmektedir. Bu komplikasyonlar nedeniyle sisplatin kullanımı sınırlandırılabilir. Sisplatin sonrasında gelişebilecek nefrotoksisite için güçlü hidrasyon rejimleri uygulanmakta ve bu şekilde nefrotoksisitenin önüne geçilebilmektedir. Ancak sisplatinin sebep olduğu ototoksisite için henüz uygun bir rejim bulunmamaktadır. Bu durum sisplatin kullanımında doz kısıtlanmasına sebep olmaktadır (1-5). Sisplatine bağlı ototoksisite sıklıkla bilateral, geri dönüşümsüz ve yüksek frekanslarda sensörinöral işitme kaybı ($\geq 6000\text{Hz}$) şeklinde olmakta ve genellikle geçici ya da kalıcı tinnitus eşlik etmektedir (6,7). Ototoksisiteyi önlemek için kanserli hastalarda çok çeşitli otoprotektif ilaçlar araştırılmaya başlanmıştır.

Sisplatine bağlı ototoksisite gelişimini etkileyen faktörler arasında, kümülatif ilaç dozu, yüksek miktarda tekrarlayan dozlar, hastanın yaşı (< 5 yaş), renal hastalık varlığı, tedavi öncesinde ve sonrasında kranial radyoterapi uygulanması, aminoglikozid benzeri ototoksik ilaç kullanılması, furosemid kullanımı ya da bolus ilaç uygulaması sayılabilir (6,7,8,9,10,11,12,13,14). Ayrıca, hastaların genetik varyantları ile sisplatine bağlı ototoksisite arasında da ilişki saptanmıştır (15,16,17).

Çocukluk döneminde meydana gelen işitme kaybının en önemli sonucu, çocuğun konuşma ve öğrenme yetisinde geriliğe sebep olmasıdır (18). Son yıllarda, kanserli çocuklarda sağ kalım oranlarının artmasına paralel olarak kemoterapi sonrası yan etkilerin de oranı artmıştır. Çocuklarda meydana gelebilecek işitme kaybının daha sonraki yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemesi nedeniyle sisplatin tedavisi öncesinde tüm hastalara işitme testi uygulanmaktadır. Tedavi sırasında ve sonrasında kontrol işitme testi ile tekrar değerlendirilerek gerekirse kemoterapi dozu değiştirilmektedir.

Sisplatin molekülü, DNA melekülleri arasında çapraz bağlar oluşumuna sebep olarak, transkripsiyon ve hücre bölünmesini engellemektedir. Oluşan DNA hasarı sonrasında DNA tamir genleri devreye girmektedir; hasarın düzeltilmesi imkansız ise apoptozis mekanizması çalışmaktadır (14,19).

Sisplatin, kokleanın bazal kıvrımında bulunan dış tüylü hücrelerde hasar oluşturarak öncelikle yüksek frekanslarda (4000-8000 Hz), daha sonra düşük frekanslara ilerleyen nörosensörial işitme kaybına neden olmaktadır. İşitmenin değerlendirilmesi amacı ile günümüzde birçok işitme testi uygulanmaktadır (Saf ses odiyometrisi, Otoakustik emisyon (OAE), beyin sapı işlevsel cevabı (ABR)).

Son yıllarda, başta erişkin popülasyonda olmak üzere, sisplatine bağlı işitme ototoksisitesi araştırılmaktadır. İşitme ototoksisitesinin genetik yatkınlığı açısından araştırılan genler ise ERCC1 (Excision Repair Cross-Complementing Group 1), ERCC2, ERCC4, ERCC5, XPC sayılabilir.

1.2. Amaç :

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji Kliniği tarafından izlenen, 0-18 yaşları arasında, sisplatin tedavisi almış ve tedavisi sonlanmış hastalarda meydana gelen ototoksisiteyi ve bu ototoksisiteye yol açabilecek risk faktörlerinin ve özellikle DNA tamir genleri olan ERCC1, ERCC2 ve XRCC1 ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÇOCUKLUK ÇAĞI KANSERLERİ

2.1.1. Epidemiyoloji

Erişkinlere kıyasla çocuklarda kanser daha nadir olup tüm kanserlerin %0.5-2'si çocukluk yaş grubunda görülmektedir (20). Gelişmiş ülkelerde 15 yaş altı çocukluklarda kanser görülme sıklığı 70-160 / milyon olarak bildirilmektedir. Ülkemizde ise 15 yaş altı çocuklarda kanser görülme insidansı 120/1.000.000'dir (21). Kanser ölüm nedenleri arasında ülkemizde 4. sırada yer almaktadır (22). Yapılan istatistiklere bakıldığında; ülkemizde görülen çocukluk çağı kanserlerini sırasıyla lösemiler, lenfomalar, santral sinir sistemi tümörleri, nöroblastom, Wilm's tümörü, kemik ve yumuşak doku tümörleri, retinoblastom ve karaciğer tümörleri oluşturmaktadır (23,24) (Tablo-1).

Tablo-1. Türkiye’de çocukluk çağı kanserleri dağılımı (42).

Kanser Tipi	Sayı	%
Lösemi	6759	30,7
Lenfoma	3860	17,5
Santral sinir sistemi tümörleri	2853	13
Sempatik sinir sistemi tümörleri	1700	7,73
Yumuşak doku sarkomları	1446	6,57
Kemik tümörleri	1345	6,11
Renal tümörler	1158	5,26
Germ hücreli tümörler	1156	5,25
Retinoblastom	678	3,08
Karsinom / Diğer malign epitelyal tümörler	617	2,8
Hepatik tümörler	331	1,5
Diğer/Non-spesifik malign tümörler	103	0,05

2.1.2. Çocukluk Çağı Kanserlerinde Sağaltım

Çocukluk çağı kanserlerinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi tedavi olmak üzere üç tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Çocukluk çağı kanserlerinde, cerrahi tedavi ile çıkarılabilecek bir tümör ise ilk seçenek olarak cerrahi tedavi uygulanmaktadır; çocuklarda kemoterapi sıklıkla kullanılmaktadır. Kemoterapi ilaçlarından biri olan sisplatin, özellikle osteosarkom, germ hücreli tümörler, nöroblastom, karaciğer tümörleri, nazofarenks karsinomu ve santral sinir sistemi tümörleri tedavisinde kullanılmaktadır.

2.1.2.1. Osteosarkomlu Hastalarda Sağaltım

Osteosarkom, çocukluk çağında en sık görülen malign kemik tümörüdür. Kemoterapi protokollerinde sisplatin tedavisi yoğun olarak yer almaktadır. Osteosarkom protokolünde uygulanan sisplatin tedavisi infüzyon şeklinde olup kümülatif olarak 480 mg/m^2 ve altında verilmektedir (25). Kliniğimizde izlenen ve çalışmamıza dahil edilen osteosarkom tanılı olguların sağaltımında EOI ve Mayo Pilot II protokolü kullanılmıştır. Bu protokollerde sisplatin sırasıyla $100 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ (kümülatif doz 600 mg/m^2) ve $120 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ (kümülatif doz 360 mg/m^2) olarak verilmektedir (26). Osteosarkomlu hastalarda uygulanan tedavi yöntemleri ile non-metastatik osteosarkomlu hastaların % 60-70'i hayatta kalabilmektedir (27). Kantar ve ark.'nın 8'i metastatik ve 17 non-metastatik osteosarkomlu hastada yaptığı çalışmada, non-metastatik hastaların 5 yıllık hastalıksız yaşam oranının %53 saptanmıştır (28).

2.1.2.2. Germ Hücreli Tümörlerde Sağaltım

Çocukluk çağı tümörlerinin % 2-3'ünü germ hücreli tümörler (GHT) oluşturmaktadır. Germ hücreli tümörlerin tedavisinde öncelikli cerrahi tedavi planlanırken, gerekli endikasyonlarda kemoterapi uygulanmaktadır. Matür lezyonlarda tedavi sonrasında sağkalım oranları % 95'e ulaşmaktadır.

GHT'lerin sağaltımında cerrahi eksizyon sonrasında sisplatin, karboplatin, vinkristin, etoposid ve bleomisin içeren PEB, PVB, JEB, PVBD protokollerinin kullanılmaktadır (26).

2.1.2.3. Nöroblastomda Sağaltım

Nöroblastom (NBL), adrenal medülla ve/veya sempatik ganglionlarda normalde bulunan primordial nöral krest hücrelerinden gelişen ve tüm çocukluk çağı kanserlerinin % 8-10 unu oluşturan bir tümördür (29). NBL, süt ve oyun çocuklarında en sık görülen ekstrakranial tümördür (29).

NBL’de tedavi öncesi hastanın risk grubu belirlenir (düşük, orta, yüksek risk) ve buna göre tedavi düzenlenir. Öncelikli tedavi cerrahidir (düşük risk gruplarında), buna siklofosamid, karboplatin, sisplatin, etoposid, teniposid ve doksorubisin gibi kemoterapötiklerin kullanıldığı kemoterapi tedavisi de eklenebilir. Sisplatin yüksek risk nöroblastomda indüksiyon rejimlerinde kullanılıp yüksek remisyon oranlarının sağlanmasında etkili olmaktadır. Nöroblastom hastaları yüksek kümülatif doz sisplatin uygulanması ve hastaların daha küçük yaşlarda olmaları nedeniyle sisplatin ototoksik etkilerine karşı daha hassastırlar (30). Türkiye’deki nöroblastom hastalarının sağaltımının standardizasyonu için Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG)’nun hazırladığı nöroblastom sağaltım protokolü (TPOG-NBL-2003) kullanılmaktadır (26,31).

2.1.2.4. Hepatoblastomda Sağaltım

Hepatoblastom, süt çocukluğu döneminde en sık görülen karaciğer tümörüdür. Özellikle 15 yaş altı çocukluk dönemi karaciğer tümörlerinin %65’ini oluşturmaktadır. Cerrahi tedavi primer tedavi seçeneği olarak kabul edilse de, sisplatin, doksorubisin ve 5-fluorourasil kemoterapötikleri ile yapılan adjuvan ve neoadjuvan kemoterapi seçeneklerinin önemi her geçen gün artmaktadır. Cerrahi tedavi ile tümörün tamamı rezeke edilememekteyken neoadjuvan kemoterapi ile tümörün rezektabilite şansı artmaktadır (32).

2.1.2.5. Santral Sinir Sistemi Tümörlerinde Sağaltım

Santral sinir sistemi tümörleri gelişmiş ülkelerde, çocukluk çağı tümörleri içinde ikinci sıklıkta görülmekteyken ülkemizde üçüncü sıklıkta rastlanmaktadır (24,33).

Santral sinir sistemi tümörlerinde primer tedavi cerrahi rezeksiyondur. Her ne kadar cerrahi tedavi primer seçenek olarak görülse de, semptomatik düşük dereceli gliomlarda, progresif seyirli veya rezeke edilemeyen santral sinir sistemi tümörlerinde kemoterapi ilk seçenektir (34).

Medülloblastom sağaltımında, diğer santral sinir sistemi tedavilerinde olduğu gibi primer ve en etkili tedavi cerrahi rezeksiyondur. Relaps oranını azaltmak amacı ile radyoterapi de uygulanmaktadır. Cerrahi ve radyoterapi sonrasında ise kemoterapi uygulanır (57). Risk grubuna göre değişmekle birlikte sisplatin, vinkristin ve lomustin kullanılan kemoterapi ajanlarıdır (26,35).

2.1.2.6. Nazofarenks Karsinomunda Sağaltım

Tüm çocukluk çağı kanserlerinin %1'inden azını oluşturmakla birlikte primer tedavisi radyoterapidir. Çocukluk çağında ve ergenlerde görülen nazofarenks karsinomlarının çoğunu indifferansiye tip oluşturduğundan radyoterapiye ek olarak kemoterapi verilmektedir (36). Kemoterapi ajanlarından metotreksat, sisplatin ve 5-florourasil kombinasyonları tedavide kullanılmaktadır (26).

2.2. İŞİTME, OTOTOKSİSİTE VE DNA TAMİR GENLERİ

2.2.1. İŞİTME ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

2.2.1.1. İşitme Anatomisi :

Denge ve işitmenin periferik algı organlarını içeren kulak, kafatasının her iki yanında bulunan temporal kemik içine yerleşmiştir. Üç temel anatomik kısımdan oluşmuştur.

- Dış Kulaklar: Aurikula, dış kulak yolu.
- Orta Kulak: Timpan membran, kemikçikler, orta kulak kasları, orta kulak mukozal katlantıları, Eustachi borusu.
- İç Kulak: Vestibüler sistem, kohlea.

Sisplatin, iç kulak yapılarının etkileyerek ototoksositeye sebep olduğundan özellikle iç kulak anatomisine değinilecektir.

2.2.1.1.1. İç Kulak Anatomisi :

İç kulak, işitme ve denge organını barındırır ve petröz kemiğin içine yerleşmiştir. Orta kulak ile bağlantısını oval ve yuvarlak pencereler aracılığı ile sağlarken; kafa içi ile olan bağlantısını kohlear ve vestibüler akuaduktlar ile sağlamaktadır. Kemik ve zar olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Kemik labirent vücudun en sert kemiğidir ve otik kapsül ile çevrilidir. Membranöz labirent, kemik labirentin içinde bulunan ve içi sıvı ile dolu, çeşitli kanal ve boşluklardan oluşan bir yapıdır. Önde bulunan yapıya “ductus cochlearis” adı verilir ve işitme

organını içerir. Denge organını içeren kısım ise semisürküler kanallar, utriculus ve sacculusdan oluşmaktadır (37,38).

Kohlea, salyangoza benzemektedir ve ortasında koni şeklinde “modiolus” adı verilen bir kemik bulunmaktadır. Bu koninin etrafında “ductus cochlearis” sarılı bulunmaktadır. Ductus cochlearis, yaklaşık 30 mm uzunluğunda olup modiolus çevresinde 2 tam ve bir 3/4 tur yapar. Bu şekilde oluşan turlar apikal, medial ve basal tur olarak adlandırılır. Kohleanın ortasından dikey bir kesit alınırsa modiolusdan bir kemik laminanın kanalın içine uzandığı izlenir. Kemik lamina kanalın yarısına kadar uzanır; bunun bittiği yerden, kemiğin periostu fibroz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak kanalı iki tam parçaya böler. Bu fibröz tabakaya baziler membran adı verilmektedir. Baziler membran üzerindeki bölüme “scala vestibuli”, altta kalan kısma ise “scala tympani” adı verilir. Apikal turda scala vestibuli ve scala tympani birbirleri ile birleşirler. Scala vestibuli ve scala tympaninin içi perilenf adı verilen bir sıvı ile doludur. Endolenf ve perilenf, kohleanın metabolizmasında önemlidir. Baziler membran, karşı tarafa yapışırken bir kalınlaşma yapar; buna “ligamentum spiralis ossea” adı verilir. Bu ligamanın üstünden ince bir zar ayrılır ve kanalın ortasına doğru inerek kemik lamina ile birleşir. Bu zara “Reissner membranı” denir. Bu şekilde Reissner membranı, koklea kesitlerinde üçgen şeklinde görülen “ductus cochlearis”i oluşturur. Ductus cochlearis içinde endolenf adı verilen bir sıvı vardır. Endolenf ve perilenf arasında, Reissner membranı vasıtası ile aktif transport mekanizması aracılığı ile iyon ve metabolit alışverişi mevcuttur. Scala tympani orta kulakla yuvarlak pencere vasıtası ile, scala vestibuli ise oval pencere vasıtası ile ilişkidir. Kohleada nörosensöriyel hücreler baziler membran üzerinde yerleşmiştir. Bu bölüme “Corti organı” adı verilir. Corti organında ses titreşimleri nöroepitelyal hücreler aracılığı ile elektriksel potansiyeller şekline dönüşür. Baziler membran üzerinde iki tip sensöriyel hücre bulunmaktadır. “İç tüylü hücreler” ve “dış tüylü hücreler”. Bunlar, üzerlerini örten tektoriyel membran ile temastadır. Baziler membranın en çıkıntılı olduğu yere “Corti tüneli” adı verilir. Bunun dış kısmında dış tüylü hücreler ve iç kısmında iç tüylü hücreler bulunmaktadır. Sayıları 5000 kadar olan iç tüylü hücreler tek sıralıdır, şiddetli uyarılara cevap verirler. Dış tüylü hücreler ise 3–4 sıralıdır. İç kulaktaki toplam tüylü hücre sayısı 16000–20000 arasındadır. Tüylü hücrelerin üzerinde kalınlaşan yüzey olan kutiküler plakta titreşim tüyler (stereocilia) bulunmaktadır. Titreşim tüyler kendi aralarında bir düzen içinde sıralanmışlardır. İç tüylü hücrelerde bu düzen, ductus cochlearise paralel, dış tüylü hücrelerde ise ‘W’ veya ‘V’ şeklindedir. Titreşim tüyler tektorial membran ile temastadır. Tektorial membran kemik spiral laminadan başlayarak dış tüylü hücrelerin üzerini örten ve jel

kıvamında bir madde içeren yapıdır. İç tüylü hücreler ise tektorial membran içine gömülü değildirler. Kütiküllerin akustik enerji yolu ile hareketi, hücre içinde elektriksel potansiyelleri değiştirmekte ve stimülasyon olmaktadır. Sensoriyel hücrelerin arasında destek hücreleri bulunmaktadır. Bunlar; “*Dieters, Cladius, Hensen*” hücreleridir. Sensoriyel hücrelerin her birinin alt yüzünden sinir fibrilleri çıkar. Bu sinir lifleri kümeler oluşturarak, “*Habenula perforata*” yolu ile kemik spiral laminaya giderler ve modiolusta bulunan işitme ganglionunda sonlanırlar. Bu gangliona “*Spiral ganglion*” ismi verilir. İç ve dış titreşim tüylü hücreleri innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmişlerdir. Kohlea üç türlü sinir lifi alır: Otonom lifler, aferent ve eferent lifler. Beyine sensoriyel bilgiyi ileten aferent lifler ile beyin sapından kohleaya giden eferent lifler. Aferent liflerin %95’ i iç saçlı hücreler ile temas halindedir. Otonom sinir sistemine ait liflerin kohlea içinde varlığı gösterilememiştir. Ancak bu tip liflerin kan damarları, modiolus ve spiral laminada varlığı bilinmektedir. Spiral gangliondan çıkan sinir lifleri “*n. cochlearis*”i oluştururlar. N. cochlearis içindeki sinir liflerinin büyük bir çoğunluğu aferent fibriller taşımaktadır. N. cochlearis; iç kulak yolunda, N. Vestibularis ile birlikte 8. kafa çiftini oluşturur. N. statoacusticus, ponsun alt kısmında beyin sapına girerek, dorsal ve ventral kohlear çekirdekler ile sinaps yapar. Sinir uçlarının, kohlear nukleuslarda, kohleayı yansıtan bir düzende sonlandıkları gösterilmiştir. Kohlear nukleustan çıkan 2. nöronlar, orta hattı çaprazlayarak karşı taraf superior oliver komplekste veya lemniskus lateralede sonlanır. Bir grup nöron da çaprazlaşmadan, aynı taraf superior oliver kompleks ve lemniskus lateraleye ulaşırlar. Lifler lemniskus lateraleden sonra colliculus inferior ve corpus geniculatum medialede sonlanır. Her iki colliculus inferior arasında bağlantılar vardır. Corpus geniculatum mediale, primer işitme merkezi olarak bilinmektedir. Kortekse doğru seyreden lifler, temporal lobda “*Heschl gyrusu*”nda sonlanır. Bir kısım lifler ise ipsilateral merkezlerde sonlanır. Aferent liflere ilaveten, sayıları yaklaşık 1000 kadar olan eferent lifler de mevcuttur. Bunlar superior oliver komplekste başlar ve olivokohlear demeti oluşturur. Demetin büyük bir kısmı karşı taraf dış tüylü hücrelerde sonlanır (37, 38, 39, 40).

2.2.1.2. İşitme Fizyolojisi :

İşitme, atmosferde oluşan ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanmasından beynimizdeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar olan süreç olarak tanımlanmaktadır. İşitme sistemi geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Merkezi işitme yolları, işitme merkezi, dış-orta ve iç kulak bu sistemin parçalarıdır. İşitme üç basamakta meydana gelmektedir: İlk olarak, orta kulak ile ses titreşimleri iç kulak sıvılarına iletilmektedir;

ardından iç kulakta frekansların periferik analizi yapılmaktadır. Üçüncü olarak da, mekanik enerji, iç kulaktaki silialı hücreler tarafından elektrik enerjisine dönüştürülmektedir. Sesin alınması ve işitmenin algılanması birkaç adımda oluşmaktadır (39,40,41) :

1. Atmosferde oluşan ses dalgalarının Corti organına kadar iletilmesi (akustik enerji).
2. Corti organına ulaşan akustik enerji, nöroepitelyal hücrelerde elektrik potansiyelleri şekline dönüştürülmesi.
3. Sinir liflerinin oluşan elektrik potansiyellerini daha yukarı merkezlere iletmesi.
4. Koklear çekirdeklerden, temporal lobdaki işitme merkezine gelen uyarıların birleştirilmesi ve analiz edilmesi.

