

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**VESTİBÜLER VE KOKLEAR TOKSİSİTE MODELİNDE CARBON
MONOXİDE RELEASİNG MOLECULE-3'ÜN (CORM-3)
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Esra BUĞRA

**KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI
ODYOLOJİ PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Özgür SÜRMELİOĞLU**

ADANA-2023

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**VESTİBÜLER VE KOKLEAR TOKSİSİTE MODELİNDE CARBON
MONOXİDE RELEASİNG MOLECULE-3'ÜN (CORM-3)
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Esra BUĞRA

**KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI
ODYOLOJİ PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Özgür SÜRMELİOĞLU**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
TYL-2022-15512 No.lu proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2023

KABUL ONAY



T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 23/08/2023

İMZA

Esra Buğra

Kayıtlı olunan Program : KBB Anabilim Dalı Odyoloji Yüksek Lisans Programı
Tezin Konusu : Vestibüler ve Koklear Toksikite Modelinde Carbon Monoxide Releasing Molecule-3'ün (CORM-3) Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Tezin Türü : Yüksek Lisans : ☒ Doktora: ☐

Danışmanın Adı-Soyadı : Doç. Dr. Özgür Sürmelioglu
Danışmanın İletişim Bilgileri
Telefon :
E-Posta :

Öğrencinin İletişim Bilgileri
Telefon :
E-Posta :
Adresi :

**Bu belgenin Lisansüstü eğitim tezleri savunmaya alınmadan önce öğrenci tarafından doldurulup imzalanarak Enstitü Müdürlüğüne teslim edilmesi gerekmektedir.*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve deneyimlerinden faydalanma fırsatı bulduğum tez çalışmamın ortaya çıkmasında büyük destekleri, bilimsel katkıları ve emeği olan, hoşgörüsüyle her zaman yanımda hissettiğim kıymetli tez danışman hocam Doç. Dr. Özgür SÜRMEİİÖĞLU'na,

Yüksek lisans eğitimim boyunca kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, fikirlerini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli katkılarıyla çalışmamı güçlendiren birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Süleyman ÖZDEMİR'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Çukurova Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda görevli öğretim üyesi Prof. Dr. Özgür TARKAN, Doç. Dr. Muhammed DAĞKIRAN başta olmak üzere öğrencisi olmaktan onur duyduğum diğer tüm öğretim üyelerine,

Halil Avcı Duyma Engelliler Merkezinde birlikte çalışmaktan çok mutlu olduğum, kıymetli tecrübeleriyle yol gösteren ilgi, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Ody. Funda AKAR ATİK, Uzm. Ody. Nilay TEZER, Uzm. Ody. Rasim ŞAHİN ve Uzm. Ody. Sakine KOÇ'a,

Tez çalışmamda titizlik ve hassasiyetle yardım eden özverili yardımlarıyla bu süreci kolaylaştıran ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. İlda TANRISEVER ve Uzm. Ody. Ahmet ATİLA'ya,

Birlikte yüksek lisans yapma fırsatı bulduğum tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen bu süreci keyifli kılan Ody. Ceren GÜNEŞ'e,

Hayatımın her anında yanımda olan, akıl hocam, hayattaki en büyük şansım, en kıymetlim, ablam Nisa BUĞRA'ya,

Yaşamımın ve karakterimin yön bulmasında verdikleri destekler ile her zaman yanımda olan sonsuz sevgileriyle bana güç veren kıymetli aileme,

Saygı, sevgi ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
ETİK BEYANI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.İşitme Sistemi	3
2.2. Rat Kulak Anatomisi ve Fizyolojisi	9
2.3. Ototoksisite.....	11
2.3.1. Aminoglikozit Ototoksisitesi	12
2.3.2. Aminoglikozit Ototoksisitesinin Etki Mekanizması	13
2.4. Antioksidan Ajanlar.....	14
2.4.1. Karbon Monoksit Salan Molekül-3 (CORM-3).....	15
2.5. Objektif Odyolojik Değerlendirme Yöntemleri.....	17
2.5.1. Otoakustik Emisyonlar	17
2.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)	18
2.6. Ratlarda Odyolojik ve Vestibüler Değerlendirme	19
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları	21
3.2.Veri Toplama Araçları.....	23
3.2.1. Aminoglikozid Toksisitesinin Oluşturulması	24
3.2.2. Vestibüler ve Odyolojik İnceleme	24
3.2.3. Anestezi Yöntemi	26
3.2.4. İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	27
3.2.5. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Testi	27
3.2.6. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Testi.....	28
3.2.7. İlaç Uygulaması	30

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi	31
4.1. Distorsiyon ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları.....	32
4.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Bulguları	34
4.2.1. Dalga Morfolojisi.....	35
4.2.2.Grupların İUBP Eşik Ortalamaları ve Değişimi	35
4.3.Vestibüler Etkilenme Bulguları	39
4.3.1.Gentamisin Grubu Vestibüler Değerlendirme Bulguları	40
4.3.2.Gentamisin+ Corm-3 Grubu Vestibüler Değerlendirme Bulguları.....	41
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
7. KAYNAKÇA.....	51
EKLER.....	58
ÖZGEÇMİŞ	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Koklea Kesiti	4
Şekil 2. Korti Organı	5
Şekil 3. Kokleadan işitsel kortekse kadar işitme yolları.....	9
Şekil 4.Laboratuar hayvanları ve insanlardaki işitme frekans aralıkları.	11
Şekil 5.CORM tarafından salınan CO mekanizması ve HO yolağı	16
Şekil 6.Corm-3 kimyasal yapısı	16
Şekil 8. 6 kHz IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi.....	38
Şekil 9. 8 kHz IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi.....	39
Şekil 10. Kuyruktan Asma test skorlarının zamana bağlı değişimi	42
Şekil 11. Yüzme Testi skorlarının zamana bağlı değişimi.....	43
Şekil 12. Havada Düzelmeye Testi skorlarının zamana bağlı değişimi.....	43
Şekil 13.Vestibüler Etkilenme Total Puanları- Tüm Gruplar	44

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Swimming (Yüzme) Testi	25
Resim 2. Tail Hanging (Kuyruk asma) Testi.....	25
Resim 3. Air Righting (Havada düzelme) Testi	26
Resim 4. Wistar rata uygulanan intraperitoneal anestezi yöntemi.....	27
Resim 5. Wistar ratlara uygulanan DPOAE testi.....	28
Resim 6. Wistar ratlara uygulanan İUBP testi.....	29
Resim 7. Ratlara uygulanan intraperitoneal CORM-3 uygulaması	31



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Gruplara uygulanan işlemlerin zamansal çizelgesi (sol kulak)	22
Tablo 2. İUBP testlerinde kullanılan kayıt ve uyaran parametreleri	30
Tablo 3. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde elde edilen sinyal-gürültü oranları (S/N)- SOL	33
Tablo 4. Çalışma gruplarında elde edilen IUBP dağılımı- Sol kulak	36
Tablo 5. Vestibüler Etkilenme Düzeyi Tanımlayıcı Analizleri	40
Tablo 6. Vestibüler Test Bataryası Hasar Skorları	42