2.2.2. SES DALGALARININ İLETİM FİZYOLOJİSİ

2.2.2.1. Dış Kulak Fizyolojisi:

Ses dalgasının dış kulaktan Corti organına iletilmesinde engelleyici, yönlendirici ve/veya şiddetlendirici faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler arasında kulak kepçesi, baş ve vücut engelleyici, dış kulak yolu ve orta kulak yönlendirici ve şiddetlendirici rol oynamaktadır. İnteraural mesafe (iki kulak arasındaki mesafe) başın engelleyici etkisini belirgin hale getiren önemli bir faktördür. Ses yakın kulağa göre 0,6 msn'lik bir zaman farkı ile diğer kulağa ulaşabilir. Başın ses dalgalarının alınmasına yaptığı diğer bir etki de gölge etkisidir. Başın genişliğinin ses dalgalarının boyundan büyük veya küçük olması gölge etkisini ortaya çıkarır. Tiz seslerin dalga boyu başın genişliğinden küçüktür. Bu yüzden tiz sesler uzak kulağa daha güçlükle ulaşır. Buna karşın pes seslerin dalga boyu başın genişliğinden büyüktür. Bunların yayılma doğrultusunun uzağında kalan kulağa ulaşması sorun oluşturmaz. Bu yüzden tiz seslerin yönü, pes seslere göre daha kolaylıkla saptanabilir. Kulak kepçesi, konumu ve biçimi ile çevredeki sesleri toplamaya ve yönlendirmeye yarar. Başın yönüne göre aşağı yukarı 135 derecelik bir yay içindeki bütün sesleri toplar ve dış kulak yoluna yönlendirir. Boynuza benzeyen konka ise bir megafon görevi yapar ve ses dalgalarını dış kulak yolunda yoğunlaştırır. Bu şekilde ses dalgalarının şiddetini 6 dB artırdığı sanılmaktadır. Dış kulak yolu ses dalgalarını sadece yönlendirmez aynı zamanda

şiddetlendirilir. Ses dalgalarının atmosferdeki yayılması ile dış kulak yolundaki yayılması birleri ile karşılaştırıldığında normal yetişkin bir insanda sesin şiddetinin arttığı ve bu artışın 1000- 8000 Hz frekansları arasında olduğu saptanmıştır. Normal yetişkin bir insanda bu şiddet artması 3500–4000 Hz frekansları çevresinde en yüksek değerine erişmektedir. Ancak bu değerler sabit değildir; çünkü kişiden kişiye kanalın çapı ve biçimi değişmektedir ve sesin geliş açısına göre de değişiklik göstermektedir (39,41).

2.2.2.2. Orta Kulak Fizyolojisi:

Ses dalgaları, dış kulaktan gelerek timpan zarı titreşime yol açar ve bu titreşim “*manibrium mallei*” aracılığı ile malleus ve inkus başına iletilir. Malleus ve inkus blok halinde birlikte hareket ederler. Bu hareket aksı, inkusun kısa kolu ve gövdesi ile malleusun boynu arasından geçer. Bu hareket incudostapedial eklem vasıtası ile stapes ve oval pencereye, buradan iç kulak sıvılarına iletilir. Ancak orta kulakta bu iletim sırasında, atmosferden (gaz ortamdan), perilenfe (sıvı ortama) ses dalgalarının iletimi söz konusudur. Ses dalgaları akustik resistansı çok düşük olan atmosferden, akustik resistansı çok yüksek olan perilenfe geçinceye kadar bir enerji kaybına uğramaktadır. Ses dalgalarının ancak 1/1000’i perilenfe geçebilmektedir. Bu ortam değişikliği sırasında 30 dB işitme kaybı ortaya çıkmaktadır. Ancak, orta kulak ve kemikçikler, kendisine gelen akustik enerjiyi yaklaşık 30 dB kadar yükselterek perilenfe aktarmaktadır. Bu şekilde ortam değişikliği sırasında ortaya çıkan enerji kaybı telafi edilmektedir. Timpan zar titreştiği zaman ses titreşimleri kemikçikler yoluyla oval pencereye ve hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşır. Bu şekilde pencerelere ulaşan ses dalgaları arasında iletim hızının farklı olmasından dolayı faz farkı ortaya çıkar. Ses dalgaları farklı fazlarda iletildiği zaman, koklear potansiyellerin optimum seviyede olduğu tespit edilmiştir. Ses titreşimlerinin baziler membrana ulaşabilmesi için, perilenfin hareket etmesi gereklidir. Ancak stapes tabanı, titreşimi iletmek için perilenfe doğru hareket ettiği zaman, perilenfin harekete geçebilmesi için ikinci bir pencereye gerek vardır. Yuvarlak pencere membranı, stapes hareketi sırasında orta kulağa doğru bombeleşerek, perilenfe hareket olanağı sağlar (39,41).

2.2.2.3. İç Kulak Fizyolojisi:

Stapes hareketi ile başlayıp perilenf ile iletilen mekanik dalga, baziler membranı tabandan apekse doğru hareketlendirir. Bu dalganın özelliği, amplitüdün giderek artması ve titreşimlerin belli bir bölgede maksimum amplitüde ulaştıktan sonra birden sönmesidir.

Titreşimler enine ve boyuna olmak üzere yayılırlar. İletim dalgası baziler membran üzerinde stimulusun taşıdığı frekansa denk gelen bölgede maksimum amplitüde ulaşır ve bu bölgeyi hareket ettirerek fibrilleri uyarır. Kohleadaki membranın tabana yakın yeri ince, kısa ve gergindir. Apekte yakın yeri ise kalın, uzun ve gevşektir. Bu nedenle membranın en alt kısmı en yüksek frekanslarda; en üst kısmı ise en alçak frekanslarda uyarılır. membran titreşirken, üstündeki silialı hücreler tektoriyel membrana çarpıp ayrılırlar ve sonuçta uyarılan koklea kısmında ses dalgalarının mekanik enerjisi elektro-kimyasal enerjiye dönüşür. Bu enerji de sinir impulsu olarak sesin 8. sinir lifleri ile merkeze iletilmesine sebep olur. Ses uyarımları taşıdıkları frekanslara göre beyindeki değişik yerlerde sonlanırlar. İşitme merkezinde de pes ve tiz seslerin alındığı yerler ayrılmıştır. Yani işitme merkezi tıpkı koklea gibi özel bir tonotopisite göstermektedir. Yüksek tonlar işitme merkezinin derinliklerinde ve düşük tonlar ise yüzeylerinde sonlanır. Sesler kortekse geçtiği zaman orada önceki ses deneyimlerine göre tanınırlar. İki kulakla beyin arasındaki bağlantı çift kanallı bir sinir sistemi ile yapılır. Karışık bir yol izleyen sinirler birçok noktada koklear çekirdek, süperior oliva, colliculus inferior ve corpus geniculatum medialeden geçerler(39,41)

2.2.2.4. Kohlea Fizyolojisi:

İşitme fizyolojisinde kohleanın iki önemli görevi vardır:

1. İletim: Akustik enerjinin Corti organındaki tüylü hücrelere kadar taşınması.
2. Dönüşüm: Corti organındaki tüylü hücrelere gelen mekanik iletim dalgasının kimyasal veya elektriksel gerilimlere dönüştürülüp, işitme sinirine verilmesidir. Bu dönüşüm, sesin perdesi, tını, faz ayırımı, şiddeti gibi fiziksel özelliklerinin kaybolmayacağı bir biçimde olur ve ses enerjisindeki bu özellikler, oluşacak elektriksel gerilimlerle şifrelenerek, santral sinir sistemine gönderilirler.

Kohleadaki ses dalgalarının yayılımı çeşitli teorilerle açıklanmaktadır. G. von Békésy'e göre, skalalardan herhangi birine uygulanan işitsel titreşimler baziler membranda yer değişimlerine yol açmaktadır, bu durum "ilerleyen dalga teorisi" olarak adlandırılmaktadır, bu dalga baziler membranın bazal ucundan başlayarak apekte doğru ilerler. Yayılma hem boyuna, hem de enine yönlerdedir. Yine bu iletim dalgasının en büyük özelliği de amplitüdünün gittikçe artarak maksimuma ulaşması ve titreşimlerin daha sonra sönerek faz değiştirmesidir. En büyük titreşim bölgesinden sonra sıvılarda girdap hareketleri başlamaktadır. Bir başka önemli özellik ise bu dalgaların, baziler membran üzerinde en büyük titreşim yaptığı yerin her frekans için belirli bölgeler oluşudur (42).

İşitilebilen her frekans için baziler membran üzerinde değişmeyen "en büyük titreşim noktası" vardır. En büyük amplitüdle titreşen bölge, yüksek frekanslarda bazal bölgede, yani oval pencereye yakındır. İşitsel enerjinin frekansı düştükçe baziler membranın en çok titreşen bölgesi kohleanın tepesine yaklaşır. Baziler membran, bazal bölgede daha katı ve dar, apekse doğru gidildikçe esnek ve genişleyen bir yapıya sahiptir. Bu yapısal özelliğinden dolayı her frekans için ayrı bir maksimum titreşim bölgesine sahiptir.

G. von Békésy, yaptığı araştırma sonucunda bu bulgulara ek olarak en çok titreşen bölgedeki amplitüdün, uyarıcı ses şiddeti ile doğru orantılı olduğunu ileri sürmüştür. Baziler membranın hareketi ile tektoriyel membran ve tüylü hücrelerin uyarıldıkları ileri sürülmektedir (65). Ancak kohleadaki işitme enerjisinin aktivasyonu ve yayılması konusunda bir çok teori mevcuttur. İlerleyen dalga teorisi bugün için akla en yakın olan ve üzerinde pek çok araştırmacının uzlaştığı teoridir.

2.2.2.5. İşitme Siniri Fizyolojisi:

Corti organında bulunan tüylü hücrelerin toplam sayıları 15-20.000 kadardır. Bunlardan 3.500 kadarı iç, geri kalanı dış tüylü hücrelerdir. Tüylü hücreler ile temasta bulunan sinir liflerinin sayısı tüylü hücrelerin iki katı kadardır (25-30 bin). Bu liflerin hücre gövdesi, kohleanın içinde bulunan spiral ganglionlardır. Her spiral ganglion hücresi Corti organına kısa reseptör lifler, beyin sapındaki kohlear nukleuslara ise uzun sinir lifleri gönderirler. Yani spiral ganglionlar bipolar hücreler olup, bu hücrelerin periferik uzantıları kohleadaki lamina spiralis osseanın içinde bulunan kanalcıklardan geçer ve foramina nervumdan çıkarak Corti organına gelirler. Burada sinir lifleri nöro-epitelyal tabakası içinde sık bir ağ meydana getirirler. Bu ağdan çıkan nörofibriller duyu hücrelerinin etrafını sarar ve hücrelere nüfuz ederek sitoplazmayla ilişki kurar. Bipolar hücrelerin santral uzantıları kulak yolunun dibindeki tractus foraminosusdaki deliklerden geçer ve biraraya gelerek işitme sinirini meydana getirir. Bu sinir denge siniri ile beraber sulkus pontobulbarisin dış kısmından ponsa girer. İşitme siniri liflerinin tüy hücreleri tarafından uyarılması ile ilgili ileri sürülen 3 teori vardır: Bunlar mekanik, kimyasal ve elektriksel teorilerdir. Bir inanışa göre sinir liflerinin uyarımı mekaniktir. İkinci teori tüy hücrelerinin mekanik uyarımları sonucu kimyasal bir madde salgılayarak sinir liflerinin uyarılmalarına neden olur, şeklindedir. Bu hipotez hücreden hücreye veya sensör hücreden nörona uyarıların geçişindeki temel prensiplere dayandırılmaktadır. Davis ise kimyasal uyarım teorisini benimsemiştir (43). Yaptıkları araştırmada kohlear potansiyellerin meydana gelmesi ile işitme sinirindeki impulsar arasında 0.5-0.6 msn'lik bir gecikme bulmuşlar ve kohlear aksiyonun sinir liflerine geçmesi için bu sürenin çok uzun olduğunu ileri

sürmüşlerdir. Bu nedenle tüy hücrelerinden sinir liflerine enerji transferinde zamana ihtiyaç gösteren kimyasal bir olayın cereyan ettiğini ileri sürmüşlerdir. Ancak yapılan yorumlarda elektriksel uyarının kabul edilmesinin, kimyasal uyarı tamamen geçersiz sayma anlamına gelmeyeceği, hücre aksiyonları ile ilgili modern teorilerde genellikle elektrokimyasal bir uyarın mekanizmasının kabul edilmesi gereği belirtilmektedir. Sadece elektriksel aktivitenin kabul edilmesinden çok mekanik, elektriksel ve kimyasal aktivitenin birarada gerçekleştiği düşüncesi en doğru yol olarak görülmektedir (39,41)

2.2.2.6. Sensörinöral İşitme Kaybı:

İşitme fonksiyonu birçok organın integrasyonu sonucu oluşmaktadır. Sesin algılanması, orta kulağın normal mekanik yapısının yanında iç kulakta oluşan biyokimyasal ve biyo-elektriksel olaylar ve bunlara santral sinir sisteminin katkısı ile oluşmaktadır. Sesin tam olarak algılanması normal bir orta kulak yapısının yanı sıra kohleadan başlayarak işitme merkezine kadar olan işitme siniri, işitme çekirdeklerinin ve kortikal merkezlerin normal fonksiyon göstermesi, vasküler ve metabolik yapılarının normal olmasına bağlıdır. Bu yapılardan herhangi birini etkileyen ve normal fonksiyonunu bozan durumlar işitme kaybına neden olmaktadır (39).

2.2.3. SİSPLATİN VE OTOTOKSİSİTE:

2.2.3.1. Sisplatin molekülü:

Sisplatin alkilleyici benzeri ajan olarak değerlendirilir ve platin bazlıdır. Bu gruptaki diğer ilaçlar karboplatin ve okzaliplatindir. En önemli özelliği, bu grupta ilk geliştirilmiş ilaç olmasıdır. DDP, sisplatinyum, CDDP (cis-diamminedichloridoplatinum) sisplatin için kullanılan diğer isimlerdir (44,45). Sisplatinin kimyasal formülü $PtCl_2(NH_3)_2$ dir. Platin atomunu cis pozisyonda, horizontal düzlemde çevreleyen 2 klor ve 2 amonyum atomunda oluşan inorganik bir moleküldür (45). Moleküler ağırlığı 300.045 daltondur. Sisplatin nükleofilik bir ajandır ve kolaylıkla suda çözünebilir. Yapısındaki kovalent bağlar su dahil başka moleküllere bağlanabilir. Vücudun sudan zengin ortamında sisplatin molekülündeki klor atomu hidroksil grubu ile yer değiştirir ve bu sayede çok reaktif platin kompleksleri oluşur. Kanda klor konsantrasyonu yüksek ise bu değişim gerçekleşemez. Dolaşımdaki klor konsantrasyonunun düşük olduğu durumda ise sisplatin molekülü aşırı reaktif hale gelir, molekül başka proteinlere bağlanır ve kanser hücresine ulaşımı güçleşir. Hücre içinde oluşan

bu reaktif platin kompleksleri DNA'nın N7 ucundaki pürin bazına çapraz bağlarla bağlanır. Sisplatin molekülü bir uçtan DNA'ya bağlanırken diğer uçtan ise bir proteine bağlanır ve bu protein sisplatini hücre içindeki DNA tamir mekanizmalarından korur. Bu bağlanma sonucunda hücrede DNA tamir mekanizmaları devreye girseler de, tamir gerçekleştirilemediğinden hücre apoptozise gider (46,47). Sisplatin hidrofilik olduğundan vücut içinde dağılımı oldukça iyidir; en çok böbrek, karaciğer ve prostatta birikir. Oral emilimi oldukça kötüdür; bu yüzden intravenöz olarak kullanılmaktadır. FDA tarafından 1978'de onay verilmesi sonrasında birçok erişkin ve çocukluk çağı kanserinde çoğunlukla kombine sağaltım şeklinde kullanılmaktadır. Anne sütüne ve plasentaya geçebilir. Asit sıvısı ve plevral sıvı gibi 3. boşluklara dağılır. Kan beyin bariyerininden geçisi iyi değildir. Primer atılım yeri böbreklerdir (%90). Sisplatinin yarılanma zamanı 30 dakika iken, kanda oluşan komplekslerinin ise 5 günden uzundur. Platin dokularda 180 güne kadar gösterilebilir (45).

Santral sinir sistemi tümörleri, osteosarkom, nöroblastom, germ hücreli tümörler, nazofarinks karsinomu, hepatoblastom, adrenokortikal kanser ve bazı gastrointestinal kanser türlerinde sisplatin molekülü tek başına ya da kombine sağaltım olarak kullanılmaktadır.

2.2.3.2. Sisplatin Komplikasyonları:

Sisplatine sonrası komplikasyon görülme sıklığı oldukça fazladır. Sisplatine bağlı komplikasyonlar şunlardır:

- a. Kardiyovasküler: Bradikardi, hipertansiyon, dal bloğu,
- b. Hematolojik: Myelosüpresyon, anemi, hemolitik anemi (Coombs pozitif), trombotik mikroanjiyopati,
- c. Gastrointestinal: Tad algısında bozulma, bulantı ve kusma (en sık), diyare, iştahsızlık,
- d. Renal/metabolik: Toksik nefropati, hipomagnezemi, hipokalsemi, hipokalemi, hiponatremi, hipofosfatemi, hiperürisemi, uygunsuz ADH sendromu,
- e. Nörolojik: Tinnitus ve işitme kaybı (en sık), otonom nöropati, konvülsiyon, dorsal kolon myelopatisi, hıçkırık, periferik nöropati, optik nörit, bulanık görme, renk algısında bozulma, akut ensefalopati,
- f. Neoplastik: Akut lösemi,
- g. Dermatolojik: Döküntü, alopesi,
- h. Hepatik: Karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma
- i. İmmünolojik: Tip I (anaflaksi), tip II (hemolitik anemi),
- j. Üreme: İnfertilite,

k. Diğ er: Reynaud sendromu, kas krampları, kan demir düzeyinde artış.

Sisplatine bağlı gelişen ototoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite en önemli yan etkileridir. Özellikle proksimal ve distal renal tübüllerde meydana gelen tübüler nekroza bağlı gelişen nefrotoksisite en önemli doz kısıtlayıcı komplikasyondur. Bulantı, kusma, diyare, iştahsızlık, işitme kaybı, kulak çınlaması ve miyelosüpresyon ise diğ er doz kısıtlayıcı durumlardır.

Sisplatin birçok hastada orta-ağır derecede bulantı ve kusmaya neden olur. Bulantı kusma ilaç infüzyonu sonrasında yaklaşık 1 saat içinde başlar ve 24 saate kadar devam edebilir. İ traven z hidrasyonun yeterli miktarda verilmesi ve antiemetik kullanımı ile bu yan etkilerin azaldığı gözlense de, iştahsızlık ve bulantı 1 hafta süreyle devam edebilir (45,48). Nefrotoksisite çoğunlukla geçici olmakla birlikte, yüksek dozlarda ve uzamış tedavilerde kalıcı olabilmektedir, yeterli intravenöz hidrasyon ile nefrotoksisite azaltılabilir veya  nlenebilir (48). Hiponatremi, hipokalemi, asidoz, hipomagnezemi, hipofosfatemi gibi renal tübüler bozukluklar glomerüler fonksiyonları normal olan hastalarda da görülebilir (49).

Sisplatin nörotoksisitesi, nefrotoksisiteden sonraki en ciddi komplikasyonlardandır. Esas olarak duysal nöropati gelişirken, nadiren de olsa motor bulguların eşlik ettiği bir periferik nöropati görülebilir. Duysal ya da motor nöropatiye proprioseptif duyuların ve derin tendon reflekslerinin kaybı eşlik edebilir. Semptomlar geç dönemde ve genellikle uzamış tedavilerden sonra ortaya çıkar ve geri dönüşümsüz olabilir. Tad algısında bozulma, konuşma bozuklukları, konvülziyonlar, bellek kaybı nadir görülen durumlardır. N rotoksisitenin ağır düzeyde görülmesi ve fonksiyonel olarak ciddi sorun yaratacak düzeyde ağır nörotoksisite gelişmesi durumunda tedavi mutlaka kesilmelidir (45,48,50).

Sisplatin tedavisi uygulanan hastaların izleminde, düzenli böbrek fonksiyon testlerinin yapılması, tedavi öncesinde, sırasında ve sonrasında dikkatli nörolojik muayene yapılması, kan sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve fosfor düzeylerinin kontrol edilmesi, belirli aralıklarla tam kan sayımı yapılması, tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında işitmenin sorgulanması ve düzenli odyometrik testlerin uygulanması gerekmektedir (45,48).

Sisplatine bağlı gelişen ototoksisite, kanserlerden sağ kalım oranları arttıkça daha sık görülmeye başlanmıştır. Gelişen komplikasyonlar arasında ototoksisitenin geri dönüşümsüz olması ve sık görülmesi sebebi ile günümüzde önemli bir sorun haline gelmiştir.

2.2.3.3. Sisplatine Bağlı Ototoksisite:

Platin bileşikleri arasında ilk olarak kullanılmaya başlayan sisplatin molekülü en ototoksik platin bileşiği olarak tanımlanmıştır (51). Bazı hastalarda kulak çınlaması şeklinde semptomla sebep olan ototoksisite sensörinöral işitme kaybı şeklindedir. Öncelikle yüksek frekanslardan başlar ve artan ilaç uygulaması ile birlikte düşük frekanslarda da işitme kaybı izlenir. İşitme kaybı tipik olarak doza bağımlı, bilateral ve çoğunlukla kalıcıdır, ilacın uygulanmasından saatler veya günler sonra gelişebilmektedir (52). Ototoksisite gelişmesini etkileyen risk faktörleri arasında kümülatif sisplatin dozu, hasta yaşı, eş zamanlı aminoglikozit kullanımı ve kranial ışınlama kabul edilmektedir.

Sisplatin ototoksisitesine yönelik yapılan çalışmalarda, ototoksisitenin klinik prezentasyonu ve özellikleri şu şekildedir (53):

- Genellikle ilk bulgunun kulak çınlaması olması,
- İşitme kaybının sıklıkla bilateral olması,
- Kalıcı ve geri dönüşümsüz işitme kaybının olması,
- Kümülatif dozun $>200 \text{ mg/m}^2$ aşması sonucu gelişmesi (en düşük 60 mg/m^2),
- İşitme kaybının yüksek frekanslarda başlaması ve düşük frekanslara doğru progresyon gösteren sensörinöral tipte olması
- Endokohlear potansiyellerde azalma olması,
- OAE'da azalma veya kayıp olması şeklinde sıralanmıştır.

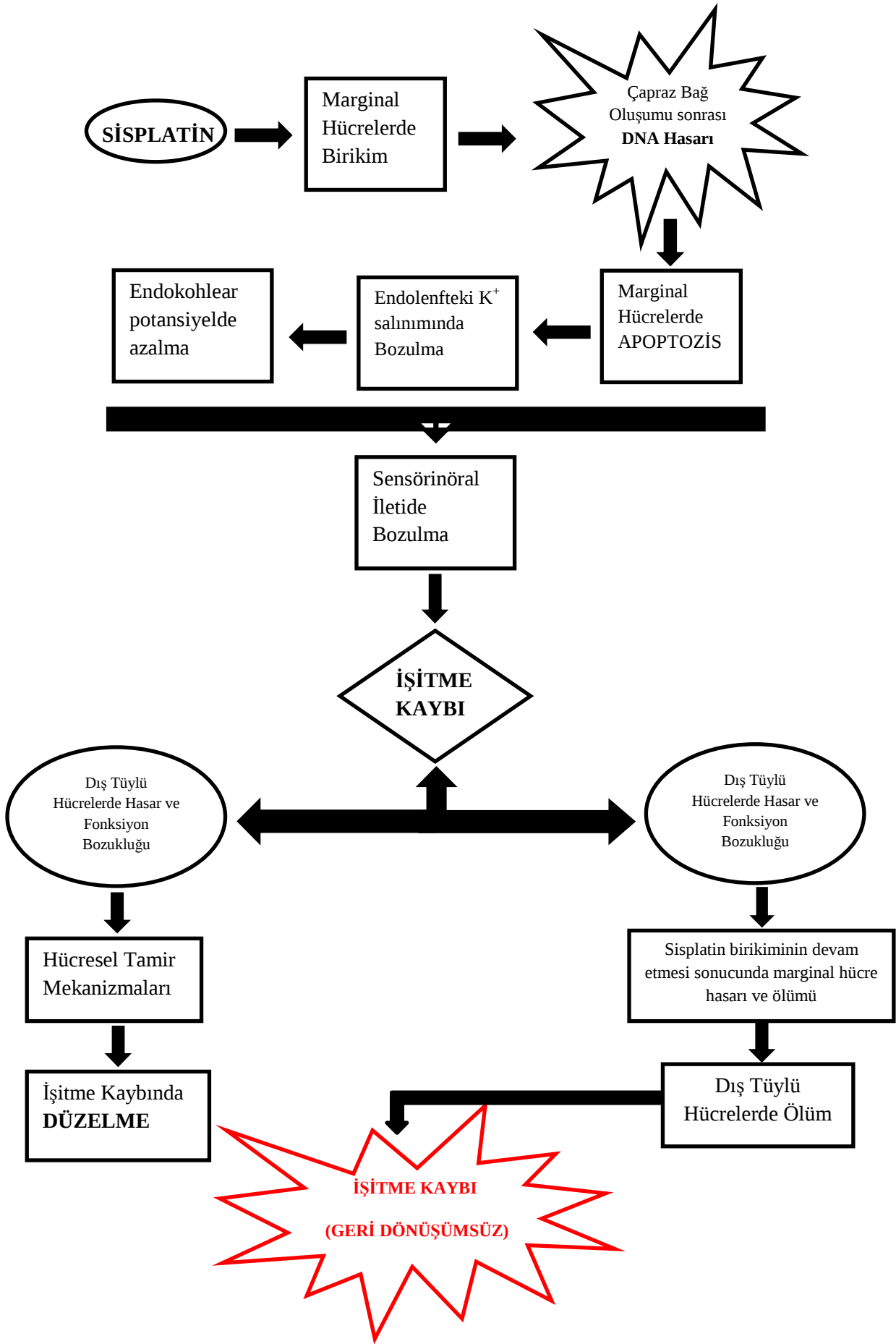
Ototoksisite ve işitme kaybının saptanmasında ve hastaların izleminde saf ses odyometrisi, ABR ve Distortion-Product Otoakustik Emisyon (DPOAE) yöntemleri kullanılmaktadır. Saf ses odyometrisi, hastaların izleminde ototoksisite ve işitme kaybının saptanması için kullanılan standart bir yöntemdir (52). Sisplatinin ilk olarak yüksek frekans sesleri algılayan bölge olan kohleanın bazal kıvrımını etkilediğinden genişletilmiş yüksek frekans saf ses odyometri daha etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (54,55,56). ABR ve DPOAE ise pediatrik popülasyonda da rahatlıkla kullanılabilen hastanın kooperasyonunun gerekmediği objektif test yöntemleridir (54,57,58). Ototakustik emisyon erişkinlerde ve çocuklarda yüksek frekans işitme kayıplarını saptamada konvensiyonel odyometriye göre daha üstündür (54,57,58). Birçok çalışmada, DPOAE dış tüylü hücrelerin aktivitesinin direkt göstergesi olduğundan sisplatin ototoksisitesini saptamada ve izleminde en etkili yöntem olduğu bildirilmektedir (55,59,60,61,62,63).

2.2.3.4. Sisplatin Ototoksitesinde Patofizyoloji:

Literatüre göre, sisplatin ototoksitesi ile ilgili günümüze kadar yapılan tüm çalışmalarda ortak nokta sisplatinin dış tüy hücrelerinde hasarlanmaya sebep olmasıdır. Buna yönelik, Rhesus maymunu üzerinde yapılan çalışmada, sisplatin uyguladıktan sonra kohlea bazal kıvrımında dış tüy hücrelerinde kayıp olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir (64). Yapılan bir başka çalışmada, Strauss ve ark. insan kadavrası temporal kemiklerini incelemiş ve kohleada dış tüy hücrelerinde kayıpların olduğunu, düşük doz sisplatin uygulaması sonrası dış tüy hücrelerinde sterosilia kaybı oluştuğunu göstermiştir (65) (Şekil 2). Sisplatin kullanımı sonrasında gelişen ototoksite mekanizması şu şekildedir (66) :

- İlk olarak kohlea 1. kıvrımdaki dış tüylü hücrelerde kayıp olması, artan doz uygulaması ile 2., 3. ve 4. kıvrımdaki dış tüylü hücrelerde kayıp olması,
- Düşük doz sisplatin ile dış tüy hücrelerde sporadik kayıplar görülürken artan dozlarda sürekli dış tüy hücre kaybı,
- Yüzeyde çıkıntılar, vakuollerde şişme, mitokondride denatürasyon, hücre içi komponentlerin hücre dışına sızması gibi dış tüy hücrelerde hasarlanma bulguları olması,
- Stria vasküleriste incelme ve vakuollerde şişme olması sonucu oluşmaktadır.

Literatürdeki birçok çalışmada, stria vasküleristeki hasarlanmanın dış tüylü hücre hasarını arttırdığı belirtilmekte ve stria vasküleristeki marjinal hücre hasarının sekonder olarak dış tüylü hücre hasarına neden olduğu öne sürülmektedir (67,68). Stria vasküleristeki marjinal hücreler endolenf komşuluğunda heksagonal hücreler olup yüksek miktarda mitokondri ve Na-K ATPaz pompası içerirler ve endolenfe sürekli potasyum pompalarlar (53,69). Stria vaskülaris ise kapiller kan akımından zengin bir bölgedir. Hem zengin kapiller ağ, hem de hücredeki yüksek sellüler aktivite marjinal hücrelerin sisplatinin ototoksik etkilerine karşı daha hassas olmalarına neden olmaktadır (69).



Şekil 1. Sisplatin ototoksisite mekanizması (92)

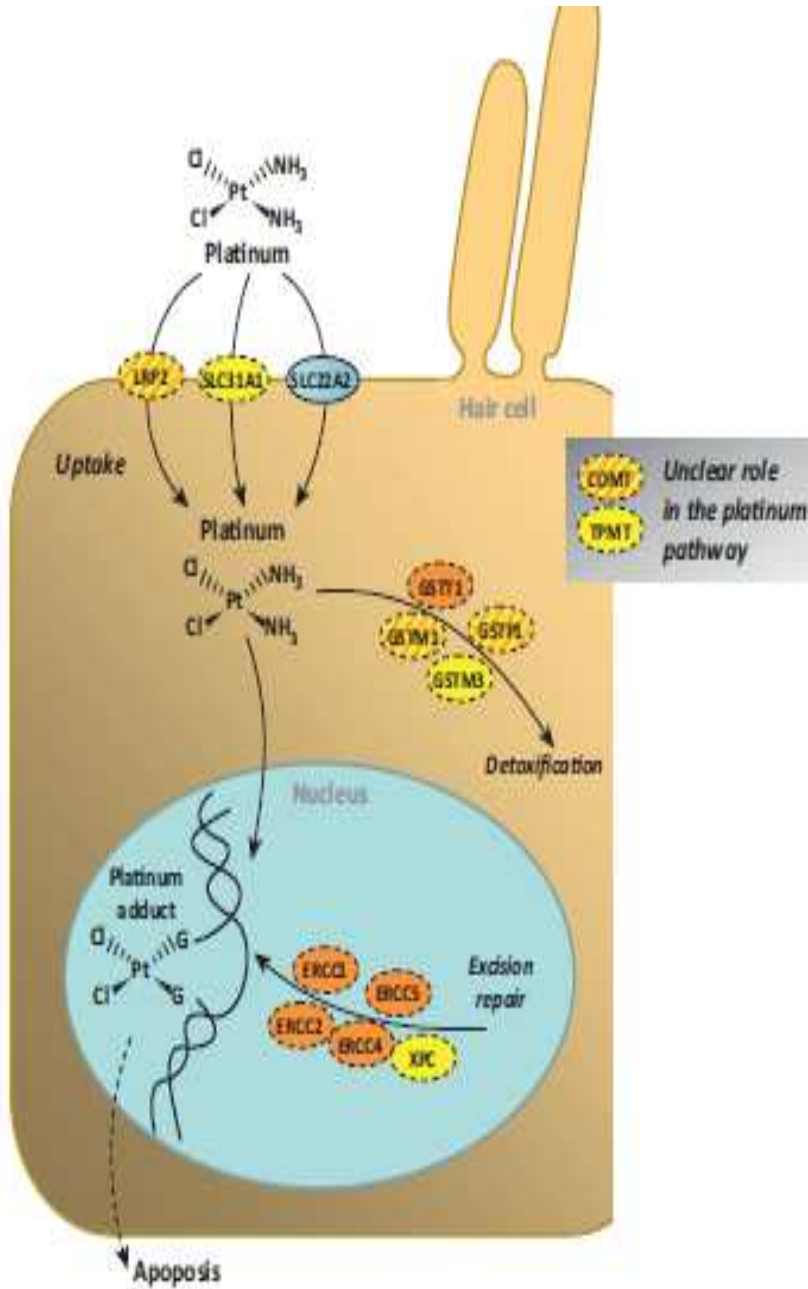
Truong ve ark. tarafından yapılan çalışmada, sisplatin sonrasında hastanın yakınması olması ya da işitme kaybının gelişmesi durumunda, bir sonraki sisplatin dozunun klinik düzelme görülene kadar ertelenmesi gerektiği, bu sayede stria vaskülarisin iyileşmesine olanak tanınarak dış tüyle hücre hasarının ve kalıcı işitme kaybının önüne geçilebileceği sonucuna varılmıştır (66). Thomas ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise sisplatin ototoksisitesinin esas hedefi olarak strial marjinal hücreler gösterilmektedir. Marjinal hücre hasarı, endolenfe potasyum sekresyonunun bozulmasına, buna bağlı olarak da, kohlear akımın etkilenmesi ve dış tüylü hücrelerin sensörinöral iletiminin bozulması ve sonuç olarak endokohlear potansiyelde düşüş olduğu öne sürülmüştür (70). Sisplatine bağlı olarak gelişen akut işitme kaybının, geri dönüşümlü olabilen strial hasarlanmaya bağlı iken, dış tüylü hücrelerin hasarlanmasının nihai işitme kaybının derecesini ve iyileşme olup olmayacağını belirleyen faktör olduğu ileri sürülmüştür. Ototoksisitenin tamir mekanizmalarına yeterli süre tanınırsa geri dönüşümlü olabileceği düşünülmektedir (66). Sıddık ve ark tarafından yapılan bir çalışmada ise marjinal hücrelerin, platin birikimi ve DNA hasarını azaltmaya yönelik tamir mekanizmaları olduğu gösterilmiştir (47).

Sisplatinin toksisite oluşturmada mekanizması şu şekilde açıklanabilir (46,47,71):

- Superoksit anyonu olmak üzere birçok serbest oksijen radikali (SOR) oluşumuna neden olur.
- Serbest oksijen radikalleri kohlear dokuda glutatyon ve antioksidan enzimlerin (superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) tüketilmesine neden olur. Bunda etkili olan mekanizmalar:
 - Sisplatinin enzimlerdeki sülfidril gruplarına direkt bağlanması,
 - Süperoksid dismutaz ve glutatyon peroksidaz için gerekli olan bakır ve selenyumun tüketilmesi,
 - Artan serbest oksijen radikali ve organik peroksitlerin artışıyla birlikte antioksidan enzimlerin inaktivasyonu,
 - Glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzimleri için gerekli olan glutatyon ve kofaktör NADPH'ın tüketilmesi olarak sayılabilir.

Bu işlemler sonrasında gerçekleşen lipid peroksidasyonu ile malondialdehit, 4-hidroksinoneal ve peroksinitrit gibi toksik aldehydler meydana gelir. Bu döngünün sürekli devam etmesi sonucunda kohlea hücreleri içinde süperoksid, hidrojen peroksid başta olmak üzere serbest oksijen radikalleri ve bunu takiben de lipid peroksidasyon ürünleri birikmeye başlar (46,47,71). Süperoksid radikali nitrik oksit ile reaksiyona girer ve peroksinitrit oluşur.

Peroksinitrit ise proteinleri inaktif eder ve serbest hidroksil radikalleri oluşturur. Serbest hidroksil radikalleri ortamdaki demir (Fe) ile birlikte hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ile tepkimeye girerek yüksek toksisiteye sahip bir aldehid olan 4-HNE (4-hidroksinoneal) oluşmasına neden olur. 4-HNE artışı hücre içine kalsiyum girmesine ve apoptoz başlamasına neden olur. Hücre içine kalsiyum girişinin artması sonucunda hasarlanan mitokondrilerden sitokrom C sitozole sızar ve kaspaz-3 ile kaspaz-9' u aktive eder. CAD (Caspase activated deoxyribonuclease) aktivasyonu ile birlikte DNA'da kırılmalar meydana gelir (72) (Şekil 3).



Şekil 2. Sisplatin etki mekanizması ve genetik faktörler (73).

2.2.4. SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİNDE GENETİK

Sisplatin ototoksitesinde, uygulanan kümülatif doz ve daha yüksek miktarda tekrarlayan dozlar, 5 yaş altı hastalar, renal hastalık öyküsü, tedavi öncesinde ve sonrasında kranial radyoterapi alımının etkisinin çok olmasının yanında eşlik edebilen DNA gen mutasyonlarının ve polimorfizmin de rolü büyüktür. Özellikle mitokondriyal mutasyonların genetik yatkınlığa sebep olduğu düşünülmektedir. Megalin reseptörü polimorfizmi, Glutasyon-S-Transferaz ve subgrupları (M1, T1, P1) polimorfizmi (GSTM1, GSTT1, GSTP1), Tiyopürin S-Metiltransferaz (TPMT) ve Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) polimorfizmleri ve diğer genler (ERCC1, ERCC2, XPC, GJB2, SLC26A4) polimorfizmleri sisplatine bağlı ototoksiteden sorumlu tutulmuşlardır (74,75,76,77).

Megalin (düşük dansiteli lipoprotein ile ilişkili protein-2), multifonksiyonu olan bir reseptördür ve LDL ailesinin en büyük boyutta olanıdır. İşitme duyusunda önemli rol oynamaktadır. Kohleada bulunan stria vaskülaris üzerindeki marginal hücrelerden sentezlenmektedir. Megalin, aminoglikozid antibiyotiklere ve sisplatine bağlanmaktadır. Rieddman L. ve ark.'nın yaptığı çalışmada 74 kanserli çocukta megalin proteini ile sisplatine bağlı gelişen işitme kaybı arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır (74). Bu çalışma sonucunda, megalinin sisplatin transportunda rol aldığı ve megalin polimorfizminin sisplatine bağlı ototoksiste ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Glutasyon-S-transferaz (GST), kohleada bulunan dış tüylü hücrelerden sentezlenir ve sisplatin etki yolunda önemli yer tutmaktadır. GST gen polimorfizmleri sonucunda sisplatine bağlı gelişen ototoksitesine kişisel yatkınlıklar ortaya çıkabilmektedir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada ise Glutasyon-S-Transferaz enziminin fonksiyonel polimorfizmlerinin ototoksiste üzerindeki etkisinden söz edilmektedir (75,76,77). GSTM ve GSTP proteinleri iç kulaktan salınmakta ve GSTT1 proteini ile birlikte sisplatine bağlı ototoksiste gelişiminde rol oynamaktadır. Sıklıkla GST izoformlarındaki polimorfizm sonucunda (GSTM1, GSTP1, GSTT1 genleri) enzimatik aktivite azalır ya da tamamen kaybolur. Bunun sonucunda da sisplatine bağlı ototoksiste oluşur (78). Peters ve ark.'nın 71 kanserli çocuk hastada (sisplatin tedavisi alan sarkom, germ hücreli tümör, nöroblastom ve santral sinir sistemi tümörü) yaptığı çalışmada, GSTM1, GSTT1, GSTP1 ve GSTZ1 mutasyonları ile sisplatin sonrası gelişen işitme kayıpları arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (79). Bu çalışma, pediatrik populasyon içinde sisplatin ototoksitesindeki genetik mutasyonun ve polimorfizmin ilişkisini gösteren ilk çalışmadır. Oldenburg ve ark.'nın

173 testis kanserli erişkin hastada yaptığı çalışmada (yapılan en geniş çaplı çalışma), GSTP1 ve GSTM1 allellerinin ekspresyonu sonucunda hastaların sisplatine bağlı ototoksisiteden korunduğu öne sürülmüştür (80). 105Val-GSTP1 polimorfizmini homozigot her iki allelde de taşıyan hastaların sisplatin ototoksisitesinden korunduğu, 105Ile/105Ile-GSTP1 veya 105Val/105Ile-GSTP1 genotipindeki olgularda ise işitme kayıplarının 4 kat daha sık görüldüğü gösterilmiştir (80).

TMPT ve COMT enzimlerindeki genetik varyasyonlar ile sisplatine bağlı ototoksisite arasında yüksek düzeyde ilişki saptanmıştır (16). TMPT'nin endojen substratı bilinmemektedir; bu enzim azathiopürin metabolitleri gibi eksojen pürin bileşiklerini inaktive etmektedir. Sisplatin, pürin bileşiklerine ya da DNA içi ya da çapraz bağlarındaki formlarına bağlanarak hücre ölümünü sağlamaktadır. TMPT enzim aktivasyonunda azalma olması durumunda sisplatin bağlı pürin bileşiklerinin inaktivasyonu sonucunda DNA çapraz bağlarına bağlı sisplatin miktarı artacak ve sisplatine bağlı ototoksisitede artış olacaktır (16). Düşük TMPT ve COMT enzim aktivitelerine bağlı S-AdenosilMetionin (SAM) düzeylerindeki artışın sonucunda da ototoksisite gelişebilir. TMPT ve COMT metiltransferazlardır, metionin yolağında metil donörü olarak SAM'ı kullanmaktadır. Son çalışmalarda, LRTOMT2 enziminin, substrat bağlayıcı bölgesi de dahil olmak üzere COMT ile %60 benzerlik gösterdiği, fonksiyonel olarak COMT gibi çalıştığı, fareler ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda düzgün işitme fonksiyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir (16,81,82). Yeni bir gen olan COMT2'nin, kohleanın iç ve dış tüylü hücrelerinden eksprese edildiği ve sıklıkla COMT-COMT2'nin, tek izoformu olduğu bildirilmiştir (83). Tüm bulgular, COMT enzim aktivitesindeki azalmanın sisplatin alan hastalarda ototoksisite gelişmesini arttıracakını desteklemektedir.