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ms	: milisaniye
mg	: miligram
mm	: milimetre
cm³	: santimetre küp
mV	: milivolt
GBİK	: Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı
CORM-3	: Carbon-monoxide releasing molecule-3
CO	: Carbon monoksit
NO	: Nitrik oksit
SF	: Serum fizyolojik
DKY	: Dış Kulak Yolu
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
İTH	: İç Tüylü Hücre
DTH	: Dış Tüylü Hücre
İUBP	: İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri
ATP	: Adenozin trifosfat
K⁺	: Potasyum
Na⁺	: Sodyum
Ca⁺²	: Kalsiyum
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
OAE	: Otoakustik Emisyon
DPOAE	: Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon
dB SPL	:Desibel Ses Basınç Birimi
kHz	:Kilohertz
HE	: Hematoksilen-eozin

ÖZET

Vestibüler ve Koklear Toksisite Modelinde Carbon Monoxide Releasing Molecule-3'ün (CORM-3) Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Ototoksisite, kalıcı tip işitme kaybına neden olan önemli bir edinsel işitme kaybı sebebidir. Ototoksisite kaynaklı işitme kaybı sıklıkla rastlanan önlenebilir işitme kaybı nedenlerinden biridir. Ototoksisite maruziyetine bağlı işitme kaybının azaltılmasına yönelik farklı ajanlar kullanılmasına rağmen; başarısı kanıtlanmış kabul edilen ortak bir tedavi protokolü henüz tanımlanmamıştır. Bu deneysel çalışmanın amacı, ototoksisite maruziyeti sonrası Carbon Monoxide Releasing Molecule-3 (CORM-3)'ün işitme ve denge sistemine olan etkinliğinin ve iyileştirici etkilerinin elektrofizyolojik ölçümler ve davranışsal yöntemlerle gösterilmesidir.

Yirmi bir adet albino wistar erkek rat eşit şekilde 3 gruba ayrıldı. Gentamisin verilmeyen gruba; 5 gün sürecinde intraperitoneal serum fizyolojik uygulandı. Diğer 2 gruptaki 14 rata, 5 gün boyunca sol kulağa intratimpanik gentamisin uygulaması yapıldı. İlaç uygulamasının ardından gentamisin+corm-3 grubuna 1 saat sonra 10 mg/kg/gün intraperitoneal yol ile CORM-3 uygulandı. Yarılanma ömrü göz önüne alınarak ilaç uygulaması 5. gün sonuna kadar günlük 10 mg/kg intraperitoneal yol ile CORM-3 enjekte edildi. İşitme düzeyleri ve vestibüler fonksiyonları, bazal, 3.gün,5.gün, 7. gün ve 10.günlerde, distorsiyon ürünü otoakustik emisyon, 4, 6 ve 8 kHz'de işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri ve vestibüler fonksiyonları davranış testleriyle ölçüldü.

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyel test sonuçları tüm frekanslarında CORM-3 grubunda gentamisin verilen diğer gruba kıyasla daha iyi işitme eşikleri olduğunu gösterdi. Bu bulgular istatistiksel olarak da anlamlı tespit edildi ($p<0,05$). Vestibüler fonksiyonlar ise corm-3 grubunda gentamisin verilen diğer gruba kıyasla istatistiksel olarak farklılık görülmemekle beraber vestibüler hasar skorlarında nispeten daha iyi skorlar saptandı.

Elde edilen verilere göre CORM-3, ototoksisiteye bağlı işitme ve denge kaybında koruyucu ve tedavi edici ajan olarak kullanılabilecek faydalı bir molekül olabilir. Ancak bu koruyucu etkinin kanıtlanmasına yönelik ek araştırmalara gereksinim bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ototoksisite, antioksidan, Carbon Monoxide Releasing Molecule-3, ototoksisisteye bağlı işitme kaybı, sensörinöral işitme kaybı

ABSTRACT

Evaluation of the Efficacy of the Carbon Monoxide Releasing Molecule-3 (CORM-3) in Vestibular and Cochlear Toxicity Model

Ototoxicity is an important cause of acquired hearing loss that causes permanent hearing loss. Ototoxicity-induced hearing loss is one of the most common preventable causes of hearing loss. Although different agents are used to reduce hearing loss due to ototoxic exposure; a common treatment protocol with a proven success has not yet been defined. The aim of this experimental study is to demonstrate the effectiveness and healing effects of Carbon Monoxide Releasing Molecule-3 (CORM-3) on the hearing and balance system after exposure to ototoxicity by using electrophysiological measurements and behavioral methods.

Twenty-one albino wistar male rats were equally divided into 3 groups. The group not given gentamicin; Intraperitoneal saline was applied for 5 days. Intratympanic gentamicin was applied to the left ear for 5 days to 14 rats in the other 2 groups. After drug administration, 10 mg/kg/day CORM-3 was administered intraperitoneally to the gentamicin+corm-3 group 1 hour later. Considering the half-life of the drug, CORM-3 was injected daily with 10 mg/kg intraperitoneally until the end of the 5th day of drug administration. Distortion product otoacoustic emission, auditory evoked brainstem potentials at 4, 6 and 8 kHz, and vestibular functions were measured by behavioral tests.

Auditory evoked brainstem potential test results showed improved hearing thresholds in the CORM-3 group at all frequencies compared to the other group given gentamicin. These findings were also statistically significant ($p < 0.05$). Vestibular functions were not statistically significant in the corm-3 group compared to the other group which is given gentamicin, but relatively better scores were found in vestibular damage scores.

According to the data obtained, CORM-3 may be a useful molecule that can be used as a preventive and therapeutic agent in hearing loss due to ototoxicity. However, additional researchs should be conducted to prove this protective effect of CORM-3.