Peters ve ark.'nın 2003 yılında 39 çocuk hasta üzerinde mitokondriyal mutasyonları kümeleştirerek haploid grup oluşturmak için yaptığı analizde, 20 hastada işitme kaybı saptanırken 19 hastanın işitme fonksiyonları normal olarak değerlendirilmiştir. İşitme kaybı olan 20 hastanın 5'inde Leber'in herediter optik nöropatisi ile de ilişkili olan mitokondriyal mutasyon saptanmıştır (79). Knoll ve ark.'nın çocuk hastalarda yaptığı bir başka çalışmada, osteosarkom, yumuşak doku sarkomu ve santral sinir sistemi tümörü tanısı alan ve kümülatif 400mg/m² dozunda sisplatin tedavisi sonrasında ağır işitme kaybı gelişen 11 hastada *GJB2* (konneksin kodu) ve *SLC26A4* (pendrin kodu, anyon taşıyıcı) genlerindeki mitokondriyal mutasyon araştırılmıştır (84). Ağır işitme kaybı ile ilişkili olduğu gösterilen mitokondriyal mutasyonlar, A155G (yüksek frekanslı sensörinöral işitme kaybı), A3243G, A7445G

(Anormal glutasyon transportu ya da oksidatif stres) bakılmış, ancak bu hastalarda allel mutasyonu saptanmamıştır (84).

Caronia ve ark.'nın yaptığı çalışmada, osteosarkom nedeniyle sisplatin tedavisi gören 91 hastada (çocuk ve erişkin) *ERCC2*, *XPC*, *XPA*, *ERCC1*, *ERCC4* ve *ERCC5* genlerinde 8 SNP (tek nükleotid polimorfizmi) analiz edilmiştir (85). Bu hastalardan 32'sine odimetrik analiz yapılmış ve 15 hastada işitme kaybı saptanmıştır. *XPC* geninde bulunan rs2228001 SNP ile sisplatin ototoksitesisi arasında ilişki saptanmıştır. Genotipi *XPC* CC olan hastaların %80'inde; *XPC* AC mutasyonu taşıyan hastaların ise, %50'sinde işitme kaybı gelişirken, mutasyon olmayan (*XPC* AA) hastaların %27'sinde (11 hastadan 3'ünde) işitme kaybı saptanmıştır (85).

DNA tamir genleri, DNA hasarı olduğu zaman devreye giren enzimlerin salgılanmasını sağlamaktadır. DNA tamir genlerini kodlayan *ERCC1* (Excision Repair Cross-Complementing Group 1) ve *ERCC2* genleri ile yapılan çalışmalarda, bunlarda meydana gelen mutasyon sonucunda DNA hasarında ve komplikasyonlarda artış olmaktadır (86,87). Endonukleaz olan *ERCC1*, DNA tamir mekanizması olan nükleotid eksizyon tamir mekanizmasında (NER) rol oynamaktadır. DNA hasarı olduğu zaman, DNA tamir mekanizması devreye girer; eğer hasar geri dönüşümsüz ise apoptozis gerçekleşir. *ERCC1* ve diğer NER enzimlerinin yüksek miktarda sentezlenmesi, DNA tamir mekanizmasının işlevselliğini arttırmaktadır (86,87) (Şekil-3)

2.2.5. SİSPLATİN OTOTOKSİTESİNDE EVRELEME

Malignitelerde sisplatin kullanımı sonrasında gelişen ototoksiteyi evrelemek için çeşitli evreleme sistemleri geliştirilmeye ve ortak bir terminoloji oluşturulmaya çalışılmıştır. Uluslararası kabul gören, yararlı ve yeterli duyarlılıkta bir evreleme sistemi oluşturabilmek onkoloji, kulak burun boğaz bilim dalı ve odiyoloji bölümlerinin ortak çalışmaları gerekmektedir. Sisplatin ototoksitesisi için çok sayıda evreleme sistemi vardır. Brock ve ark.'nın 1991 yılında yaptığı çalışmada sisplatine bağlı gelişen sensörinöral işitme kayıpları değerlendirilmiş ve 5 evreye ayrılmıştır (52) (Tablo-2). Bu çalışmadan sonra, sisplatin ototoksitesisini değerlendirmede birçok çalışmada kullanılan evreleme sistemi Brock evreleme sistemi olurken; günümüzde de en sık kullanılan ototoksiste evreleme sistemidir.

Tablo-2. Brock ototoksisite evrelemesi.

Kriter	Brock Evresi
Tüm frekanslarda < 40 dB işitme eşiği	0
8000 Hz ve üzeri frekanslarda $\geq$ 40 dB işitme eşiği	1
4000 Hz ve üzeri frekanslarda $\geq$ 40 dB işitme eşiği	2
2000 Hz ve üzeri frekanslarda $\geq$ 40 dB işitme eşiği	3
1000 Hz ve üzeri frekanslarda $\geq$ 40 dB işitme eşiği	4

Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından 2009 yılında yayınlanan ve 2010 yılında revize edilen “Common Terminology Criteria for Adverse Events – CTCAE Version 4.03’e göre ototoksisite evrelendirmesi ise Tablo-3’de gösterilmiştir. Knight ve ark.’nın yaptığı çalışmada ise CTCAE evreleme sisteminin çocuklarda işitme kaybını yeterli ölçüde tespit edemediği farkedilmiştir (88).

Tablo-3. CTCAE ototoksisite evrelemesi.

Kriter	CTCAE Evresi
En az bir kulakta 8000 Hz de işitme eşiğinde $\geq$ 20 dB artış	1
En az bir kulakta 4000 Hz de işitme eşiğinde $\geq$ 20 dB artış	2
Tedavi gerektirecek düzeyde işitme kaybı varlığı ; en az bir kulakta 3000 Hz de işitme eşiğinde $\geq$ 20 dB artış	3
Kohlear implant için endikasyon varlığı	4

Lewis ve ark.'nın 2009 yılında osteosarkomlu hastalarda sisplatin tedavisi sonrasında yaptığı bir çalışmada ise fonksiyonel işitme kaybı skalası kullanılmıştır (89). Bu çalışmada da, 20 dB üzerinde işitme kaybının gerçekleştiği kabul edilmiştir (Tablo-4).

Tablo-4. Fonksiyonel işitme kaybı skalası.

Fonksiyonel evre	Kriter	Fonksiyonel kayıp
0	5000-8000 Hz de <20 dB işitme kaybı	Fonksiyonel işitme kaybı yok
1	4000 Hz üzerinde >=20 dB işitme kaybı	Müziksel algılamada zorluk yaşatabilecek hafif işitme kaybı
2	4000 Hz ve üzerinde >=20 dB işitme kaybı	Eğitimde zorluk çıkaracak düzeyde anlamlı işitme kaybı
3	2000 Hz ve üzerinde >=20 dB işitme kaybı	Yardımcı cihaz kullanımını gerektirecek ağır işitme kaybı

Chang ve ark.'nın 2010 yılında yaptığı çalışmada kullandıkları evreleme sistemi, platin bileşiklerine bağlı gelişen ototoksisiteyi saptamada kliniğe oldukça uyum göstermiştir (ilk olarak yüksek frekanslarda başlıyor ve artan hasar ile birlikte düşük frekanslarda da işitme kaybı görülüyor) (90). İşitme kaybını evre 1 ve 2 , “a” ve “b” olarak 2 alt kategoriye ayırarak, Brock ve CTCAE evreleme sistemlerine göre daha hassas hale getirmiştir (Tablo-5). Çalışma sonucunda genç erişkinler ve ergenlerde işitme kaybının Chang evre 2b’de işitme kaybı olmadan konuşma algılaması belirgin olarak etkilenmezken; Chang evre 2a işitme kayıplarında konuşma algılaması ciddi olarak etkilendiği görülmüş. Bu sebeple de evre 2a ve üzerinde işitme kaybı saptanan tüm hastalara yardımcı işitme cihazı önerilmiştir (90).

Tablo-5. Chang ototoksisite evrelemesi.

Sensörinöral işitme eşiği (dB)	Chang evresi
1000, 2000,4000 Hz de < 20 dB	0
6000-12000 Hz arası >=40 dB	1a
4000 Hz de >20 dB , <40 dB	1b
4000 Hz ve üzerinde >=40 dB	2a
4000 Hz altında >20 dB, <40 dB	2b
2000 veya 3000 Hz ve üzerinde > =40 dB	3
1000 Hz ve üzerinde >=40 dB	4

3. GEREÇ VE YÖNTEM :

3.1. Hastalar:

Bu çalışma, 1994-2012 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Onkoloji Bilim Dalı'nda malignite tanısı alıp sisplatin kemoterapisi almış veya sisplatin kemoterapisini tamamlanmış olan 50 hasta ve herhangi bir hastalığı olmayan 59 çocuk kontrol grubu alınarak yapıldı. Çalışmaya alınan hastalar, santral sinir sistemi tümörü, nöroblastom, nazofarinks karsinomu, germ hücreli tümör, osteosarkom ve hepatoblastom olguları arasından seçildi. Hastaların doğum tarihi, yaş, cinsiyet, tanı, SSS tümörü tipi, kümülatif sisplatin dozu, başka bir ototoksisite yaratabilecek ilaç kullanıp kullanmadığı (aminoglikozid), kranial radyoterapi alıp almadığı, aldıysa dozu, tedavi sırasında amifostin kullanıp kullanmadığı, sağaltım öncesinde ve sonrasında yapılan işitme testleri gibi bilgiler olgu rapor formlarına yazıldı. Çalışmaya alınma koşullarına uygun olanlar belirlenerek poliklinik dosyalarından telefon numaraları bulunarak hastalara ulaşıldı. Çalışmanın amacı anlatılarak katılıp katılmayacakları soruldu, kabul edenler odyometrik testlerinin ve genetik testlerinin yapılması amacıyla hastaneye çağrıldı. Olgulara veya anne-babalarına ayrıntılı olarak çalışmanın amacı ve sorumlulukları, sorumlu araştırmacı tarafından anlatıldı ve gönüllü olurları alındı.

Hastaların almış olduğu sisplatin tedavileri tümör tipine göre farklı dozlarda, kürlerde ve protokollerden oluşmaktaydı (Tablo-6) (Ek-1).

Çalışma için etik kurul onayı alındı (Ek-2). Çalışma, Türkiye Pediatrik Onkoloji Grubu Derneği Araştırma Projelerine Destek Programı tarafından desteklendi.

Bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alınan hastaların sisplatin tedavisi öncesinde ve sonrasında yapılan işitme testleri ve yöntemleri kaydedildi. Kemoterapi sonrasında işitme testi yapılmayan hastalar, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları uzman hekimi tarafından muayene edilerek işitme testi gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen hastalara saf ses odyometrisi, otoakustik emisyon ve beyin sapı işitsel yanıtı testleri uygulandı. Testlerin yorumlanmasında spesifik bir ototoksisite evreleme sistemi kullanılmadı. Brock evreleme sistemi, fonksiyonel işitme skalası ve Cragh ototoksisite evreleme sistemleri değerlendirildiğinde, 20dB üzeri işitme kaybı olarak kabul edilmesi, işitme kaybı olan hastaların gözden kaçmadığını göstermektedir. Bu sebeple çalışmamızdaki işitme eşiği 20 dB ve üzeri olanlar “işitme kaybı var”, 20 dB altında işitme eşiği olanlar ise “işitme kaybı yok” olarak değerlendirildi.

Değerlendirme her iki kulak için ayrı ayrı olarak yapıldı. Saf ses odiyometrisi yapılamayan, kooperasyon kurulamayan - uyumsuz olan hastalara ABR ve OAE testi yapıldı. ABR testinde ile klik uyararı verilerek işitme eşiği saptandı ve bu veriler kullanıldı. Otoakustik emisyon testinde ise 500, 1000, 2000, 4000 Hz de emisyon varlığı değerlendirildi, ve her frekans için sonuçlar “emisyon var” veya “emisyon yok” olarak kaydedildi.

Tablo-6. Tedavi protokolleri.

Kanser tipi	Tedavi protokolü
Santral sinir sistemi tümörleri	POG 9031
Osteosarkom	EOI, Mayo Pilot II
Germ hücreli tümörler	BEP
Nöroblastom	TPOG Ulusal Nöroblastom 2003
Nazofarinks karsinomu	NPC-91-GPOH
Hepatoblastom	SIOPEL

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarından, DNA tamir genleri olan ERCC1, ERCC2, XRCC1 genlerindeki polimorfizm analizi için 3 adet 2cc EDTA’lı tüpe kan örnekleri alındı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında -80 derecede saklandı.

DNA tamir genlerinde polimorfizm analizini gerçekleştirilirken ERCC1 geni rs25487, ERCC2 geni rs13181 ve XRCC1 geni de rs11615 gen polimorfizmi olarak isimlendirildi.

3.2. Moleküler Analiz :

Çalışma amacımıza uygun olarak seçilmiş olan hasta ve kontrol grubundan elde edilen kan örneklerinden DNA izolasyonu High Pure PCR DNA İzolasyon Kiti (Roche, NJ, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonunu takiben ilgili gen polimorfizmlerinin analizleri Light Cycler 1.5, 2.0 ve Light Cycler 480 cihazlarında gerçekleştirilmiştir (**Tablo-7.1**)

Tablo-7.1. Araştırmada kullanılan cihazlar.

Kullanılan Cihazlar	Marka
Buzdolabı	Siemens
Derin dondurucu (-20°C)	Uğur
Derin Dondurucu (-86 °C)	Revco
Light Cycler 1.5, 2.0 real-time PCR cihazı	Roche
Light Cycler 480 real-time PCR cihazı	Roche
Otomatik mikropipetler	Eppendorf (10, 20, 100, 200, 1000 µl' lik)
Mikrosantrifüj	Heraus
Biyokimya Cihazı	Olympus

DNA izolasyonu ve gen polimorfizmlerinin analizi sırasında kullanılan “high-pure” PCR DNA izolasyon kit içeriğini aşağıdakiler oluşturmaktaydı:

- *Binding Buffer*: 4M urea, 200 mM NaCl, 200 mM EDTA, pH 7.4, 250C
- *Proteinaz K* (sulandırıldıktan sonra -20 0C’ de saklanmıştır)
- *Inhibitor Removal Buffer*: 5 M guanidine–HCL, 20 mM Tris–HCL, pH 6.6, 250C (20 ml ethanol ilave edildikten sonra kullanılmıştır)
- *Wash Buffer*: 20 mM NaCl, 2 mM Tris–HCL, pH 7.5, 250C (80 ml ethanol ilave edildikten sonra kullanılmıştır)

- *Elution Buffer*: 10 mM Tris, pH 8.5, 250C
- *High Pure filtreli tüpler*
- *Collection tüpler*

Light Cycler cihazı ile gen polimorfizmi belirleme karışımları, gene özgül primerler ve hibridizasyon problemlerinden oluşmaktaydı :

- *rs25487 polimorfizmi* :
 - o Özgül primerleri, “Forward:5’-TACAGCCAGGTCCTAGGCCT -3’ - Reverse: 5’ - CAGCGGAGAACACAGGTGGT -3’” oluştururken,
 - o Hibridizasyon problemlerini, “Fluorescein:5’-TCACCGCATGCGTCGGCGGC , LCR640: 5’ LCR640 - CCCTCCCGGAGGTAAGGCCTCAC-PH-3’, Light Cycler-DNA Master Hibridizasyon Probu, MgCl₂, H₂O oluşturmaktaydı.
- *rs13181 polimorfizmi* :
 - o Özgül primerleri, “Forward:5’ - CATAAGACCTTCTAGCACCACC -3’, Reverse: 5’ - TCAGCCTGGAGCAGCTAGAA -3’” oluştururken,
 - o Hibridizasyon problemlerini, “fluorescein:5’- CCGCCCCACTCAGAGCTGCTGAGCAA-FL, LCR640: 5’ LCR640 - TGCTCTATCCTCTGCAGCGTCTCC –PH, Light Cycler-DNA master hibridizasyon probu, MgCl₂, H₂O oluşturmaktaydı.
- *rs11615 polimorfizmi* :
 - o Özgül primerleri, “Forward:5’ - CCTGTGGTTATCAAGGGTCAT-3’, Reverse: 5’ - GCAGAGCTCACCTGAGGAAC -3’” oluşturmaktayken,
 - o Hibridizasyon problemlerini, “Fluorescein:5’- AGCACATAGTCGGGAATTACGTCGCC –FL, LCR640: 5’ LCR640 - ATTCCCAGGGCACTTTGCGC –PH, LightCycler-DNA master hibridizasyon probu, MgCl₂, H₂O oluşturmaktaydı.

3.2.1. DNA İzolasyon Aşamaları:

EDTA'lı tüp içerisine alınan kan örneğinden 200 µl steril bir "Eppendorf tüp" içerisine alındı ve üzerine 200 µl Binding Buffer ve 40 µl Proteinaz K pipetlendi. Karışım, pipet ile iyice karıştırıldıktan sonra, daha önce 72°C' ye getirilmiş olan 'thermomixer' cihazında 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyonun sonunda karışıma 100 µl isopropanol eklendi ve pipet ile iyice karıştırıldı. Karışım bir "collection tüpün" içine yerleştirilmiş 'filtreli' tüp içine pipetlendi. Bir dakika boyunca 8.000 rpm'de santrifüj edildi. Altta biriken sıvı "collection tüp" ile birlikte atıldı. Filtre temiz bir "collection tüp" içine yerleştirildi. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör "removel buffer" pipetlendi. Bir dakika boyunca 8.000 rpm'de santrifüj edildi. Altta biriken sıvı "collection tüp" ile birlikte atıldı. Filtre temiz bir "collection tüp" içine yerleştirildi. Filtreli tüpün üzerine 500 µl "wash buffer" pipetlendi. Bir dakika boyunca 8.000 rpm'de santrifüj edildi. Altta biriken sıvı "collection tüp" ile birlikte atıldı. Filtre temiz bir "collection tüp" içine yerleştirildi. Filtreli tüpün üzerine tekrar 500 µl "wash buffer" pipetlendi. Bir dakika boyunca 8.000 rpm'de santrifüj edildi. "Collection tüpte" biriken sıvı döküldü ve filtreli tüp aynı "collection tüp" içine yerleştirildi. On saniye süresince 8.000 rpm'de santrifüj edildi. Altta biriken sıvı "collection tüp" ile birlikte atıldı. Filtre temiz bir "eppendorf tüp" içerisine yerleştirildi. Önceden Thermomixer'de 72°C' de ısıtılmış "elution buffer" dan" 200 µl filtreli tüp içine pipetlendi. Bir dakika boyunca 8.000 rpm'de santrifüj edildi. Filtreli tüp atıldı. İzole DNA içeren "Eppendorf tüp" üzerine hasta adı-soyadı ve numarası yazıldı.

3.2.2. Termal Profil:

Mutasyon belirleme kitlerinin içinde bulunan termal profil; denatürasyon, amplifikasyon, erime eğrisi analizi ve soğutma programlarından oluşmaktaydı ve Light Cycler cihazının yazılımına çalışma protokolü olarak kaydedilmiştir ve tüm SNP' ler için bu program uygulanmıştır (Tablo-7.2)

Denaturasyon aşamasında DNA çift zinciri sıcaklıkla ikiye ayrılır. Bu aşama boyunca hibridizasyon işlemi olmadığından floresan ölçümü de gerçekleşmemektedir. Annealing aşamasında iki oligonukleotid DNA zincirine bağlanır ve hibridize olurlar. Bu aşamada iki floresan boya birbirine çok yaklaşarak enerji yayılımı başlar ve farklı dalga boylarında ışıma yaparlar. Dolayısıyla iki prob arasında enerji transferi yapılarak bir floresan ışık elde edilmiş olur cihaz tarafından floresan ölçümü yapılır. Bu ölçüm maksimum ışımanın olduğu

annealing fazının sonunda yapılır. Bu fazdan sonra sıcaklık artar, hibridizasyon problemleri dna zincirinden ayrılır. Uzama aşamasından sonra oluşan ampliconlar çift zincirli olduklarından hibridizasyon problemleri ile hibridize olamazlar. Bu durumda, problemler birbirlerinden uzakta olacak, enerji transfer işlemi gerçekleşmeyecek ve floresan ışımaya yapılmayacaktır. Erime eğrisi analizi ile elde edilen erime eğrisi hangi sıcaklıkta floresan şiddetinde düşme olduğu açısından değerlendirilir ve genotiplendirme yapılabilir.

Tablo-7.2. Termal profil programı.

Program	Denaturasyon	Amplifikasyon			Melting			Cooling
Parametre								
Analiz modu	yok	Kuantifikasyon modu			Erime Eğrisi modu			Yok
Döngü	1	45			1			1
Hedef [°C]	95	95	55	72	95	50	85	40
Süre [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:45	00:00:00	00:00:30
Ramp.Rate [°C/s]	20	20	20	20	20	20	0,2	20
Acquisition Mode	Yok	yok	tek	yok	yok	yok	sürekli	yok

3.2.3. Master Karışım Hazırlanması:

İlgili SNP'ler için master karışım hazırlanırken,

- **rs11615:** H₂O, MgCl₂, forward primer, reverse primer, fluorescein probu, LCRed640 probu, Light Cycler-DNA master hibridizasyon probu, genomik DNA,
- **rs13181:** H₂O, MgCl₂, forward primer, reverse primer, fluorescein probu, LCRed640 probu, Light Cycler-DNA master hibridizasyon probu, genomik DNA,
- **rs25487:** H₂O, MgCl₂, forward primer, reverse primer, fluorescein probu, LCRed640 probu, Light Cycler-DNA master hibridizasyon probu, genomik DNA kullanıldı.

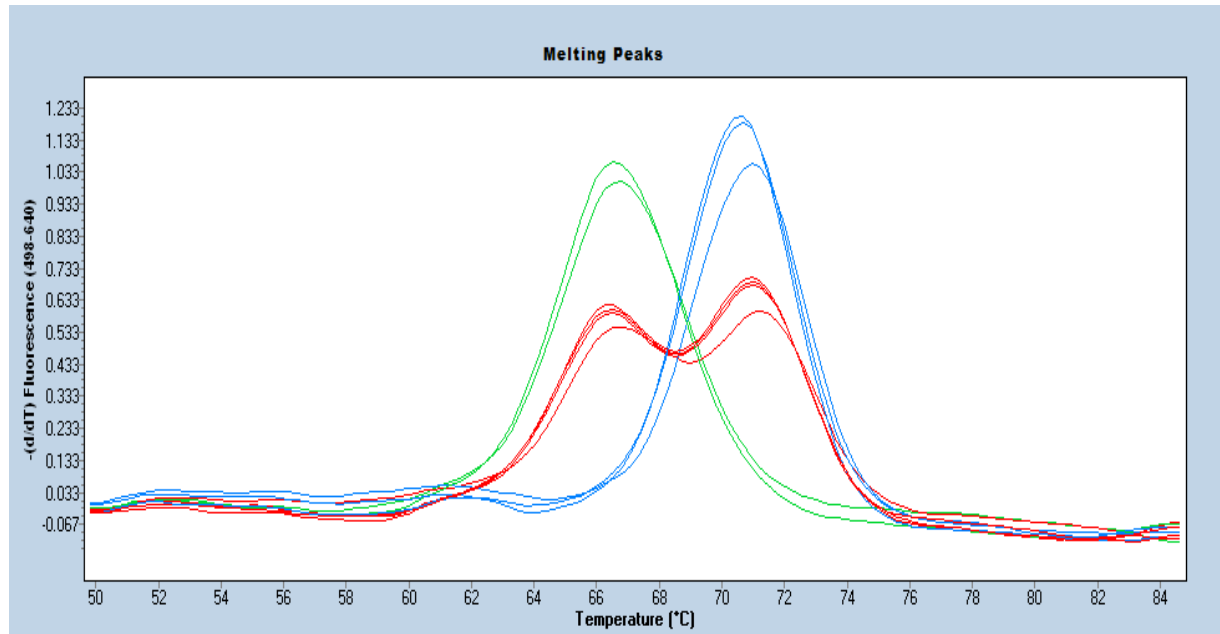
Master miks hazırlandıktan sonra kapiller tüpler içerisine aktararak kısa bir santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında kapiller tüpler reaksiyon tepsisine yerleştirilip Real Time PCR işlemine başlandı. Yaklaşık 1 saat sonra elde edilen veriler cihaz üzerinde analiz edilerek genotiplendirildi.

3.2.4. Sonuçların Değerlendirilmesi :

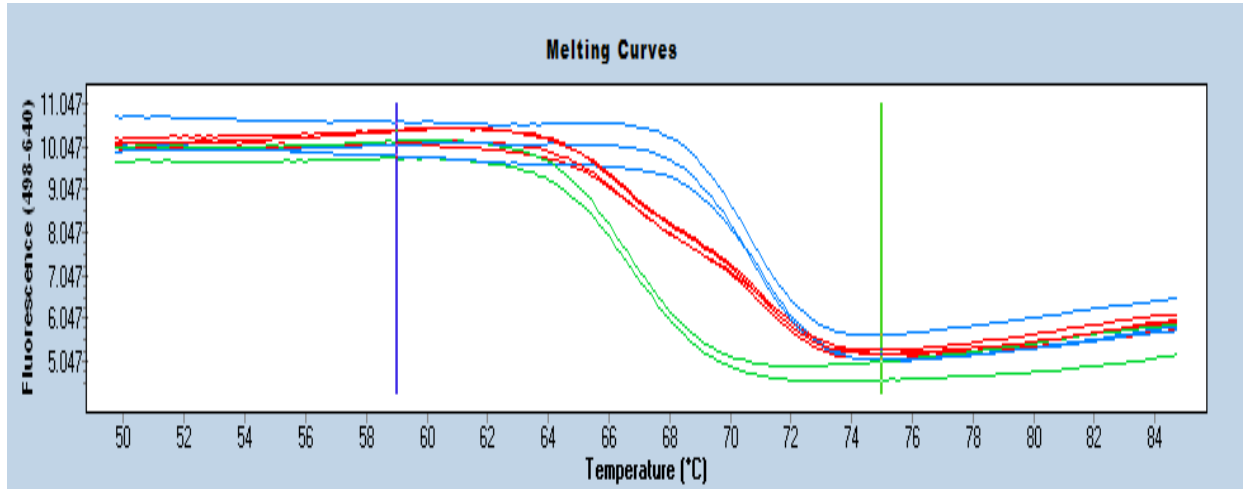
Light Cyler çalışması sonunda, erime eğrisi analizinde oluşan piklerin Tm derecelerine göre homozigot yabanıl, homozigot polimorfik ve heterozigot genotipler ayırt edildi. Heterozigot genotip iki farklı Tm derecesinde iki pike sahipken; homozigot polimorfik ve homozigot yabanıl genotipler belirli bir Tm derecesindeki tek bir pike sahiptirler (Grafik-1.1, Grafik-1.2, Grafik-2.1, Grafik-2.2).

rs25487 gen polimorfizmi için vahşi genotip, erime eğrisi analizi sonrasında $71.0 \pm 20C$ ’ de tek pik oluşması ile belirlenmiştir. Homozigot polimorfik genotipi meydana getiren her iki aleldeki nükleotid değişimi $66.0 \pm 20C$ ’ de tek pik oluşturmaları ile saptanmıştır. Heterozigot genotip ise $71.0 \pm 20C$ ve $66.0 \pm 20C$ ’ lerde iki pikin oluşması ile belirlenmiştir. Rs25487 gen polimorfizmi için vahşi tip, heterozigot ve homozigot genotip örneklerinin sonuçları Grafik 1.1’ de gösterilmektedir.

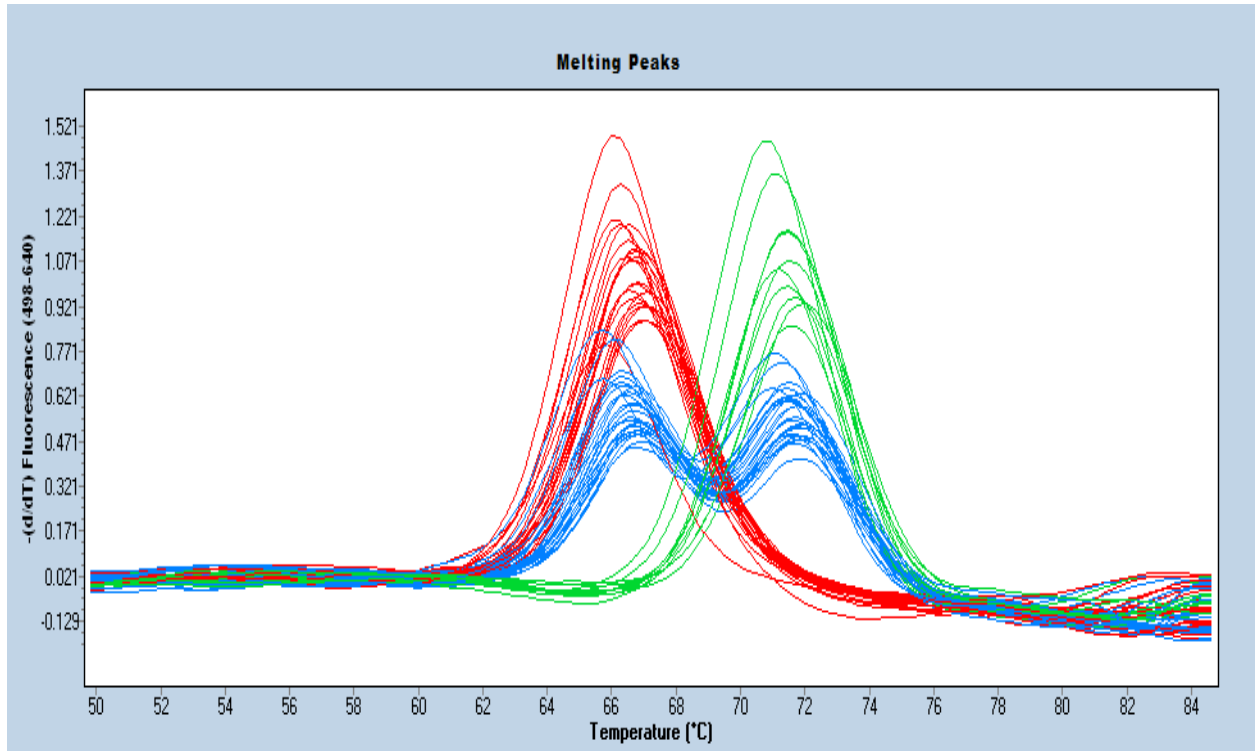
rs11615 gen polimorfizmi için yabanıl genotip, erime eğrisi analizi sonrasında $72.0 \pm 20C$ ’ de tek pik oluşması ile belirlenmiştir. Homozigot polimorfik genotipi meydana getiren her iki aleldeki nükleotid değişimi $67.0 \pm 20C$ ’ de tek pik oluşturmaları ile saptanmıştır. Heterozigot genotip ise $72.0 \pm 20C$ ve $67.0 \pm 20C$ ’ lerde iki pikin oluşması ile belirlenmiştir. Rs11615 gen polimorfizmi için yabanıl tip, heterozigot ve homozigot genotip örneklerinin sonuçları Grafik 2.1’ de gösterilmektedir (Grafik-1.1, Grafik-1.2, Grafik-2.1, Grafik-2.2).



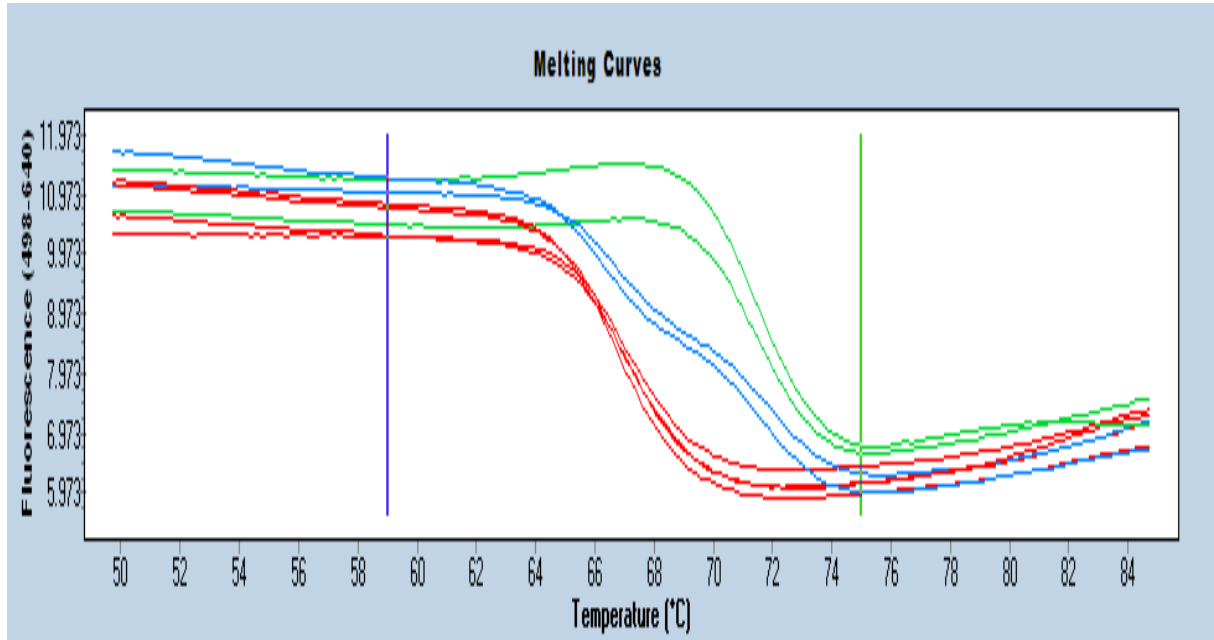
Grafik-1.1. rs25487 polimorfizmi yabanıl, heterozigot ve homozigot genotip sonucu. Yeşil pik polimorfik; mavi pik vahşi; kırmızı pikler ise heterozigot genotipi göstermektedir.



Grafik-1.2. rs25487 polimorfizmi genotip sonucu.



Grafik-2.1. rs11615 polimorfizmi yabanıl, heterozigot ve homozigot genotip sonucu. Kırmızı pik polimorfik; yeşil pik vahşi; kırmızı pikler ise heterozigot genotipi göstermektedir.



Grafik-2.2. rs11615 polimorfizmindeki erime eğrisi.

3.3. İstatistiksel Analiz:

Çalışmadan elde edilen verilerin analizi SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences) Paket programı ile Tıbbi Bilişim ve Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma ve yüzde dağılımlar verilmiştir. Sayısal olmayan verilerin karşılaştırılmasında çapraz tablolar (Crosstabs, Pearson Correlation) kullanılmış olup elde edilen sonuçlar % 95 ($p < 0.05$) anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR:

Bu çalışmaya 1994–2012 yılları arasında Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Onkoloji Bilim Dalı'nda 0-18 yaşları arasında tanı alan ve sisplatin kemoterapisini tamamlamış olan toplam 50 hasta ve 59 sağlıklı kontrol dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların 51'i (% 46.8) erkek iken 58'i (% 53.2) ise kız idi.. Bunların gruplara göre dağılımı Tablo-8.1'de görülmektedir. Buna göre hasta grubunun 21'i (% 42) erkek, 29'u (% 58) kız idi. Kontrol grubunun da 30'u (% 50.8) erkeklerden oluşmakta iken, 29'u (% 49.2) kızlardan oluşmaktaydı. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.356$).

Tablo-8.1. Hasta ve kontrol grubuna göre cinsiyetin dağılımı.

			Grup		
			Hasta grubu	Kontrol grubu	Toplam
Cinsiyet	Erkek	n	21	30	51
		%	42.0	50.8	46.8
	Kız	n	29	29	58
		%	58.0	49.2	53.2
Toplam		n	50	59	109
		%	100.0	100.0	100.0

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamalarına ilişkin değerler Tablo-8.2'de görülmektedir. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.590$). Hasta grubunun tanı alma zamanına göre yaş ortalaması ise 9.4 ± 5.2 yaş olarak saptandı. Tanı anında yaşı 5 yaş altında olanların sayısı 11 iken, tanı anında 5 yaş üzerinde olan 39 hasta mevcuttu. Hastaların çalışmaya dahil edilme zamanları en son aldıkları siplatin zamanına göre ortalama 47.4 ± 36.1 ay (3-136 ay) idi.

Tablo-8.2. Hasta ve kontrol grubu yaş ortalamaları.

	Yaş ortalaması $\pm$ SD	<i>p</i>
Hasta grubu	13.9 $\pm$ 5.9	0.590
Kontrol grubu	13.4 $\pm$ 3.7	

Hasta grubunda 16 hastanın tanısı (% 32) SSS tümörü, 13'ünün (% 26) osteosarkom, 7'sinin (% 14) germ hücreli tümör, 6'sının (% 12) nöroblastom, 3'ünün (% 6) hepatoblastom, 3'ünün (% 6) nazofarenks karsinomu, 2'sinin de (% 4) parotis mukoeptidermoid karsinomu tanısı mevcuttu (Tablo-8.3).

SSS tümörü tanısı almış olan 16 hastadan 9'u (% 56.2) medulloblastom, 2'si (% 12.5) pons gliomu, 2'si (% 12.5) anaplasik ependimom, 2'si (% 12.5) indifferansiye malign tümör ve 1'i de (% 6.2) glioblastom tanısı almıştı (Tablo-8.4).

Tablo-8.3. Hasta grubunda tanıların dağılımı.

	n	Yüzde (%)
SSS tümörü	16	32.0
Osteosarkom	13	26.0
Germ hücreli tümör	7	14.0
Nöroblastom	6	12.0
Hepatoblastom	3	6.0
Nazofarenks karsinomu	3	6.0
Parotis mukoeptidermoid karsinomu	2	4.0
Toplam	50	100.0

Tablo-8.4. Hasta grubunda SSS tümör tiplerinin dağılımı.

	n	Yüzde (%)
	9	56.2
	2	12.5
SSS tümör tipleri	2	12.5
	2	12.5
	1	6.2
Toplam	16	100.0

Çalışmaya dahil edilen hastalardan 32'si (% 64) radyoterapi almamış iken, 18'i (% 36) radyoterapi almıştı (Tablo-8.5).

Tablo-8.5. Hasta grubunda radyoterapi uygulaması.

	n	Yüzde (%)
	32	64.0
Radyoterapi	18	36.0
Toplam	50	100.0

Hasta grubunda kümülatif sisplatin dozu 75-1240 mg/m² arasında değişmekteydi. Hasta grubunun aldığı kümülatif sisplatin dozu ortalaması ise 1275.7 ± 183.1 mg/m² olarak saptandı. On üç hasta <200/m² kümülatif sisplatin dozu alırken, 31 hasta 200-400 mg/m² ve 6 hasta >400 mg/m² kümülatif sisplatin dozu almıştı.

Hasta grubunda 50 hastanın 28'inde işitme kaybı saptanmamış iken 22'sinde ise işitme kaybı tespit edildi (Tablo-8.6). Kontrol grubunda ise işitme kaybı saptanan hasta yoktu (p=0.000).

Tablo-8.6. İşitme kaybının olup olmamasına göre hastaların dağılımı.

		n	Yüzde (%)
İşitme kaybı	Yok	28	56
	Var	22	44
	Toplam	50	100.0

İşitme kaybı olan 22 hastanın 6'sında (% 27.3) ünilateral, 16'sında ise (% 72.7) bilateral işitme kaybı olduğu görüldü (Tablo-8.7).

Tablo-8.7. İşitme kaybı türüne göre hastaların dağılımı.

		n	Yüzde (%)
İşitme kaybı türü	Ünilateral	6	27.3
	Bilateral	16	72.7
	Toplam	22	100.0

İşitme kaybı olan ve olmayan hastalar çalışmaya dahil edilme yaşları, tanı yaşları ve aldıkları kümülatif sispatin dozu açısından değerlendirildi. İşitme kaybı olan ve olmayanlar arasında yaşları ve tanı yaşları ortalamaları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0.717$, $p=0.688$). İşitme kaybı olan grupta hastaların almış oldukları kümülatif sisplatin dozu ortalaması daha yüksek saptandı, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.362$) (Tablo-8.8).

Tablo-8.8. İşitme kaybına göre hastaların yaş, tanı yaş ve almış oldukları kümülatif sisplatin değerleri (ortalama $\pm$ SD).

	Hasta grubu		<i>p</i>
	İşitme kaybı var	İşitme kaybı Yok	
Yaş	14.2 $\pm$ 6.3	13.6 $\pm$ 5.8	0.717
Tanı yaşı	9.1 $\pm$ 5.2	9.6 $\pm$ 5.2	0.688
Kümülatif sisplatin dozu	319.8 $\pm$ 244.4	241.1 $\pm$ 107.6	0.363

Kümülatif sisplatin dozu 400 mg/m² üzerinde olan toplam 6 hasta mevcuttu. Bu hastaların dördünde işitme kaybı gelişmişti. Ancak 400 mg/m² altında ve üstünde sisplatin alan hastalar değerlendirildiğinde; işitme kaybı oranları açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0.233$) (Tablo-8.9).

Tablo-8.9. Kümülatif sisplatin dozu ile işitme kaybı arasındaki ilişki.

		Kümülatif sisplatin dozu		<i>p</i>
		<400 mg/m ²	>400mg/m ²	
İşitme kaybı	Yok	26	2	0.233
	Var	18	4	
	Toplam	44	6	

En son aldıkları sisplatin dozundan geçen süreye göre hastalar değerlendirildiğinde; 18 hastada en son sisplatin dozundan beri 5 yılı aşkın süre geçmişti. Bu 18 hastanın dokuzunda işitme kaybı mevcuttu. En son platin dozundan 5 yıldan daha az süre geçen grupta ise 13 hastada işitme kaybı varken, 19 hastada işitme kaybı gözlenmedi. En son platin dozundan 5

yıldan daha az veya daha uzun zaman geçmesine göre hastalar değerlendirildiğinde işitme kaybı açısından iki grup arasında fark yoktu ($p=0.522$) (Tablo-8.10).

Tablo-8.10.Sisplatin tedavi sonrası geçen süre ile işitme kaybının değerlendirilmesi

		< 5 yıl	>5 yıl	<i>p</i>
İşitme kaybı	Yok	18	9	0.522
	Var	13	9	
	Toplam	32	18	

Tüm hastalar içinde 37'si (% 74) amifostin almamış iken, 13'ü (% 26) amifostin almıştı (Tablo-8.11). İşitme kaybı gelişen 22 hastanın 6'sında (% 27.3) amifostin kullanımının olduğu, 16 (% 72.7) hastanın amifostin tedavisi almadığı görüldü ($p=0.334$). Hastaların tedavileri sırasında almış oldukları aminoglikozidler de ototoksositeye sebep olmaktadır. Bu sebeple çalışmaya dahil edilen hastaların aminoglikozid alımları incelendi. Hastalardan 37'si (%74) aminoglikozid almamış iken 13'ü (%26) aminoglikozid almıştı ($p=0.856$) (Tablo-8.11).