Keywords: Ototoxicity, antioxidant, Carbon Monoxide Releasing Molecule-3, ototoxicity-induced hearing loss, sensorineural hearing loss

1.GİRİŞ

Ototoksisite çeşitli terapötik ajanlar ve kimyasal maddelerle karşılaşma sonucu koklear ve vestibüler organların hasar görmesidir.¹ Ototoksik ajanlar arasında aminoglikozit antibiyotikleri, aminoglikozit olmayan antibiyotikler, anti inflamatuvarlar, anti hipertansifler, diüretikler, kemoterapötikler, antimalaryaller ve daha birçok ilaç sayılabilir. Bu ajanlar sebebiyle zarar gören iç kulak yapılarının ve bu yapıların fonksiyonu olan işitme ve denge duyusu hasarlanır. İç kulakta kalıcı veya geçici ciddi etkilere sahip olabilen bu duruma en çok neden olan ajanlardan biri de aminoglikozitlerdir. Aminoglikozit antibiyotikler geniş spektrumlu antibiyotikler olup klinikte hayati tehdit oluşturan tüberküloz ve aerobik gram negatif bakterilere bağlı hastalıkların tedavisinde kullanılır. Aminoglikozitler oldukça etkili olmalarına rağmen ototoksisite ve vestibüler toksisiteye sahip oldukları bilinmektedir. En yaygın aminoglikozit ilaçlar streptomisin, gentamisin, neomisinidir. Uzun süreli kullanımı nörolojik kulak çınlamasına, nörolojik sağırlığa ve hatta hafıza kaybına, işitme kaybına, baş dönmesine ve diğer durumlara sebep olabilir. Hayvan deneylerinde de gentamisin toksisite çalışmalarında sıklıkla kullanılır.²

Kokleotoksik etki mekanizması aminoglikozitlerin hücre içine alınmasıyla başlar ve reaktif oksijen türleri [reactive oxygen species (ROS)] mekanizması sonucunda potasyum kanallarında inhibisyon açığa çıkar. Potasyum kanallarının görevini tam yapamaması sonucu hücre çekirdeğinde epigenetik değişiklikler gelişir ve saçlı hücrelerde apoptozis ve/veya nekroz ortaya çıkar. Kokleotoksik etki kokleanın bazal kısmında yüksek frekanslı bölgelerde hasara yol açar. Ek olarak utriküler ve sakküler makula hasarına bağlı olarak vestibüler toksisite belirtileri ortaya çıkmaktadır.³

Aminoglikozitlerin neden olduğu ototoksisiteyi önlemek amacıyla beraberinde NMDA reseptör antagonistleri kullanılmış ve ototoksisitenin azaldığı gözlemlenmiştir.⁴ Aminoglikozitlerle beraber kullanılan antioksidan ajanlarla yapılan çalışmalarda kokleotoksik ve vestibulotoksik etkinin azaldığı ve aminoglikozitlerin serbest oksijen radikalleri üzerinden etki gösterdiği gösterilmiştir.³ Serbest radikal önleyici ajanlarla yapılan pek çok araştırmada da ototoksisiteyi önleyici etkileri gösterilmiştir. Bu ajanlar arasında deksametazon, taurodeoksikolik asit, asetil sistein, fenofibrat, tiroksin, fosfomisin, salisilik asit, Fe şelatörleri, ginko biloba, büyüme faktörleri, hiperbarik

oksijen, ferulik asit, kırmızı cinseng, deferoksamin, dihidroksibenzoat, alfa-lipoik asit, alfa tokoferol, glutatyon, D-metionin gibi birçok potansiyel koruyucu ajan kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. ^{5,6}

Gentamisin ototoksisitesinde, serbest oksijen radikallerinin önemli rol oynadığı bilindiğinden antioksidan ajanların ototoksik etkiyi önleyebileceği ya da azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bilgilere dayanarak; oluşturulan hayvan modelinde gentamisin uygulanarak kokleotoksisite ve vestibülotoksisite oluşturulması hedeflenmiştir. Corm-3'ün antioksidan, nöroprotektif, vazodilatör etkilerinden dolayı gentamisinin OAE, ABR ve vestibüler davranış testleriyle gösterilecek olan kokleotoksisitesi ve vestibülotoksisitesi üzerindeki profilaktik etkileri araştırılacaktır. ⁷

Son yıllarda yapılan çalışmalarla carbon monoxide releasing moleküle-3 (Corm-3)'ün etkinliği farkedilmiştir. Özellikle akut miyokard enfarktüsü, iskemik inme, kompartman sendromu gibi deney gruplarına sahip dokularda iskemi sonrası reperfüzyon üzerine araştırmaları konu alan çalışmalardır. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda Corm-3'ün nöroprotektif vazodilatasyon, antiproliferasyon ve antitrombotik etkileri gösterilmiştir. Literatürde Corm-3'ün otolojik araştırmalarda etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. ^{8,9,10} CORM ajanlarının kullanımı, CO'nun vazodilatör, antienflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve anti-iskemik etkilerini daha da destekleyerek, umut verici sonuçlar bildirilmiştir. ¹¹ Bu hayvan modeli deneysel çalışmada amacımız, ototoksisite maruziyeti sonrası işitme ve denge kaybı tespit edilen ratlarda, CORM-3'ün işitme ve denge sistemi üzerindeki etkinliğinin elektrofizyolojik ölçümler ve davranışsal test yöntemleriyle gösterilmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.İşitme Sistemi

İşitme sistemi, Periferik İşitme Sistemi ve Santral İşitme Sistemi olarak 2 temel kısımda incelenir.

2.1.1. Periferik İşitme Sistemi

Dış kulak, orta kulak ve iç kulaktan oluşur. Dış kulak, auricula ve dış kulak yolundan oluşan bir yapıdır. Kulak kepçesi ses dalgalarını toplar, filtreler ve amplifiye ederek dış kulak yoluna iletir. Dış kulak yolunun uzunluğu 2,5-2,7 cm, lateral 1/3'lük kısmı kartilaj medial 2/3'lik kısmı ise kemik yapıya sahiptir. Dış kulak kanalı sesi timpanik membrana ileterek sesin frekansa özel amplifikasyonunda görev alır.¹¹