Tablo-8.11. Hasta grubunda amifostin ve aminoglikozid kullanımı.

		n	Yüzde (%)
Amifostin alımı	Yok	37	74.0
	Var	13	26.0
Aminoglikozid Alımı	Yok	37	74.0
	Var	13	26.0

Ayrıca, işitme kaybı olan ve olmayan hastalar, tanı anında 5 yaş altında olup olmaması, radyoterapi alıp almamaları, tanıları, SSS tümör tanıları ve cinsiyet dağılımları açısından değerlendirildi. İşitme kaybı olan ve olmayan gruplar arasında bu parametreler

açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0.912, 0.962, 0.276, 0.672 ve 0.196). İştme kaybı ünilateral olanlar ile bilateral olanlar sisplatin kümülatif doz ortalamaları açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.912$).

Çalışmaya dahil edilen hastaların kan örneklerinde DNA tamir genleri olan ERCC1, ERCC2 ve XRCC1 gen polimorfizmleri çalışıldı. Bu genlerde heterozigot / homozigot mutasyon olup olmadığı analiz edildi.

Hasta ve kontrol grupları ERCC1, ERCC2 ve XRCC1 genleri açısından “wild”-vahşi tip, heterozigot mutant ve homozigot mutant olarak ayrıldığında; her üç gen için de hasta ve kontrol grupları benzer saptandı (p değerleri sırasıyla 0.426, 0.751 ve 0.913) (Tablo-8.12, Tablo-8.13, Tablo-8.14) Hasta ve kontrol grupları ERCC1, ERCC2 ve XRCC1 genleri açısından normal (vahşi tip) ve en az bir mutant allel taşıma (heterozigot veya homozigot) bakımından değerlendirildiğinde; hasta ve kontrol grupları arasında yine benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0.243, 0.672 ve 0.714).

Hasta grubunda, 19 hastada (% 38) ERCC1 geninde mutasyon saptanmamış olup (wild-vahşi tip (GG)) 24’ünde (% 48) heterozigot mutasyon (GG→AG) ve 7’sinde de (% 14) homozigot mutasyon (GG→AA) tespit edildi (Tablo-8.12).

Tablo-8.12. ERCC1 geninde mutasyon olup olmama durumuna göre dağılım.

	Hasta (%)	Kontrol (%)	p
Vahşi (wild) tip (GG)	19 (38)	29 (49.2)	0.426
Heterozigot mutasyon (GG→AG)	24 (48)	25 (42.3)	
Homozigot mutasyon (GG→AA)	7 (14)	5 (8.5)	
Toplam	50 (100)	59 (100)	

Hasta grubunda, ERCC2 genindeki mutasyon analizi sonucunda hastaların 7'sinde (% 14) mutasyon saptanmamış olup 20'sinde (% 40) heterozigot mutasyon ve 23'ünde de (% 46) homozigot mutasyon tespit edildi (Tablo-8.13).

Tablo-8.13. ERCC2 geninde mutasyon olup olmama durumuna göre dağılım.

		Hasta (%)	Kontrol (%)	<i>p</i>
ERCC2	Vahşi (wild) tip (GG)	7 (14)	10 (17)	0.751
	Heterozigot mutasyon (GG→TG)	20 (40)	26 (44)	
	Homozigot mutasyon (GG→TT)	23 (46)	23 (39)	
	Toplam	50 (100)	59 (100)	

Hasta grubunda, XRCC1 genindeki mutasyon analizi sonucunda hastaların 14'ünde (% 28) mutasyon saptanmamış olup 27'sinde (% 54) heterozigot mutasyon ve 9'unda da (% 18) homozigot mutasyon tespit edildi (Tablo-8.14).

Tablo-8.14. XRCC1 geninde mutasyon olup olmama durumuna göre dağılım.

		Hasta (%)	Kontrol (%)	<i>p</i>
XRCC1	Vahşi (wild) tip (CC)	14 (28)	18 (30.5)	0.913
	Heterozigot mutasyon (CC→CT)	27 (54)	32 (54.2)	
	Homozigot mutasyon (CC→TT)	9 (18)	9 (15.3)	
	Toplam	50 (100)	59 (100)	

Hasta grubunda işitme kaybı ile DNA tamir gen mutasyonları arasındaki ilişki araştırıldı. İşitme kaybı olmayan hastaların 8'inde (% 28.6) ERCC1, 3'ünde (% 10.7) ERCC2, 10'unda (% 35.7) XRCC1 gen mutasyonu olmadığı görüldü. İşitme kaybı olmayan hastaların 15'inde (% 53.5) heterozigot, 5'inde de (% 17.9) homozigot ERCC1 mutasyonu tespit edilmiş iken, işitme kaybı olan hastaların 9'unda (% 40.9) heterozigot, 2'sinde de (% 10) homozigot ERCC1 mutasyonu saptandı. Aynı şekilde, işitme kaybı olmayan hastaların 11'inde (% 39.3) heterozigot, 14'ünde de (% 50.0) homozigot ERCC2 gen mutasyonu varken, işitme kaybı olan hastaların 9'unda (% 40.9) heterozigot, 9'unda de (% 40.9) homozigot ERCC2 gen mutasyonu görüldü. XRCC1 gen mutasyonu ise, işitme kaybı olmayan hastaların 14'inde (% 50.0) heterozigot, 4'ünde de (% 14.3) homozigot olarak görülürken, işitme kaybı olan hastaların 13'sinde (% 59.1) heterozigot, 5'inde de (% 22.7) homozigot şekilde saptandı. Her üç DNA tamir gen mutasyonları (ERCC1, ERCC2, XRCC1) ile işitme kaybı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo-8.15, Tablo-8.16, Tablo-8.17).

Tablo-8.15. Hasta grubunda işitme kaybı olup olmama durumuna göre ERCC1 mutasyonları.

		İşitme Kaybı		Toplam	P
		Yok	Var		
ERCC1	Vahşi (wild) tip	n	8	11	19
	(GG)	%	28.6	50	38
	Heterozigot mutasyon	n	15	9	24
	(GG→AG)	%	53.5	40.9	48
	Homozigot mutasyon	n	5	2	7
	(GG→AA)	%	17.9	10	14
	Toplam	n	28	22	50
		%	100.0	100.0	100.0

Tablo-8.16. Hasta grubunda işitme kaybı olup olmama durumuna göre ERCC2 mutasyonları.

			İşitme Kaybı		Toplam	P
			Yok	Var		
ERCC2	Vahşi (wild) tip	N	3	4	7	0.619
	(GG)	%	10.7	18.2	14	
	Heterozigot mutasyon	N	11	9	20	
	(GG→TG)	%	39.3	40.9	40	
	Homozigot mutasyon	N	14	9	23	
	(GG→TT)	%	50	40.9	46	
	Toplam	N	28	22	50	
		%	100.0	100.0	100.0	

Tablo-8.17. Hasta grubunda işitme kaybı olup olmama durumuna göre XRCC1 mutasyonları

			İşitme Kaybı		Toplam	p
			Yok	Var		
XRCC1	Vahşi (wild) tip	N	10	4	14	0.266
	(CC)	%	35.7	18.2	28	
	Heterozigot mutasyon	N	14	13	27	
	(CC→CT)	%	50.0	59.1	54	
	Homozigot mutasyon	N	4	5	9	
	(CC→TT)	%	14.3	22.7	18	
	Toplam	N	28	22	50	
		%	100.0	100.0	100.0	

5. TARTIŞMA

Günümüzde çoklu-ilaç içeren yoğun kemoterapi şemaları, radyoterapi ve cerrahi ile çocukluk çağı kanserlerinde yüksek yaşam hızları elde edilmektedir. Kanser tedavisi özellikle hala büyümekte ve gelişmekte olan çocuklarda birçok organ sistemlerinde ciddi olumsuz etkilere sebep olur. Onkolojik tanı alan çocukların tedavi planlamaları yapılırken kanserden iyileştirme amacı yanı sıra, erken ve geç toksisiteler ve yaşam kalitesi de dikkate alınmalıdır. Çocukluk çağı kanserinden hayatta kalanların geç yan etkiler açısından uzun dönemde izlenmelidirler.

Sisplatin, alkilleyici benzeri ajan olarak değerlendirilir. Sisplatin, hem erişkin, hem de çocuklarda kullanılabilen platin bazlı bir antineoplastik ajandır. Pek çok organ kanserlerinin tedavisinde kullanılabildiği gibi baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde de günümüzde en çok kullanılan ve en etkili kemoterapötik ajan olma özelliğini korumaktadır (39). Sisplatin, santral sinir sistemi tümörleri, osteosarkom, nöroblastom, germ hücreli tümörler, nazofarinks karsinomu, karaciğer tümörleri, adrenokortikal kanser ve bazı gastrointestinal kanser türlerinde tek başına ya da kombine sağaltım olarak kullanılmaktadır. Sisplatin kullanımı sonrasında bulantı, kusma, nefrotoksisite, ototoksisite ve periferik nöropati gibi komplikasyonlar meydana gelebilmektedir. Bu komplikasyonlar sisplatin kullanımını sınırlandırmaktadır. Bulantı, kusma gibi yan etkileri antiemetik tedavi ile; nefrotoksisite ise güçlü hidrasyon rejimleri ile önlenbilmesine rağmen sisplatinin sebep olduğu ototoksisite için henüz uygun bir tedavi yaklaşımı bulunmamaktadır (1-5).

Çocuklarda sisplatine bağlı yüksek frekansta işitme kaybı ilk defa McHaney ve ark. tarafından bildirilmiştir (4). Platin bileşikleri arasında ilk olarak kullanılmaya başlayan sisplatin molekülü en ototoksik platin bileşiği olarak tanımlanmıştır (51). Bazı hastalarda kulak çınlaması şeklinde semptoma sebep olan ototoksisite sensörinöral işitme kaybı şeklindedir. Öncelikle yüksek frekanslardan başlar ve artan ilaç uygulaması ile birlikte düşük frekanslarda da işitme kaybı izlenir. Sisplatine bağlı ototoksisite sıklıkla bilateral, geri dönüşümsüz ve yüksek frekanslarda sensörinöral işitme kaybı şeklinde olmaktadır (7). Bu önemlidir, çünkü platine bağlı işitme kaybı sonucunda, konuşma ve dil gelişimi bozulabilir. Bu durum çocuğun öğrenme ve okul performansını, psikososyal ve duygusal statüsünü, hayat kalitesini etkileyebilir (1-6, 7, 9, 26). Tekrarlayan dozlarda ve kümülatif yüksek doz sisplatin alan hastaların ($\geq 400 \text{ mg/m}^2$) % 50'sinden fazlasında (bazı çalışmalarda hastalarda

ototoksisite sıklığı % 88'e kadar ulaşmaktadır) ototoksisite gelişmektedir (1). İşitme kaybı sadece kemoterapi alırken değil, tedaviden yıllar sonra da gelişebilmektedir (88,91).

Sisplatine bağlı ototoksisite gelişimini etkileyen faktörler çok sayıda araştırmada incelenmiştir. Kullanılan ilacın kümülatif dozu ve daha yüksek miktarda tekrarlayan dozlar ile ilişkilidir (6, 7, 8,9,11,14). Beş yaş altındaki hastalar, renal hastalık varlığı, tedavi öncesinde ve sonrasında kranial radyoterapi uygulaması, aminoglikozid benzeri ototoksik ilaç ya da furosemid kullanımı, bolus uygulama önemli yer tutmaktadır (7, 8,10,11,12,13). Ayrıca hastaların genetik varyantları ile sisplatine bağlı ototoksisite arasında da ilişki saptanmıştır (15,16,17).

Platin bazlı kemoterapötik kullanan hastalarda klinik olarak asemptomatik olmasına rağmen, odyolojik testlerle belli derecedeki işitme bozukluğu tespit edilebilmektedir (1-6, 7). Bu nedenle, ototoksisitenin tedavi sırasında ve sonrasında izlenmesi, işitme kaybının erken dönemde saptanmasına yardımcı olabilir. Fakat, bir çok merkezde bu rutin olarak yapılan bir tetkik değildir. Hastaların tedavi öncesi bazal odyolojik değerlendirmeleri de olması nedeniyle, tedavi sonrasıyla karşılaştırmak açısından önemlidir. Çalışmamız bunun sağlanmış olması nedeniyle değerlidir.

Çalışmamızda 22 hastada (% 44) işitme kaybı saptanmıştır. Daha önceki çalışmalarda, sisplatin alan hastaların % 42–70'inde ototoksisite bildirilmiştir (6-8, 26). Literatürde, hastanın tanısının beyin tümörü olması ve radyoterapi uygulanmasının ototoksisite için risk faktörü olduğu bildirilmektedir (26, 32-35). Ancak çalışmamızda işitme kaybı gösteren ve göstermeyen hasta gruplarında beyin tümörü tanısı ve radyoterapi uygulanması açısından fark saptanmamıştır ($p= 0.672$ ve $p= 0.597$).

Bertolini ve ark. hastaların takibi sırasında platine bağlı yüksek frekanslı işitme kaybında ilerleme bildirmiştir (91). Çalışmamızda, son sisplatin dozundan 5 yıl sonra odyolojik değerlendirmesi yapılan hastaların 9'unda işitme kaybı saptanmış olup bu durum platine bağlı ototoksisitenin kalıcı özelliğini desteklemektedir. Ancak çalışmamızda, en son sisplatin dozundan 5 yıldan daha az veya daha uzun zaman geçmesine göre hastalar değerlendirildiğinde işitme kaybı açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p= 0.273$). Bu hastalarda tekrarlı ölçümlerimiz olmadığından uzun dönem takipte yüksek frekanslı işitme kaybının kötüleşmesi konusunda bir yorum yapamamaktayız.

Literatürde, çocuklarda sisplatine bağlı ototoksisite için yüksek kümülatif veya bireysel sisplatin dozu, baş veya boyun radyoterapisi uygulaması ve diğer ototoksik ilaçların kullanımını içeren birkaç risk faktörü tanımlanmıştır (8, 13, 26,37,38) . Yüksek kümülatif sisplatin dozu ile tedavi edilmiş hastalarda ototoksisite daha sık ve şiddetli olmasına rağmen, çalışmamızda işitme kaybı olan ve olmayan hasta grubunda kümülatif sisplatin dozu her iki grupta benzer bulunmuştur. Kümülatif sisplatin dozu 400 mg/m^2 altında ve üstünde hastalar değerlendirildiğinde, işitme kaybı oranları açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0.341$). Aynı şekilde radyoterapi uygulaması ve diğer ototoksik ilaçların (aminoglikozid) kullanımı ile işitme kaybı arasında da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0.597$ ve $p=0.397$).

Literatürde, çocuklarda sisplatine bağlı ototoksisite için tanı yaşının küçük olması, risk faktörü olarak bildirilmiştir (6,7,8,26). Ancak bazı çalışmalarda, sisplatin ototoksisitesinin daha yüksek ortalama yaş gruplarında da geliştiği gösterilmiştir (6, 7, 37). Li ve ark. 5 yaşından küçük çocukların özellikle ototoksisiteye yatkın olduğunu bildirmiştir (8). Bizim çalışmamızda, işitme kaybı olan ve olmayan hastaların yaş ortalamaları benzer olup 5 yaş altında üstüne göre işitme kaybı açısından fark saptanmamıştır ($p=0.284$).

Daha önce cinsiyetin sisplatine bağlı ototoksisite üzerine önemli bir etkisi bildirilmemiştir (8,11, 26). Bizim çalışmamız da, bunu destekler nitelikte olup işitme kaybı gelişen hastalar ile gelişmeyen hastalar arasında cinsiyet yönünden fark saptanmamıştır ($p=0.158$)

Daha önceleri sadece radyoterapi yerine sisplatinli radyoterapi ile tedavi edilen nazofarenks karsinomlu hastalarda daha fazla işitme bozukluğu gözlenmiştir (92). Gupta ve ark.'ları sisplatin tedavisi alan 39 germ hücreli tümör tanılı çocuğun 5'inde (% 12.8) ototoksisite geliştiğini bildirmiştir ki, bunların sadece birinde (% 2.5) radyoterapi uygulanmıştır. Bu yayında intrakraniyal germ hücreli tümör tanısı almış hasta bulunmamaktadır (93). Bizim çalışmamızda ise hastaların primer tanıları ile işitme kaybı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0.672$)

Lewis ve ark., ortanca yaşları 14 (3-18) olan 36 osteosarkomlu hasta ile yapılan bir çalışmada, hastaların %41.6'sında Brock evrelerine göre herhangi bir evrede işitme kaybı olduğunu, işitme kaybının artan doz başına uygulanan sisplatin ve kümülatif sisplatin dozu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (94). Bizim çalışmamızda ise, osteosarkom tanılı 13 hastanın

6'sında işitme normal iken 7 hastada işitme kaybı saptanmıştır. Ancak bu bulgular tüm hasta grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark elde edilememiştir ($p=0.672$). Bunun sonucunda da işitme kaybı ile kümülatif doz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Brock evre 2 ve üzeri işitme kayıpları (4000 Hz ve daha düşük frekansta işitme kaybı) özellikle konuşmayı algılama ve dil gelişimi konusunda sorun yaşanmasına neden olmaktadır (95). 2000-4000 Hz özellikle konuşma seslerinin çoğunun olduğu frekans aralığıdır. Yüksek frekanslar ise özellikle konuşmadaki bazı sessiz harflerle ilişkilidir (96). Bu nedenle Brock evre 2, evre 3 ve evre 4 işitme kaybı olan çocuklarda dil gelişimi olumsuz şekilde etkilenebilir (97). Evre 3 ve 4 olan hastaların ise kesinlikle yardımcı işitme cihazı kullanmaları önerilmektedir. Bu konu, özellikle, çocuk dil ve konuşma gelişiminin devam etmekte olduğu küçük yaşlarda ise çok önemlidir.

Yakın dönemde yapılan çalışmalarda, sisplatin ototoksitesinin patofizyolojisi daha iyi aydınlatılmış ve bu sayede sisplatin ototoksitesinin geri dönüşümlü olabileceği ileri sürülmüştür (98). Sisplatin ototoksitesinin düzelebildiği birçok çalışmada gösterilmiştir (99). Strial hasardan dış tüylü hücre ölümüne giden süreç net olarak aydınlatılamamakla birlikte, bu kademeli sürecin sisplatin ototoksitesinin bazı hayvan modelleri ve olgu sunumlarında belirtildiği gibi, geri dönüşümlü olabileceği akılda tutulmalıdır. Sıddık ve ark. tarafından yapılan çalışmada marjinal hücrelerin platin birikimi ve DNA hasarını azaltmaya yönelik tamir mekanizmaları olduğu gösterilmiştir (100). Sisplatine bağlı olarak gelişen akut işitme kaybının, geri dönüşümlü olabilen strial hasarlanmaya bağlı iken dış tüylü hücrelerin hasarlanmasının nihai işitme kaybının derecesini ve iyileşme olup olmayacağını belirleyen faktör olduğu ileri sürülmüştür (98). Ototoksitesinin tamir mekanizmalarına yeterli süre tanınırsa geri dönüşümlü olabileceği düşünülmektedir (98). Çalışmamız longitudinal olmamakla birlikte son sisplatin dozundan 5 yıl ve daha fazla süre geçen hastalardaki işitme kaybı oranının, 5 yıldan daha kısa olan grupla benzer olması nedeniyle işitme kaybının her iki gruba da kalıcı olduğunu düşündürmektedir.

Platin ototoksitesi gelişmesinde genetik faktörler ve bireysel duyarlılık da önemlidir. Platin ototoksitesi gelişmesinde pek çok gen polimorfizminin rolü olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, sisplatin ototoksitesine bireysel duyarlılık değişkenlik göstermektedir. Özellikle mitokondriyal mutasyonların genetik yatkınlığa sebep olduğu düşünülmektedir (72).

DDIT4, NEK2, MYC genleri, Megalin için tek gen polimorfizmi, Glutasyon S Transferaz gen polimorfizmi, Tiyopürin-S-Metil Transferaz (TPMT; rs12201199), Katekol-O-Metil Transferaz (COMT; rs9332377), mitokondriyal DNA mutasyonları, GJB2 (Connexin'i kodlamaktadır) ve SLC26A4 (Pendrin'i kodlamaktadır) mutasyonları, ERCC2, XPC, XPA, ERCC1, ERCC4 ve ERCC5 genlerindeki tek gen polimorfizmleri sisplatine bağlı gelişen ototoksositeyle ilişkili bulunmuştur (1/48,51–53). Caronia ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, osteosarkom nedeniyle sisplatin tedavisi gören 91 hastada ERCC2, XPC, XPA, ERCC1, ERCC4 ve ERCC5 genlerinde 8 SNP (tek nükleotid polimorfizmi) araştırılmıştır (85). DNA tamir genleri, DNA hasarı olduğu zaman devreye giren enzimlerin salgılanmasını sağlamaktadır. DNA tamir genlerini kodlayan ERCC1 (Excision Repair Cross-Complementing Group 1) ve ERCC2 genleri ile yapılan çalışmalarda, bunlarda meydana gelen mutasyon sonucunda DNA hasarında ve komplikasyonlarda artış olduğu gösterilmiştir (86,87). Endonükleaz olan ERCC1, DNA tamir mekanizması olan nükleotid eksizyon tamir mekanizmasında (NER) rol oynamaktadır. DNA hasarı olduğu zaman, DNA tamir mekanizması devreye girer; eğer hasar geri dönüşümsüz ise apoptozis gerçekleşir. ERCC1 ve diğer NER enzimlerinin yüksek miktarda sentezlenmesi DNA tamir mekanizmasının işlevselliğini artırmaktadır (86,87).

Çalışmamızda ERCC1 geninin rs25487, ERCC2 geninin rs13181 ve XRCC1 geninin rs11615 gen polimorfizmleri hasta ve kontrol gruplarında bakılmıştır. Her üç gen için de, heterozigot veya homozigot mutant gene sahip olma açısından hasta ve kontrol grupları oranları benzer bulunmuştur ($p=0.165$, $p=0.439$ ve $p=0.471$). Hasta grubu kendi içinde işitme kaybı olanlar ve olmayanlar olarak değerlendiriliğinde ise yine bu genlerdeki mutasyonlar açısından fark olmadığı görüldü ($p=0.121$, $p=0.450$, $p=0.171$). Sağlıklı kontrol grubunda ise bu genlerin polimorfizm dağılımları sırasıyla ERCC1 için % 42.3 heterozigot, % 8.5 homozigot; ERCC2 için % 44 heterozigot, % 39 homozigot; XRCC1 için ise %54.2 heterozigot, % 15.3 homozigot mutasyon bulunmuştur.

Ülkemizde sağlıklı popülasyonda DNA tamir genlerinin sıklığına yönelik yapılan bir çalışmada, Mersin'de 75 kişide XRCC1 gen polimorfizm dağılımı % 88'inde vahşi tip, %12'sinde ise heterozigot polimorfizm bulunmuştur (76). Bizim çalışmamız ise sağlıklı çocuk popülasyonunda XRCC1 yanısıra diğer tamir genleri olan ERCC1 ve ERCC2 polimorfizm dağılımı hakkında Türkiye'de ilk kez bilgi vermiştir.

6. SONUÇ

- Bu çalışmaya, 1994–2012 yılları arasında Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Onkoloji Bilim Dalı'nda 0-18 yaşları arasında tanı alan ve sisplatin kemoterapisini tamamlamış olan toplam 50 hasta ve 59 sağlıklı kontrol dahil edildi.
- Hasta grubunda 16 hastanın tanısı (% 32) SSS tümörü, 13'ünün (% 26) osteosarkom, 7'sinin (% 14) germ hücreli tümör, 6'sının (% 12) nöroblastom, 3'ünün (% 6) hepatoblastom, 3'ünün (% 6) nazofarenks karsinomu, 2'sinin de (% 4) parotis mukoeypidermoid karsinomu idi.
- Hasta grubunda 50 hastanın 22'sinde ise işitme kaybı tespit edildi.
- Hasta grubunun aldığı kümülatif sisplatin dozu ortalaması $1275.7 \pm 183.1 \text{ mg/m}^2$ olarak saptandı. Kümülatif sisplatin dozu 75-1240 mg/m^2 arasında değişmekteydi. İşitme kaybı olan ve olmayan hasta grubunda kümülatif sisplatin dozu her iki grupta benzer bulundu.
- İşitme kaybı olan ve olmayan hastaların yaş ortalamaları benzer olup 5 yaş altında üstüne göre işitme kaybı açısından fark saptanmadı.
- İşitme kaybı gelişen hastalar ile gelişmeyen hastalar arasında cinsiyet yönünden fark saptanmadı.
- İşitme kaybı olan ve olmayanlar arasında tanı yaşları ortalamaları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.
- En son platin dozundan 5 yıldan daha az veya daha uzun zaman geçmesine göre hastalar değerlendirildiğinde işitme kaybı açısından iki grup arasında fark yoktu.
- İşitme kaybı olan ve olmayan hastalar, tanı anında 5 yaş altında olup olmaması, radyoterapi alıp almamaları, aminoglikozid kullanımı açısından değerlendirildiğinde işitme kaybı olan ve olmayan gruplar arasında bu parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- Platin ototoksisitesi gelişmesinde genetik faktörler ve bireysel duyarlılık da önemlidir. Platin ototoksisitesi gelişmesinde pek çok gen polimorfizminin rolü olduğu bildirilmektedir. Hasta ve kontrol grupları ERCC1, ERCC2 ve XRCC1 genleri açısından “wild”-vahşi tip, heterozigot mutant ve homozigot mutant olarak ayrıldığında; her üç gen için de hasta ve kontrol grupları benzer saptandı.

EK-1

TEDAVİ PROTOKOLÜ-1:

Medülloblastom Sağaltım Protokolü (POG 9031) :

Kemoterapi:

1., 4., 7. hafta

Sisplatin	90 mg/m ²	6 saatlik infüzyon	1.gün
Etoposid	150 mg/m ²	1 saatlik infüzyon	3-4.günler

10., 14., 18., 22., 26., 30., 34., 38. haftalar

Vinkristin	2 mg/m ²	i.v. bolus	1.gün
Siklofosamid (MESNA ile)	1000 mg/m ²	1 saatlik infüzyon	1-2.günler

Radyoterapi:

Cerrahiden hemen sonra veya 3 kür Sisplatin + Etoposid sonrası verilir.

TEDAVİ PROTOKOLÜ-2:

Osteosarkom Sağaltım Protokolleri:

1)European Osteosarcoma Intergroup Protokolü (EOI)

Doksorubisin	25 mg/m ²	i.v. bolus	1-3.günler
Sisplatin	100 mg/m ²	i.v. infüzyon	1.gün

(Hastanemizde 1995 yılı öncesi olgularda kullanılmıştır)

3 haftada 1 verilir. Neoadjuvan 3 kür sonrası cerrahi uygulanır. Adjuvan 3 kür daha verilir

2)Mayo Pilot II Protokolü

Pre-operatif kemoterapi:

Doksorubisin	25 mg/m ² /gün x 3	18 saatlik infüzyon	0, 5, 10. haftalar
İfosfamid	1.8 gr/m ² /gün x 5	1 saatlik infüzyon	0, 5. haftalar
Sisplatin	120 mg/m ² /gün	6 saatlik infüzyon	10. hafta
Metotreksat	12 gr/m ² /gün	6 saatlik infüzyon	3, 4, 8, 9, 13, 14. haftalar

Cerrahi: 15. hafta

Post operatif kemoterapi:

Doksorubisin	25 mg/m ² /gün x 3	18 saatlik infüzyon	17, 22, 27. haftalar
İfosfamid	1.8 gr/m ² /gün x 5	1 saatlik infüzyon	17, 22, 32, 37. haftalar
Sisplatin	120 mg/m ² /gün	6 saatlik infüzyon	27, 42. Haftalar
Metotreksat	12 gr/m ² /gün	6 saatlik infüzyon	20, 21, 25, 26, 30, 31, 35, 36, 40, 41. haftalar

TEDAVİ PROTOKOLÜ-3:

Germ Hücreli Tümörlerde Sağaltım Protokolü :

BEP

- Bleomisin >1 yaş 15 mg/m² iv (< 1 yaş 0.5 mg/kg), 20 dk infüzyonla 1.gün
- Etoposid > 1 yaş 100 mg/m² iv (< 1 yaş 3 mg/kg), 1 saatlik infüzyon 1.-5. günler arası
- Sisplatin > 1 yaş 20 mg/m² iv (< 1 yaş 0.7 mg/kg), 1 saatlik infüzyon 1.-5. günler arası

(Not: 3 haftada bir toplam 4 kür verilir)

TEDAVİ PROTOKOLÜ-4:

Nöroblastom Sağaltım Protokolü:

TPOG Ulusal Nöroblastom 2003 Protokolü

DÜŞÜK RİSK GRUBU

Evre 1 $\boxed{OP}$ → İzlem

Evre 2A 2B $\boxed{OP}$ $\boxed{A_1}$ $\boxed{A_2}$ X3 $\boxed{OP}$ → DEĞERLENDİRME
CR → İzlem
PR, NR → Orta risk iyi histoloji protokolü

Evre 4-S $\boxed{OP}$ $\boxed{A_5}$ $\boxed{A_6}$ $\boxed{A_6}$ $\boxed{A_6}$ → DEĞERLENDİRME
CR → İzlem
NR-PD → Evre 2 tedavisi

DÜŞÜK RİSK GRUBU

İyi Histoloji

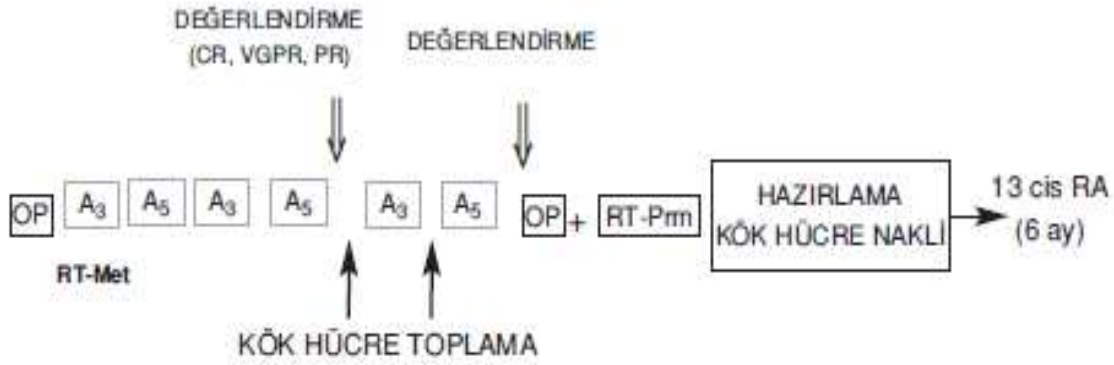
$\boxed{OP}$ $\boxed{A_3}$ $\boxed{A_4}$ X2 $\boxed{OP}$ → DEĞERLENDİRME
CR → İdame tedavisi (10 hafta)
VGPR, PR → $\boxed{A_3}$ $\boxed{A_4}$ X2 → DEĞERLENDİRME
Canlı tm (+) → $\boxed{RT}$
Rezidü(+) → $\boxed{OP}$ → İdame (10hf)
Canlı tm (-) → $\boxed{OP}$
NR, PD → Protokol dışı

Kötü Histoloji

$\boxed{OP}$ $\boxed{A_3}$ $\boxed{A_4}$ X4 $\boxed{OP}$ → DEĞERLENDİRME
CR → İdame tedavisi (10 hf) + 13-ds RA (6 ay)
VGPR, PR → $\boxed{A_3}$ $\boxed{A_4}$ → DEĞERLENDİRME
Canlı tm (+) → $\boxed{RT}$
Rezidü(+) → $\boxed{OP}$ → İdame (10hf) + 13-ds RA (6 ay)
Canlı tm (-) → $\boxed{OP}$
NR → Protokol dışı

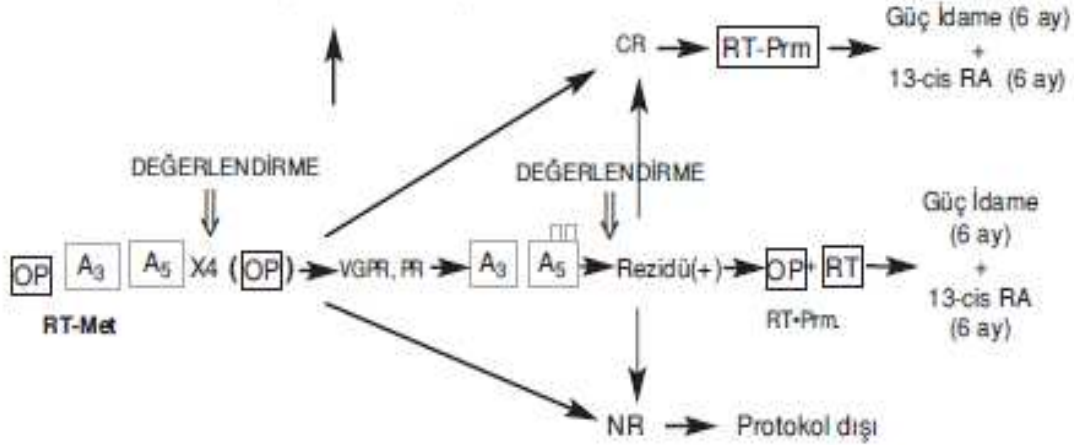
*Gerektiğinde palyatif amaçlı kemik metastazlarına uygulanabilir.

YÜKSEK RİSK GRUBU (Yüksek doz KT+PK kök hücre nakli)



- KÜR araları 3 hafta
- 13-cis RA, kök hücre nakli sonrası 90. Gün başlıyor

YÜKSEK RİSK GRUBU (Klasik Tedavi)



- Gerekliğinde palyatif amaçlı kemik metastazlarına uygulanabilir.
- Cisplatin için dikkat! Ototoksite ve nefrotoksite değerlendirilmesi sonra verilecek

(Blokler: 1 yaş veya 10 kg altındaki çocuklarda, kilo başına doz= m² başına doz/30'dur).

A1 Blok:

Sisplatin	100 mg/m ² > 2yaş	5 saatlik infüzyon	1.gün
	20 mg/m ² ≤ 2 yaş	30-45 dk infüzyon	1-5. gün
Vinkristin	1.5 mg/m ²	IV bolus	1.,5. günler

A2 Blok:

İfosfamid	2 gr/m ²	24 saatlik infüzyon	1. gün
Vinkristin	1.5 mg/m ²	IV bolus	1.,5. günler

A3 Blok:

Vinkristin	1.5 mg/m ²	IV bolus	1., 5. günler
İfosfamid	1.8 gr/m ²	18 saatlik infüzyon	1-5. günler
Mesna	%100	18 saatlik infüzyon	1-5. günler
Dakarbazin	250 mg/m ²	30 dk. infüzyon	1-5. günler
Doksorubisin	20 mg/m ²	4 saatlik infüzyon	1-3. günler
G-CSF			6. gün

A4 Blok

Sisplatin	100 mg/m ² > 2yaş	5 saatlik infüzyon	1.gün
	20 mg/m ² ≤ 2 yaş	IV bolus	1-5. gün
Siklofosfamid	200 mg/m ²	1 saatlik infüzyon	1-5. günler
Mesna	%60 doz		1-5. günler
Etoposid	150 mg/m ²	45 dk. İnfüzyon	4., 5. günler

A5 Blok:

Sisplatin	30 mg/m ²	20 saatlik infüzyon	1-5. günler
Siklofosfamid	300 mg/m ²	1 saatlik infüzyon	1-5. günler
Mesna	%60 doz		1-5. günler
Etoposid	150 mg/m ²	45 dk. İnfüzyon	4,5. günler

A6 Blok:

Siklofosfamid	5 mg/kg	IV bolus	1-5. günler (1., 4., 7., 10. hft)
Vinkristin	0.75 mg/m ²	IV bolus	1., 5. günler (1., 4., 7., 10. hft)

TEDAVİ PROTOKOLÜ-5:

Hepatoblastom Tedavi Protokolleri:

Rejim 1 (3-4 haftada 1):

- Adriamisin 25mg/m²/gün (3gün),santral kataterden infüzyon şeklinde.
- Sisplatin 20mg/m²/gün (5 gün), infüzyon şeklinde, 0-4.günler.
- **<10 kg olan hastalar için:**
 - o Adriamisin 0.83 mg/kg (3 gün); sisplatin 0.66 mg/kg/gün (5 gün).

veya

Rejim 2:

- Sisplatin 100 mg/m² intravenöz infüzyon (6 saat süresince), 1. gün,
- Vinkristin 1.5 mg/m² intravenöz (max 2 mg), 3-10-17. günler,
- Fluorourasil 600 mg/m² intravenöz, 3. gün
- **<1 yaş:**
 - o Sisplatin 3.3 mg/kg ve vinkristin 0.05 mg/kg

4 kür tedaviden sonra cerrahi rezeksiyon uygulanır ve ardından 4 kürlük tedaviye daha başlanır.

veya

Rejim 3:

- Sisplatin 90 mg/m² intravenöz infüzyon (6 saat süresince) (0.gün).
- Adriamisin 20 mg/m²/gün (4 gün),santral kataterden infüzyon şeklinde (0-3. Günler).
- **<1 yaş:**
 - o Sisplatin 3 mg/kg, adriamisin 0.66 mg/kg

4 kür tedaviden sonra cerrahi rezeksiyon uygulanır ve ardından ek kemoterapiye başlanır.

TEDAVİ PROTOKOLÜ-6:

Nazofarenks Karsinomu Sağaltım Protokolleri :

POG-9486 Kemoterapi Rejimi:

- Metotreksat, 120 mg/m²/gün, intravenöz bolus, 1. Gün
- Sisplatin, 100 mg/m²/gün, 6 saatlik intravenöz infüzyon, 2. Gün
- Lökoverin, 25 mg/m²/gün, 6 saatte bir intravenöz, 2., 3. Günler toplam 6 doz
- 5-Florourasil, 1 gr/m²/gün, 24 saatlik intravenöz infüzyon, 3-7. Günler

NPC-91-GPOH Protokolü:

- Evre 1-2: Radyoterapi + b-interferon (10⁵ Ü/kg; intravenöz haftada 3 kez; 6 ay)
- Evre 3-4: Kemoterapi (3 kür) + radyoterapi + (10⁵ Ü/kg; intravenöz haftada 3 kez; 6 ay)

Kemoterapi:

POG 9486 rejimi uygulanır

Radyoterapi:

Nazofarenks ve bölgesel lenf bezlerine 45 Gy; tümöre ayrıca 14.4 boost yapılır.



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Klinik Araştırmalar Etik Komitesi

SAYI : B-10-4-ISM-4-35-65-72/Etik Komite
TARİH : 31.03.2011 / 8
KONU : Etik Komite Başvuruları

Sayın.. Doç. Dr. Mehmet KANTAR

"Pediatrik Kanserlerde DNA Tamir Genlerinin Önemi" isimli araştırmanız 31.03.2011 tarihinde İzmir BUÇH Klinik Araştırmalar Etik Komitesi'nce incelenmiş, ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik komite üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.

Çalışmanızın durumunu yılda bir "*Klinik Araştırma İçin Etik Komiteye Yapılan Yıllık Bildirim Formu*" ile bildirirkeniz, fakat çalışmanızın erken bitmesi durumunda araştırmanızın özeti ile beraber "*Klinik Araştırmanın Sona Erdiğine İlişkin Etik Komiteye Yapılan Bildirim Formu*" nu doldurarak İzmir Dr Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Komitesi'ne bildirmenizi rica ederim.

Klinik Araştırmalar
Etik Komite Başkanı
Uz. Dr. Aysel ÖZTÜRK

ÖZET

Amaç:

Bu çalışmada sisplatin bazlı kemoterapi alan hastalarda gelişen işitme kaybı ile DNA tamir genleri olan ERCC1, ERCC2 ve XRCC1 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmak istedik.

Gereç-Yöntem:

Bu amaçla kemoterapi protokolleri içinde sisplatin infüzyonlarını tamamlayan 50 hasta çocuk ve erişkin alındı. Yaş ortalaması 13.9 ± 5.9 olan (2-23 yaş) 29 kız, 21 erkek çalışmaya alındı. Hastaların tanıları arasında santral sinir sistemi tümörleri (16), osteosarkom (13), germ hücreli tümörler (7), nöroblastom (6), karsinom (5) ve hepatoblastom (3) bulunmaktaydı. Sağlıklı kontrol grubunda ise yaş ortalaması 13.4 ± 3.7 olan (7-24 yaş) 29 kız, 30 erkek alındı. DNA tamir genlerindeki polimorfizm, PCR ile DNA izolasyonu yapıldıktan sonra Light Cycler cihazında primer ve probalar kullanılarak yapıldı.

Bulgular:

ERCC1 geni için genotip dağılımı, işitme kaybı olan 22 hastada GG genotipi (yabanıl tip) % 50 (11); AG genotipi (heterozigot) % 40 (9), AA genotipi (homozigot) % 10 (2) iken; işitme kaybı olmayan 28 hastada GG genotipi % 28.6 (8), AG genotipi % 53.5 (15), AA genotipi % 17.9 (5) bulundu. Kontrol grubunda ise bu dağılım GG genotipi için % 49.2 (29), AG genotipi % 42.3 (25), AA genotipi % 8.5 (5) olarak bulundu.

ERCC2 geni için genotip dağılımı, işitme kaybı olan 22 hastada GG genotipi (yabanıl tip) %18.2 (4); TG genotipi (heterozigot) %40.9 (9), TT genotipi (homozigot) %40.9 (9) iken; işitme kaybı olmayan 28 hastada GG genotipi %10.7 (3), TG genotipi %39.3 (11), TT genotipi %50 (14) bulundu. Kontrol grubunda ise bu dağılım GG genotipi için % 17 (10), TG genotipi % 44 (26), TT genotipi %39 (23) olarak bulundu.

XRCC1 geni için genotip dağılımı, işitme kaybı olan 22 hastada CC genotipi (yabanıl tip) %18.2 (4); CT genotipi (heterozigot) %59.1 (13), TT genotipi (homozigot) %22.7 (5) iken; işitme kaybı olmayan 28 hastada CC genotipi %35.7 (10), CT genotipi %50 (14), TT genotipi %14.3 (4) bulundu. Kontrol grubunda ise bu dağılım CC genotipi için % 31 (18), CT genotipi % 54 (32), TT genotipi %15 (9) olarak bulundu.