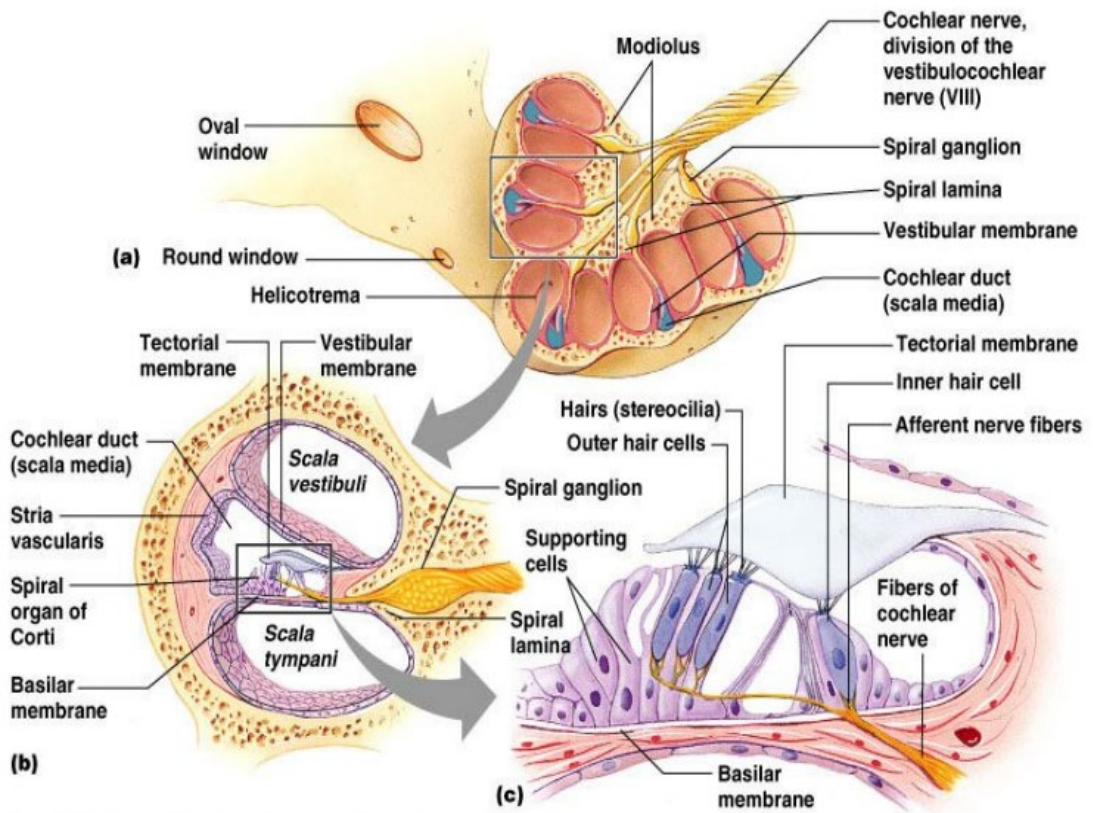
Orta kulak, kulak zarı ve iç kulak arasında bulunan sırasıyla malleus, inkus, stapes kemikçiklerinin bulunduğu, bununla birlikte orta kulak basıncını sağlayan bir yapıdır. Bu kemik zincir yapı sayesinde ses enerjisinin gaz ortamdan sıvı otama geçişi esnasında kaybedilen 30 db'lik kaybı telafi eder ve sesin iç kulağa iletimini sağlar.^{12,13}

2.1.1.1. İç Kulak Anatomisi

İç kulak, temporal kemiğin petröz parçasında bulunan bir yapıdır. Kemik labirent ve membranöz labirentten oluşan iç kulağın kemik labirenti; vestibül, koklea ve semisürküler kanallardan oluşur. Membranöz labirenti ise koklear duktus, sakkül, utrikul ve semisürküler kanallardan oluşur.¹⁴

Koklea erişkin bir insanda 2,5 tur dönüşlü salyangoz şekilli bir yapıdır. Eksenini modiolusun oluşturduğu kemik spiral laminaya sahip olup, spiral kanalı yaklaşık 30 mm uzunluğundadır.¹⁵ Koklea orta kulakla yuvarlak pencere ve oval pencere ile bağlantılıdır. İç kulağın diğer tarafında semisürküler kanallar ve vestibül bulunur. Vestibülün posteriorunda 3 adet kemik semisürküler kanal bulunur. Her semisürküler kanalın ön ucunda vestibülüne açılan ampulla adı verilen şişkinlikler bulunur. Her bir ampullada krista yer alır. Krista hareketin algılanmasında reseptör organdır ve üzerindeki jelatinöz yapıya kupula denir. Kemik labirent zar labirentle birlikte iç içe geçmiş yapılardır. Membranöz labirent kemik labirentin iç kısmına yerleşmiş olup vestibüler uç organları barındırır. Membranöz labirent ve kemik labirent arasında Na⁺'dan zengin perilemf

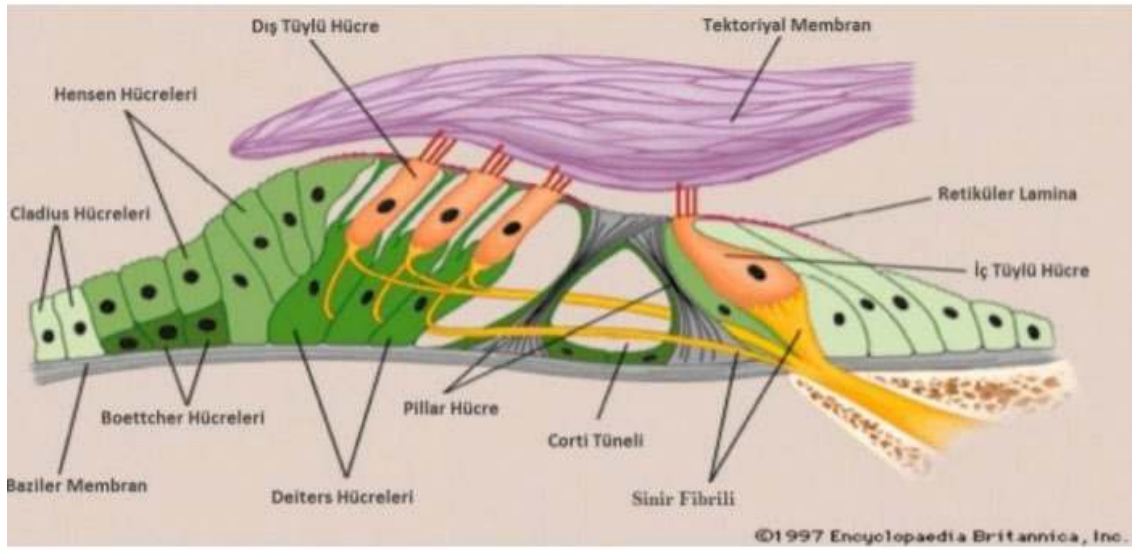
bulunurken membranöz labirentin içinde K^+ 'dan zengin endolenf sıvısı ile doludur. İçi sıvı ile dolu olan koklea Resisner membran ve Baziller membran tarafından yukardan aşağı doğru sırasıyla scala vestibuli, scala media ve scala tympani olarak üç parçaya ayrılmıştır. Scala vestibuli ve scala timpaninin birleşerek oluşturduğu yapıya helicotrema adı verilir. Bu yapı sayesinde scala vestibuli ve scala timpani arasındaki basınç farkı ortadan kalkar. Scala timpani ve scala vestibuli perilenf adı verilen yüksek oranda Na^+ içeren bir sıvı ile doluyken scala media ise endolenf adında yüksek oranda K^+ içeren sıvı ile doludur.^{16,17}



Şekil 1. Koklea Kesiti¹⁸

Baziller membran üzerinde Korti organı vardır ve cortilenf sıvısını üretir. Korti organı birçok yapıdan oluşur. Hensen hücreleri, deiters hücreleri, dış tüylü hücreler ve iç tüylü hücrelerden oluşur. Korti organında dış tüylü hücrelerin etrafını saran boşluğa nuel boşluğu dış tüy hücre ve iç tüy hücre arasındaki boşluğa ise korti tüneli adı verilir. Korti organı Cladius, Boetctcher, Hensen, Deiters, dış pillar, iç pillar, iç falengeal(Retzius), iç

sınır(Held), hücreleri gibi destek hücrelerden ve tek sıra iç tüylü ve üç sıra dış tüylü sönörinöral hücrelerden oluşur. Bu hücreler arasında bazal turnde olup apekte olmayan sadece Boettcher hücreleridir. Destek hücreler ve sensörinöral hücrelerin apikal prosesleri retiküler laminayı oluşturur.^{12,19} Tektorial membran ise Korti organının üzerine uzanan bir yapıdır. Korti organında yaklaşık 12500 adet dış tüylü, 3500 adet iç tüylü hücre mekanik enerjinin elektriki potansiyele çevrilmesinde görev alır.²⁰



Şekil 2. Korti Organı²¹

2.1.2.İşitme ve Denge Sistemi Fizyolojisi

2.1.2.1.İşitme Sistemi Fizyolojisi

Kulak kepçesi atmosferde oluşan ses dalgalarını toplar ve dış kulak kanalı aracılığıyla timpanik membrana iletir. Bu sırada ses lokalizasyonu ve belirli frekanslarda amplifikasyon sağlanır. Timpanik membrana gelen ses orta kulağa ulaşır ve kemikçikleri titreştirir. Orta kulak ses enerjisinin kaybettiği enerjiyi telafi ederek stapes tabanının alt kısmında bulunan oval pencere vasıtasıyla iç kulağa iletir. Scala vestibulide başlayan titreşim scala timpani aracılığıyla yuvarlak pencereye ulaşır. Stapes hareketi esnasında orta kulağa doğru bombeleşen yuvarlak pencere membranı perilenf sıvısının hareket etmesini sağlar. Koklear sıvılarda meydana gelen bu dalgalanma sonucunda baziller membran titreşir. Bekesy'e göre baziller membranda yer değişimlerine yol açan bu durum 'travelling wave' (ilerleyen dalga teorisi) olarak adlandırılır.²²

2.1.2.1.1.İşitme Siniri Fizyolojisi

Tüy hücrelerinde oluşan mekanik hareketin elektrokimyasal sinyallere dönüşümü iç tüy hücrelerinin bazal kısmından nörotransmitter salınımı ile başlar. Nörotransmitterler sinaptik boşluğu geçerek sinir liflerinin post sinaptik membranında bağlanmış yerleşmiş reseptörlere bağlanırlar. İç kulak ile beyin sapı arasındaki sinir demeti işitme siniri olarak adlandırılır. Yeterli nörotransmitter salınımı halinde, afferent sinir lifleri ateşleme yaparak işitme siniri boyunca ilerleyip beyin sapına ulaşan elektrşk sinyallerini oluşturur. İşitme siniri 8. Kranial sinir plan vestibülokoklear sinirin bir parçasıdır. İşitme siniri bipolar bir sinir olup hücre gövdeleri (spiral ganglionlar) kokleada Rosenthal kanalı içerisinde bulunur. Dentritler tüy hücreleriyle sinaps yaparken aksonları koklear çekirdeklerde diğer sinir hücreleriyle sinaps yapar. Baziller membrandaki tonotopik organizasyon aynı şekilde işitme sinirinde de devam eder.^{23,24}

2.1.2.2.Denge Sistemi Fizyolojisi

Semisürküler kanallar kafa pozisyonu her değiştiğinde bu değişikliği algılayarak gözlerin kafa hareket yönünün tam tersi yöne doğru ve kafa hareketinin büyüklüğüne eşit şekilde kaymasını sağlayacak uyarılar iletirler. Bu durum kafa hareketi sırasında nesnenin retinadaki görüntüsünün sabitlenmesini sağlar. İletilen uyarılar vestibüler çekirdekler ve medial longitudinal fasikulus yoluyla gözleri hareket ettiren kaslara iletilir. VOR, refleks yollarının köken aldığı vestibüler duyuşal yapılara göre kanal-oküler ve otolit-oküler refleksler gibi alt başlıklarda incelenebilir.²⁵

Kanal oküler refleks semisürküler kanalın ampullasının uyarılmasıyla başlar. Gözler uyarılan kanal düzleminde hareket eder. Ewald kanunlarında endolenf akımının yönü ile göz ve baş hareketleri arasındaki ilişki 3 kural ile açıklanmıştır.²⁵

1.Göz hareketleri endolenf akımının meydana geldiği kanal düzleminde dir.

2.Lateral semisürküler kanalda ampullopetal endolenf akımı, ampullofugal endolenf akımına oranla daha büyük bir uyarım sağlar.

3.Anterior ve posterior kanallarda ampullofugal endolenf akımı, ampullopetal endolenf akımına göre daha büyük uyarım sağlar.

Kalsiyum karbonat kristallerine otoconia veya otolit adı verilir. Makulaların yapısında otolit bulunduğu için sakkül ve utriküle otolitik organlar da denir. Otolitik organlar yerçekimi etkisini ve doğrusal hareketleri saptarlar. Kişi dik dururken utrikul

yatay düzlemde bulunurken, sakkül dikey düzlemde bulunur. Utrikül ve sakkül makulasında tüylü hücrelerin yerleşim yönlerinin farklı olması farklı hareketlere hassas olmalarını sağlar. Utrikül daha çok yatay düzlemdeki doğrusal kafa hareketlerine, sakkül ise daha çok yerçekimi ve dikey düzlemdeki kafa hareketlerine hassastır.²⁵

Vestibüler sinir, süperior ve inferior vestibüler sinir olarak ikiye ayrılır. Süperior vestibüler sinir utrikül, anterior ve lateral semisürküler kanalları; inferior vestibüler sinir ise posterior kanalı ve sakkülü innerve eder. Vestibüler sinir, İAK içinden geçerek iletiyi vestibüler çekirdeklere ulaştırır.²⁶

Vestibüler çekirdekler beyin sapında yaklaşık olarak medulla ile pons arasına yerleşirler. Süperior, inferior, medial ve lateral olmak üzere 4 adet vestibüler çekirdek bulunur. Süperior ve medial vestibüler çekirdek Vestibulo-oküler Refleksten (VOR) sorumlu iken; Medial vestibüler çekirdek Vestibulo-spinal Refleksten (VSR) sorumludur. Hızlı ve beklenmedik kafa hareketleri esnasında postürün korunmasını sağlar. Lateral vestibüler çekirdek utrikül ve sakkülden gelen bilgileri alır fakat öncelikli görevi VSR den sorumlu olmasıdır. Inferior vestibüler çekirdek, afferent ve efferen sinir ağlarıyla vestibüler çekirdeğin diğer vestibüler yapılarla arasındaki iletişimi sağlar.²⁶

2.1.2.2.1.Vestibülo-Oküler Refleks

Vestibülo-oküler refleks, başın hareketlerine karşılık göz hareketleri oluşturarak net bir görüş sağlar ve çok hızlı çalışan bir reflekstir. Baş bir yöne hareket ettiğinde gözler tam tersi yöne hareket eder böylece görüntü foveada sabit kalır. SSK'lar baş hareketlerini algılayarak gözlerin başın tam tersi yönde doğru kaymasını sağlayacak uyarıları iletirler. Uyarılar, vestibüler çekirdekler ve medial longitudinal fasikulus yoluyla göz kaslarına iletilir.