Chi kare testi sonucuna göre bakılan her üç genin dağılımında gruplar arasında fark bulunmadı.

Sonuç:

Bu bulgular ışığı altında DNA tamir genleri olan ERCC1, ERCC2, XRCC1 genotipleri ile sisplatine bağlı işitme toksisitesi arasında ilişki olmadığı sonucuna varıldı. Bu çalışma aynı zamanda sağlıklı Türk popülasyonunda bu genlerin genotip dağılımının belirlenmesine de katkıda bulunmuştur.

SUMMARY

Objective:

We aimed to investigate the relationship between hearing loss during cisplatin treatment and DNA repair genes, namely ERCC1, ERCC2 and XRCC1.

Materials:

For this purpose, 50 patients who were treated with cisplatinum were included in the study (29 females, 21 males; mean age 13.9 ± 5.9). Diagnosis was CNS tumors in 16 patients whereas osteosarcoma in 13, germ-cell tumors in 7, neuroblastoma in 6, carcinoma in 5 and hepatoblastoma in 3. The healthy control group consisted of 29 females and 30 males with mean age of 13.4 ± 3.7 . The polymorphism in DNA repair genes was studied by using primer and probes in Light Cycler device after DNA isolation was carried out with PCR technique.

Results:

Among the patients, 22 had hearing loss documented in their charts. For ERCC1 gene, the patients with hearing loss had 50 % (11) of GG (wild type), 40 % (9) of AG (heterozygous), and 10 % (2) of AA genotypes (homozygous), while the patients without hearing loss had 28.6 % (8) of GG, 53.5 % (15) of AG, and 17.9 % (5) of AA genotypes. In control group, there were 49.2 % (29) of GG, 42.3 % (25) of AG, and 8.5 % (5) of AA genotypes.

Among the patients, 22 had hearing loss documented in their charts. For ERCC2 gene, the patients with hearing loss had 18.2 % (4) of GG (wild type), 40.9 % (9) of TG (heterozygous), and 40.9 % (9) of TT genotypes (homozygous), while the patients without hearing loss had 10.7 % (3) of GG 39.3 % (11) of TG, and 50 % (14) of TT genotypes. In control group, there were 17 % (10) of GG, 44 % (26) of TG, and 39 % (23) of TT genotypes.

Among the patients, 22 had hearing loss documented in their charts. For XRCC1 gene, the patients with hearing loss had 18.2 % (4) of CC (wild type), 59.1 % (13) of CT (heterozygous), and 22.7 % (5) of TT genotypes (homozygous), while the patients without hearing loss had 35.7 % (10) of CC, 50 % (14) of CT, and 14.3 % (4) of TT genotypes. In control group, there were 31 % (18) of CC, 54 % (32) of CT, and 15 % (9) of TT genotypes.

No difference was found among the groups in the distribution of each 3 genes evaluated according to the result of Chi square test.

Conclusion:

In the light of these findings, a conclusion was reached as to the fact that there is no relationship between DNA repair genes and hearing toxicity of cisplatin.

KAYNAKLAR

1. Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT, et al. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br J Cancer*. 1998;77:1355–1362.
2. Weatherly RA, Owens JJ, Catlin FI, et al. Cis-platinum ototoxicity in children. *Laryngoscope*. 1991;101:917–924.
3. Laurell G, Engstrom B, Hirsch A, et al. Ototoxicity of cisplatin. *Int J Androl*. 1987;10:359–362.
4. McHaney VA, Thibadoux G, Hayes FA, et al. Hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *J Pediatr*. 1983;102: 314–317.
5. Rademaker-Lakhai JM, Crul M, Zuur L, et al. Relationship between cisplatin administration and the development of ototoxicity. *J Clin Oncol*. 2006;24:918–924.
6. McHaney VA, Thibadoux G, Hayes FA, Green AA. Hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *The Journal of Pediatrics* 1983;102(2):314–7
7. Reddel RR, Kefford RF, Grant JM, Coates AS, Fox RM, Tattersall MH. Ototoxicity in patients receiving cisplatin: importance of dose and method of drug administration. *Cancer Treatment Reports* 1982;66(1):19–23.
8. Li Y, Womer RB, Silber JH. Predicting cisplatin ototoxicity in children: the influence of age and the cumulative dose. *Eur J Cancer*. 2004;40:2445–2451.
9. Kushner BH, Budnick A, Kramer K, et al. Ototoxicity from high-dose use of platinum compounds in patients with neuroblastoma. *Cancer*. 2006;107:417–422.
10. Skinner R. Best practice in assessing ototoxicity in children with cancer. *European Journal of Cancer* 2004;40(16): 2352–4.
11. Schell MJ, McHaney VA, Green AA, Kun LE, Hayes FA, Horowitz M, et al. Hearing loss in children and young adults receiving cisplatin with or without prior cranial irradiation. *Journal of Clinical Oncology* 1989;7(6):754–60.

12. Jenney MEM. Late effects of cancer treatment and current protective measures. In: Vouite PA, Barrett A, Stevens MCG, Caron HN editor(s). *Cancer in Children*. Fifth. Oxford University Press, 2005:123–37.
13. Gallagher KL, Jones JK. Furosemide-induced ototoxicity. *Annals of Internal Medicine* 1979;91(1):744–5.
14. Zheng Z, Chen T, Li X, Haura E, Sharma A, Bepler G (2007) DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med* 356(8):800–808
15. Choeyprasert W, Sawangpanich R, Lertsukprasert K, Udomsubpayakul U, Songdej D, Unurathapan U, Pakakasama S, Hongeng S. Cisplatin-induced ototoxicity in pediatric solid tumors: the role of glutathione s-transferases and megalin genetic polymorphisms. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2013 May;35(4):e138-43
16. Ross CJ, Katzov-Eckert H, Dubé MP, Brooks B, Rassekh SR, Barhdadi A, et al. Genetic variants in TPMT and COMT are associated with hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *Nature Genetics* 2009;41(12): 1345–9.
17. Grewal S, Merchant T, Reymond R, McInerney M, Hodge C, Shearer P. Auditory late effects of childhood cancer therapy: a report from the Children’s Oncology Group. *Pediatrics* 2010;125(4):e938–50.
18. Saito A, Iino N, Takeda T, et al. Role of megalin, a proximal tubular endocytic receptor, in calcium and phosphate homeostasis. *Ther Apher Dial*. 2007;11:S23–S26.
19. Gazdar AF (2007) DNA repair and survival in lung cancer the twofaces of Janus. *N Engl J Med* 356(8):771–773
20. ACCIS-Childhood cancer incidence and survival <http://www.dep.iarc.fr/accis.htm>
21. Stiller CA. Epidemiology and genetics of childhood cancer. *Oncogene* 2004;38:6429-6444.
22. Kanserle savaş politikası ve kanser verileri. TC Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı 1995-1999, Ankara 2002.

23. Kutluk MT, Şahiner UM, Akyüz C, Yalçın B, Varan A, Büyükpamukçu M. A Hospital based cancer registry for childhood cancer in Turkey. Porto, Portugal, 18-21 September 2002. Med Ped Oncol 2002;39:317.
24. Kutluk T. First national pediatric cancer registry in Turkey: A Turkish Pediatric Oncology Group Study. Ped Blood Canc. 2004;43:452.
25. Kantar M. Osteosarkom Klinik Gelişim 2007;20:120-124.
26. Kantar M. Sık kullanılan protokoller, pediatrik onkoloji el kitabı. Ed. İlhan I, Kutluk T. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009; 167-208.
27. Link MP, Goorin AM, Horowitz M, et al. Adjuvant chemotherapy of high grade osteosarcoma of the extremity. Updated results of the multi-institutional osteosarcoma study. Clin Orthop Relat Res 1991;270:8-14.
28. Kantar M, Cetingül N, Azarsız S, Sabah D, Memiş A, Başdemir G, Burak Z. Treatment results of osteosarcoma of the extremity in children and adolescents at Ege University Hospital. Pediatr Hematol Oncol 2002;19:475-82
29. Kusher BH, Kramer K, LaQuaglia MP, Modak S, Cheung NV: Neuroblastoma in adolescents and adults: the Memorial Sloan-Kettering experience. Med Pediatr Oncol 2003, 41:508–515.
30. Kusher BH, Budnick A, Kramer K, Modak S, Cheung NK. Ototoxicity from high-dose use of platinum compounds in patients with neuroblastoma. Cancer 2006;107:417-22.
31. TPOG-NBL-2003 tedavi protokolü. İzmir, 2003
32. Corapcıoğlu F. Çocukluk çağı primer malign karaciğer tümörleri. Klinik Gelişim 2007;20:138-145.
33. Parkin DM, Kramarova E, Draper GJ et al. International incidence of childhood cancer. Vol.II.Lyons: International Agency for Research on Cancer 1998; IARC Scientific Publication No.144
34. Berrak SG. Sık karşılaşılan santral sinir sistemi tümörleri: Düşük dereceli astrositom, medülloblastom, ependimoma ve tedavi standartları. Klinik Gelişim 2007;20:34-44

35. Parker RJ, Sutton LN, Goldwein JW, et al. Improved survival with the use of adjuvant chemotherapy in the treatment of medulloblastoma. *J Neurosurg* 1991;74:443-440.
36. Yarış N. Çocukluk çağı germ hücreli tümörleri. *Klinik Gelişim* 2007;20:132-137
37. Karasalihoğlu AR: Kulak, Burun, Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi(2.Baskı). Ankara: Güneş Kitabevi. 1992: 3-16, 93-97.
38. Donaldson JA, Duckert LG: Anatomy of ears. In:Paparella MM, Shumrick DA. (Eds) *Otolaryngology Vol.1*, Philedelphia: WB.Saunders Company, 1991: 23-58.
39. Çelik O.(Editör) Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, Asya Tıp Kitapevi, 2007;1-35, 63-76, 269-282.
40. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998: 29-61, 77-102, 143-197
41. Duckert LG: Anatomy of the skull base, temporal bone, external and middle ear. In: Cummings CW(Ed.) *Otolaryngology-Head and Neck Surgery Vol.4*, St.Luis Missouri: Mosby Year Book Inc., 1993:2483-2496.
42. Schratzenstaller B, Janssen T, Alexiou C, Arnold W. Confirmation of G. von Békésy's Theory of Paradoxical Wave Propagation along the Cochlear Partition by Means of Bone-Conducted Auditory Brainstem Responses. *Otorhinolaryngol Head and Neck Surgery* 2000;62:1-8
43. Russell IJ. *Origin of the receptor potential in inner hair cells of the mammalian cochlea, evidence of Davis' theory. Nature.* 1983;301:334-6.
44. Kelland L. The resurgence of platinum based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584.
45. Lippert B, Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug, Wiley VCH, Zurich 1999;3-183.
46. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320.
47. Siddik ZH. *Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance.*

Oncogene 2003; 22: 7265-7279.

48. <http://www.cancercare.on.ca/pdfdrugs/CISPLATI.pdf>
49. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003; 23: 460-464.
50. Sastry J, Kellie SJ. Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine. *Pediatr Hematol Oncol* 2005; 22: 441-445.
51. Rossof AH, Slayton RE, Perlia CP. Preliminary clinical experience with cis-diamminedichloroplatinum. *Cancer* 1972;30: 1451-1456.
52. Brock PR, Bellman SC, Yeomans EC, et al. Cisplatin ototoxicity in children: A practical grading system. *Med Pediatr Oncol* 1991;19:295-300.
53. Roland P, Rutka J, Editors. Ototoxicity. BC Decker Inc Publisher, Hamilton, ON, Canada, 2004; 212-221
54. Dhooge I, Dhooge C, Geukens S, De Clerck B, De Vel E, Vinck BM. Distortion product otoacoustic emissions: an objective technique for the screening of hearing loss in children treated with platin derivatives. *Int J Audiol* 2006;45:337-43.
55. Fausti SA, Larson VD, Noffsinger D, Wilson RH, Philips DS et al. High frequency audiometric monitoring strategies for early detection of ototoxicity. *Ear Hear* 1994;15:232-239.
56. Sakamoto M, Kaga K, Kamio T. Extended high frequency ototoxicity induced by the first administration of cisplatin. *Otorhinolaryngol Head and Neck Surg* 2000;122:828-833.
57. Stavroulaki P, Apostolopoulos N, Segas J, Tsakanikos M, Adamopoulos G. Evoked otoacoustic emissions – an approach for monitoring cisplatin induced ototoxicity in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001;59:47-57.
58. Zorowka PG, Schmitt HJ, Gutjahr P. Evoked otoacoustic emissions and pure tone threshold audiometry in patients receiving cisplatin therapy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1993;25:73-80
59. Fausti SA, Frey RH, Henry JA, Olson DJ, Schaffer HI. Early detection of ototoxicity

- using high frequency, tone-burst-evoked auditory brainstem responses. *J Am Acad Audiol* 1992;3:397-404.
60. Fausti SA, Frey RH, Henry JA, Olson DJ, Schaffer HI. High frequency testing techniques and instrumentation for early detection of ototoxicity. *J Rehabil Res Dev* 1993;30:333-341.
 61. Martinon RT, Shkurovich-Bialik P, Collado-Corona MA, Mora-Magana I, Goldgrub-Listopad S, Zaslavsky MS. Distortion product otoacoustic emissions test is useful in children undergoing cisplatin treatment. *Arch Med Res* 2003;34:205.
 62. Ress BD, Sridhar KS, Balkany TJ, Waxman GM, Stagner BB, Lonsbury-Martin BL. Effects of cisplatin chemotherapy on otoacoustic emissions: the development of an objective screening protocol. Third place- Resident Clinical Science Award 1998. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999;121:693-701.
 63. Ozturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR. Monitoring of cisplatin ototoxicity by distortion-product otoacoustic emissions. *Auris Nasus Larynx* 1996;23:147-151
 64. Stadnicki SW, Fleischman RW, Schaeppi U, Merriam P. Cis-dichlorodiammineplatinum: hearing loss and other toxic effects in rhesus monkeys. *Cancer Chemother Rep* 1975;59:467-480.
 65. Strauss M, Towfighi J, Lord S, Lipton A, Harvey HA, Brown B. Cis-platinum ototoxicity: clinical experience and temporal bone histopathology. *Laryngoscope* 1983;93:1554-1559.
 66. Truong MT, Winzelberg J, Chang KW. Recovery from cisplatin-induced ototoxicity: a case report and review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;71:1631-8.
 67. Miyashita H, Iwasaki S, Hoshino T. Photochemically induced focal cochlear lesions in the guinea pig. Part II: A transmission electron microscope study. *Microsc Res Tech* 1998;41:334-340.
 68. Ocho S, Iwasaki S, Umemura K, Hocino T. A new model for investigating hair cell degeneration in the guinea pig following damage of the stria vascularis using a photochemical reaction. *Eur Arch otorhinolaryngol* 2000;257:182-187.

69. Salt AN, Melichar I, Thalmann R. Mechanisms of endocochlear potential generation by stria vascularis. *Laryngoscope* 1987;97:984-991
70. Thomas JP, Lautermann J, Liedert B, Seiler F, Thomale J. High accumulation of platinum-DNA adducts in stria marginal cells of the cochlea is an early event in cisplatin but not carboplatin ototoxicity. *Mol Pharmacol* 2006;70:23-29.
71. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 9-23.
72. Watanabe K, Inai S, Jinnouchi K, Bada S, Hess A, Michael O, Yagi T. Nuclear factor kappa B-inducible nitric oxide synthase pathway damages the stria vascularis in cisplatin-treated mice. *Anticancer Rev* 2002;22:4081-4085.
73. Langer T, Zehnhoff-Dinnesen A, Radtke S, Meitert J, Zolk O. Understanding platinum-induced ototoxicity. *Trends Pharmacol Sci.* 2013;34:458-69.
74. Riedemann L, Lanvers C, Deuster D, et al. Megalin genetic polymorphisms and individual sensitivity to the ototoxic effect of cisplatin. *Pharmacogenomics J.* 2008; 8(1):2328.
75. el Barbary A, Altschuler RA, Schacht J. Glutathione S-transferases in the organ of Corti of the rat: enzymatic activity, subunit composition and immunohistochemical localization. *Hear Res.* 1993; 71:80–90.
76. Touliatos JS, Neitzel L, Whitworth C, Rybak LP, Malafa M. Effect of cisplatin on the expression of glutathione-S-transferase in the cochlea of the rat. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2000; 257(1):6–9.
77. Fujimura T, Suzuki H, Udaka T, et al. Immunoreactivities for glutathione S-transferases and glutathione peroxidase in the lateral wall of pigmented and albino guinea pig cochlea. *Med. Mol. Morphol.* 2008; 41(3):139–144.
78. Mukherjee D, Rybak LP. Pharmacogenomics of cisplatin-induced ototoxicity. *Pharmacogenomics.* 2011 Jul;12(7):1039-50

79. Peters U, Preisler-Adams S, Hebeisen A, et al. Glutathione S-transferase genetic polymorphisms and individual sensitivity to the ototoxic effect of cisplatin. *Anticancer Drugs*. 2000; 11(8):639– 643.
80. Oldenburg J, Kraggerud SM, Cvancarova M, Lothe RA, Fossa SD. Cisplatin-induced long-term hearing impairment is associated with specific glutathione S-transferase genotypes in testicular cancer survivors. *J. Clin. Oncol*. 2007; 25(6):708–714.
81. Ahmed ZM, Masmoudi S, Kalay E, et al. Mutations of *LRTOMT*, a fusion gene with alternative reading frames, causes nonsyndromic deafness in humans. *Nat. Genet*. 2008; 40:1335–1340.
82. Duman D, Sirmaci A, Cengiz FB, Ozdag H, Tekin M. Screening of 38 genes identifies mutations in 62% of families with nonsyndromic deafness in Turkey. *Genet. Test Mol. Biomarkers*. 2011;15:29–33
83. Du X, Schwander M, Moresco EM, et al. A catechol-*O*-methyltransferase that is essential for auditory function in mice and humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008; 105:14609–14614.
84. Knoll C, Smith RJ, Shores C, Blatt J. Hearing genes and cisplatin deafness: a pilot study. *Laryngoscope*. 2006; 116(1):72–74
85. Caronia D, Patiño-García A, Milne RL, et al. Common variations in *ERCC2* are associated with response to cisplatin chemotherapy and clinical outcome in osteosarcoma patients. *Pharmacogenomics J*. 2009; 9(5):347–353
86. Suk R, Gurubhagavatula S. Polymorphisms in *ERCC1* and grade 3 or 4 toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 2005;15:1534-1538.
87. Zhou W, Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Neuberg DS, Wain JC et al. Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2004;10:4939-4943

88. Knight KR, Kraemer DF, Neuwelt EA. Ototoxicity in children receiving platinum chemotherapy: underestimating a commonly occurring toxicity that may influence academic and social development. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 23(34):8588–96.
89. Lewis MJ, DuBois SG, Fligor B, Li X, Goorin A, Grier HE. Ototoxicity in children treated for osteosarcoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;52:387-91.
90. Chang KW, Chinosornvatana N. Practical Grading System for Evaluating Cisplatin Ototoxicity in Children *J Clin Oncol* 2010;28:1788-1795.
91. Bertolini P, Lassalle M, Mercier G, Raquin MA, Izzi G, Corradini N, et al. Platinum compound-related ototoxicity in children: long-term follow-up reveals continuous worsening of hearing loss. *Journal of Pediatric Hematology/ Oncology* 2004;26(10):649–55.
92. Low WK, Toh ST, Wee J, Fook-Chong SM, Wang DY. Sensorineural hearing loss after radiotherapy and chemoradiotherapy: a single, blinded, randomized study. *J Clin Oncol*. 2006; 24(12): 1904-9.
93. Gupta AA, Capra M, Papaioannou V, Hall G, Maze R, Dix D, Weitzman S. Low incidence of ototoxicity with continuous infusion of cisplatin in the treatment of pediatric germ cell tumors. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2006; 28(2): 91-4.
94. Lewis MJ, DuBois SG, Fligor B, Li X, Goorin A, Grier HE. Ototoxicity in children treated for osteosarcoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;52:387-91.
95. Horwitz AR, Dubno JR, Ahistrom JB. Recognition of low-pass-filtered consonants in noise with normal and impaired high frequency hearing. *J Acoust Soc Am* 2002;111:409-416.
96. Stelmachowicz PG, Pittman AL, Hoover BM, Lewis DE, Moeller MP. The importance of high-frequency audibility in the speech and language development of children with hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130:556-562.
97. French N, Seinberg J. Factors governing intelligibility of speech sounds. *J Acoust Soc Am* 1947;19:90-119.

98. Truong MT, Winzelberg J, Chang KW. Recovery from cisplatin-induced ototoxicity: a case report and review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;71:1631-8.
99. Vermorken JB, Kapteijin TS, Hart AA, Pinedo HM. Ototoxicity of cisdiamminedichloridoplatinum(II): influence of dose, schedule and mode of administration. *Eur J Cancer* 1983;19: 53-58.
100. Wright CG, Schaefer SD: Inner ear histopathology in patients treated with cisplatin. *Laryngoscope* 92:1408-1413, 1982
101. Grewal S, Merchant T, Reymond R, McInerney M, Hodge C, Shearer P. Auditory late effects of childhood cancer therapy: a report from the Children's Oncology Group. *Pediatrics*. 2010 Apr;125(4):e938-50. Epub 2010 Mar 1.