Horizontal kanal VOR'da ipsilateral yol medial rektus kasını; kontralateral yol ise lateral rectus ve medial rectus kasının kasılmasını sağlar.

Süperior kanal VOR'da kontralateral inferior oblik ve ipsilateral süperior rektus kasları uyarılır. Çift taraflı süperior kanal uyarımı gözlerin yukarı deviasyonuna (downbeat nistagmus) neden olur. Tek taraflı olması torsiyonel özellik kazandırır.

Posterior kanal VOR'da ipsilateral süperior oblik ve kontralateral inferior rektus kasları uyarılır. Çift taraflı inferior kanal uyarımları aşağı deviasyona neden olur.²⁷

2.1.2.2.2.Vestibülo-Spinal Refleks

VSR, günlük aktivitelerde vücudun stabilitesini sağlayan motor kontrol mekanizmalarıdır. Kanal ve otolit reseptörlerin uyarımı düşmeyi engellemek ve postürü stabil tutmak için gerekli olan boyun ve vücut kaslarının aktivasyonunu sağlar. SSK'lerden ve otolitlerden gelen linear ve açısal baş hareketi ipsilateral ekstansör kas tonusunun artmasına ve ipsilateral fleksör kas tonusunun azalmasına neden olur.²⁸

2.1.2.2.3.Vestibülo-Kolik Refleks

Vestibülo-kolik refleks, otolit organlardan ve semisürküler kanallardan gelen girdilerin boyun kaslarına iletilmesiyle başın stabilizasyonunu sağlar. Utrikul, sakkül ve semisürküler kanallar tarafından oluşturulan harekete karşı zıt yönde refleks baş hareketini meydana getirir. VKR yolu sakkülden kaynaklanan sinyalleri ipsilateral boyun kaslarına taşır. Bu refleks arkı WEMP (Vestibüler uyarılmış miyojenik potansiyeller) kayıtları aracılığıyla ölçülür.^{25,28}

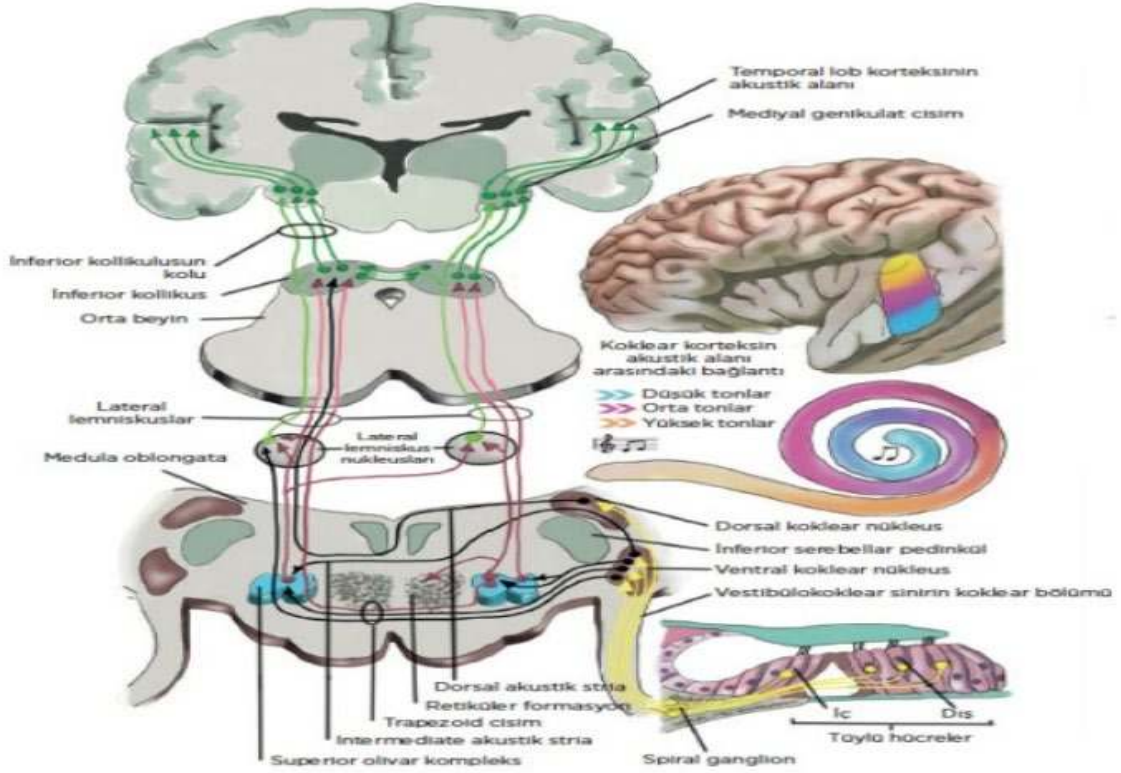
2.1.2.Santral İşitsel Yolları

Santral işitme sistemi farklı nöral yollardan oluşan, kompleks uyarıların tanımlayıcı özelliğe sahip olan bir sistemdir. Başlıca fonksiyonları sesin lokalizasyonu ve lateralizasyonu, işitsel ayırt etme, işitsel dikkat ve işitmenin temporal özelliklerini içerir.^{13,29}

İşitsel bilginin işlenmesi için önem arz eden yedi farklı yolak bulunmaktadır. Bunlar; Medulla oblongata, koklear nükleus, süperior olivrik kompleks, lateral lemnisküs, inferior kollikulus, medial genikulat cisim ve son olarak bilginin işlendiği işitsel kortektir.²⁹

Afferent sistemde (korti organından koklear nükleuslara çıkan yol) tek bir iç tüylü hücre birden çok tip1 spiral ganglion hücresi ile sinaps yaparken tip2 spiral ganglion hücreleri dış tüy hücreleriyle sinaps yapar. Efferent sistemde (korti organına doğru inen yol) ise süperior olivar kompleksten başlayarak dış tüy hücrelerde veya tip 1 spiral ganglion hücrelerinde sonlanarak korti organına efferent uyarı sağlar. Alınan uyarılar koklear sinir yoluyla santral işitme yoluyla işitsel kortekse ulaşır. Temporal lobun süperior temporal girusunda yer alan Brodman 41 ve 42 numaralı alanları içeren primer işitse korteks, sekonder işitsel korteks ve nonspesifik asosiasyon bölgeleri ile çevrilidir.

İşitme korteksindeki nöral organizasyon tabakalı ve işitme sisteminin tüm parçalarında olduğu gibi tonotopiktir.^{30,31}



Şekil 3. Kokleadan işitsel kortekse kadar işitme yolları²⁹

2.2. Rat Kulak Anatomisi ve Fizyolojisi

Wistar Albino ratlar, geniş kafa yapısına sahip vücut uzunluğunu geçmeyen kuyruk uzunluğu olan ve beyaz renkli tüyleri olan sıçan türüdür³². Çabuk üreyebilmeleri, bakımlarının kolay olması ve saldırgan mizaçlı olmamaları nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih sebebidir.³³ Ratlar, özellikle son yıllarda sağlık bilimleri ile ilgili çalışmalarda aşı, ilaç, tıbbi malzemelerin geliştirilmesi gibi yapılan pek çok çalışmada kullanılmaktadır.^{34,35} İşitme ile ilgili hayvan modellerinde ratlar, insan kulak anatomisiyle yakın benzerlik göstermesi sebebiyle sıklıkla tercih edilen hayvan türüdür.

Sıçan dış kulak yolu, hilal şeklinde olan tabandaki 3 adet kemik halka ve ve bir adet kıkırdak halka tarafından oluşturulur. Dış kulak yolunun medial kısmını insandaki mastoid hücrelerine benzeyen bulla oluşturur.^{36,37}

Sıçan orta kulağı insan orta kulağına benzer anatomik özelliklere sahiptir. Kemikçikler insan standart boyutunun yaklaşık dörtte biri büyüklüğündedir.^{38,39} Pars tensa ve pars flaksida yapılarının boyutları da tamamen farklıdır. İnsan kulağında pars flaksida timpanik membranın total boyutuna kıyasla çok küçük bir boyuta sahipken ratlarda pars flaksida timpanik membranın 1/4 ila 1/3'ünü oluşturur. Sıçanlarda östaki tüpü ise kartilaj yapıya sahiptir.

Sıçan orta kulağı temporal kemiğe yerleşmiş ve iyi korunmuştur. Buna rağmen timpanik membran muayenesi otomikroskop ile kolayca yapılabilir. Fakat mastoid hücreler yerine ratlarda timpanik bulla mevcuttur.^{38,40}

Ratlarda koklea, 9-11 mm boyutunda timpanik bulba içerisindeki en belirgin yapı olup modiolus etrafında 3 tur dönüş yapar.⁴¹ Koklea insanda olduğu gibi scala vestibüli, scala timpani ve scala media olmak üzere 3 bölümden oluşur. Oval pencere scala vestibüliye açılırken yuvarlak pencere scala timpaniye açılır. Scala vestibüli ve scala timpani içerisinde perilemf bulunur. Scala mediada ise endolemf sıvısı bulunur.⁴² Ratlarda dış tüylü hücre sayısı 7000 civarında iken iç tüylü hücre sayısı 2000 kadardır. İşitsel sinir fibrillerinin sayısı 3000 civarındadır.

Memeli canlıların çoğu, 12 kHz ve üzerindeki seslere duyarlıdır. Ratlar ise 250 Hz. ile 80 kHz arasındaki frekanslarda işitme duyarlılığına sahiptir.

Ratların işitmesi yüksek frekanslarda alçak frekanslara göre daha iyidir. İşitmenin en duyarlı olduğu frekanslar 8-32 kHz'dir ve 32 kHz'den sonra işitme kötüleşmeye başlar.^{36,43} Rat kokleası insanda olduğu gibi tonotopik organizasyona sahiptir. Fakat işitme frekanslarının farklılığı nedeniyle tonotopik organizasyon benzer değildir.⁴⁴

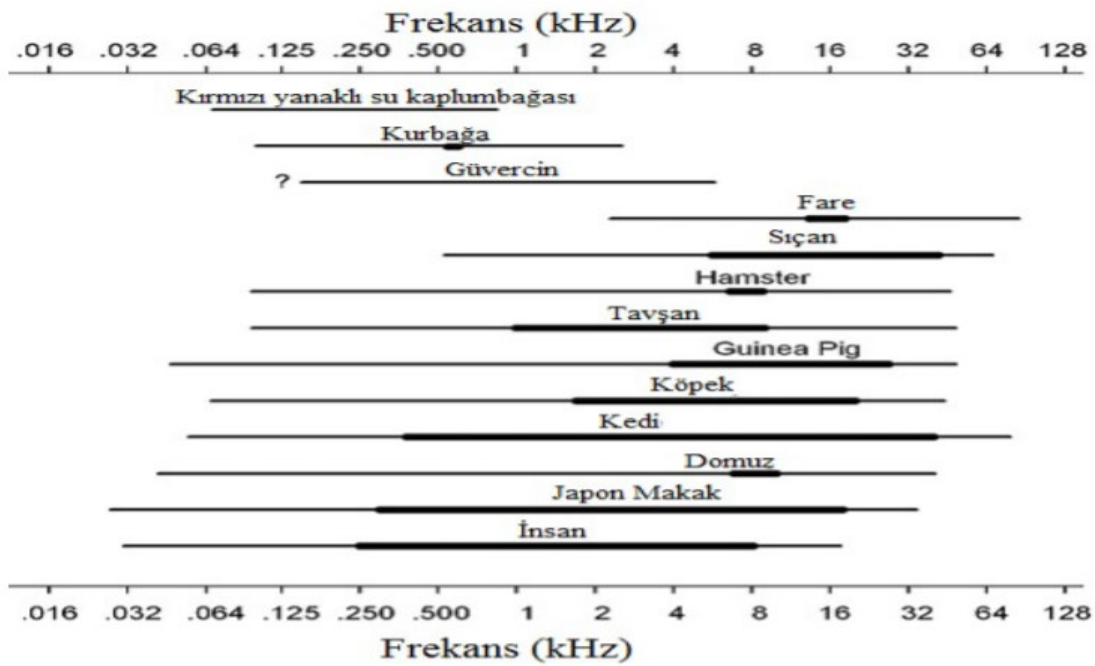
Denge organı: Ratlarda da denge organı kemik ve membranöz labirente sahiptir. Anterior semisürküler labirentin dorsalaterali gösteren verteksi 7.00 mm uzunluğunda ve 0.21 mm genişliğindedir. Kanal sagittal düzlemle 27.2° transvers düzlemde 52.7° açı yapmaktadır. Posterior semisürküler kanalın verteksi 6.00 mm uzunluğunda ve 0.22 mm genişliğindedir. Posterior kanalın düzlemi sagittal düzlemde 27.6° ve transvers düzlemle 60.7° açı yapar.

Lateral semisürküler, uzunluğu 6.1 mm genişliği 0.22 mm'dir. Ampullası 0.79 mm uzunluğunda, 0.55 mm genişliğindedir. Horizontal düzlemle kanal 28.4° açı yapar.

Lateral semisürküler kanalın nonampuller ucu iletişimi sağlamak için posterior kanalın ampuller ucuyla birleşir.

Anterior ve posterior semisürküler kanallar $102.3^{0'lik}$ bir açı oluştururlar. Bu açı anterior ve lateral kanallar arasında 89.7^0 , posterior ve lateral kanal arasında 89.8^0 'lik bir açı oluşturur.⁴⁵

Utrikulus bir tarafta anterior ve lateral kanalın ampullasının diğer tarafta commun crusun ve posterior kanalın ampullasının arasında yerleşmiştir. Sakkulus laterale doğru yassılaşmıştır ve kross kesitte üçgen şeklindedir.⁴⁶



Şekil 4. Laboratuvar hayvanları ve insanlardaki işitme frekans aralıkları.

Kalın çizgi 10 dB Sound Pressure Level (SPL), ince çizgi ise 60 dB SPL şiddetindeki eşik değerleri göstermektedir.³⁶

2.3. Ototoksisite

Ototoksite çeşitli teröpatik ajan veya kimyasal maddelerle karşılaşma sonucu iç kulak yapılarının etkilenmesiyle koklear ve vestibüler organlarda oluşan hasarlanmadır.⁴⁶ Kalıcı veya geçici oluşabilen bu durum işitme kaybı ve/veya denge bozukluğuna yol açabilen önemli bir nedendir.

Ototoksik ilaçlar korti organında bulunan dış tüy hücrelerinde ve vestibüler sistemde tip 1 tüy hücre hasarına neden olur. Tüy hücrelerindeki hasar, kokleanın bazal kısmından apikal kısmına doğru ilerler.⁴⁷ Periferik vestibüler sistem ototoksitesi, tüy

hücrelerinin kısmen ve tamamen hasarlanmasına neden olabilir. Vestibüler sistem hasarı daha çok kendini dengesizlik şeklinde gösterir. Hastalar dizziness veya denge kaybından yakınır. Vestibüler semptomlar zamanla kompanseuar mekanizmalarla birlikte azalma eğilimindedir.⁴⁸ Ototoksitede sıklıkla görülen semptomlar tinnitus, işitme kaybı, baş dönmesi ve hiperakuzidir.⁴⁹

Aminoglikozitler, diüretikler, kematerapotikler, anti inflamatuvarlar, anti hipertansifler, antibiyotikler, antimalaryaller ototoksik etkilere neden olabilen ajanlardır. Bireylerde ototoksik bir ajan kullanımı toksisite düzeyinde farklılıklar gösterebilir.⁵⁰ Bu kişisel farklılıklar bireyin mevcut hastalıkları, aile öyküsü, ek ilaçları, tedavi süresinin uzun olması, yaşı, önceden snik işitme kaybı olması, böbrek yetmezliği olması ve çeşitli gen mutasyonlarına bağlı olarak oluşabilir.

2.3.1. Aminoglikozit Ototoksitesisi

Aminoglikozitler, çeşitli bakteriyel enfeksiyonlar ve tüberküloz tedavisinde kullanılmak üzere 1940'lı yıllarda üretilmiş olan antibiyotiklerdir.⁵¹ İlk üretilen ajan streptomisindir ve daha sonra türevleri geliştirilmiştir. Diğer önemli aminoglikozitler, gentamisin, tobramisin, amikasin, neomisin ve kanamisinidir.² Mide ve bağırsak sisteminden emilimleri çok zayıf olması nedeniyle genel kullanımları lokal veya parenteral şekildedir. Her iki kullanımda da toksisite gelişebilir. En çok kalıcı ototoksiteye sebep olan ilaç neomisin olup, gentamisin, kanamisin, tobramisin olarak sıralanabilir. Aminoglikozitler hem vestibülotoksik hem de kokleatoksik özelliktedirler. Streptomisin ve gentamisin daha çok vestibülotoksik etkiye sahipken; amikasin, kanamisin ve neomisin kokleatoksik etkiye sahiptir. Tobramisin hem kokleatoksik hem de vestibülotoksik etkileşim gösterir.^{52,53}

Bu toksisiteler klinikte işitme kaybı, baş dönmesi ve tinnitus olarak kendilerini gösterir. Aminoglikozit kullanımından sonra 10 db'lik işitme kaybı ototoksite olarak kabul edilmiştir. Kokleotoksik etki olarak yüksek frekansları tutan kalıcı ve bilateral sensörinöral tip işitme kaybı görülmektedir. Vertigo, nistagmus, mide bulantısı ve kusma vestibülotoksik etki sonucunda görülmektedir.⁵⁴

Kokleotoksik etki kokleanın ilk olarak bazal kıvrımındaki tüylü hücrelerde başlayıp daha sonra kokleanın apikal bölgelerine doğru ilerler. Bu yüzden işitme kaybı öncelikle yüksek frekanslardadır. İlerleyen dönemde Corti organında bulunan diğer

hücreler de etkilenebilir ve apikal bölgelere ve nöronal yapılara doğru ilerleyebilir. İç tüy hücrelerinin etkilenmesiyle konuşma frekanslarında da kayıp gelişebilir. Hastalar işitme kaybını 3000-4000 Hz frekanslarında 30 db'lik kayıp oluşmadan farketmezler. İlacın kesilmesiyle ototoksiteden etkilenen hastaların yarısında işitme kaybı düzelebilir. Vestibülotoksik etki sonucunda ise krista ampüllaris apeksindeki tüylü hücreler, utrikuler ve sakküler makülanın striolar bölgesi hasarlanır. Tip 1 hücreleri ise Tip 2 hücelere kıyasla daha fazla etkilenir.^{2,55}

2.3.2. Aminoglikozit Ototoksitesinin Etki Mekanizması

Aminoglikozitlerin neden olduğu işitme kaybının hücresel temeli, kokleadaki tüy hücrelerinin harabiyetidir. Ancak bu durum biyokimyasal düzeyde henüz tam olarak anlaşılamamıştır.^{56,57}

Aminoglikozitlerin, iç kulakta serbest radikaller ürettiği, ardından duyuusal hücelere ve nöronlara hasar vererek kalıcı işitme kaybına neden olduğu görülmektedir. Histopatolojik çalışmalar dış tüy hücrelerinin iç tüy hücrelerine kıyasla ototoksik hasara karşı hassasiyetinin daha fazla olduğunu göstermektedir.^{57,58}

Gentamisin, dış tüy hücre çekirdeklerinin yoğunlaşmasına, ardından mitekondrial membran potansiyelinin kaybına ve apoptosise neden olur.⁵⁹ Gentamisin kaynaklı ototoksitede rol oynadığı bilinen reaktif oksijen türleri, geçirgenlik gözeneklerinin açılmasını teşvik eder. c-June N-terminal kinase (JNK) yolu, in vivo gentamisin kaynaklı koklear ve vestibüler tüy hücre ölümüne neden olur.⁶⁰

Koklear ve vestibüler tüy hücrelerindeki ototoksitenin geleneksel açıklaması mitokondriyel hücre protein ssentezinin inhibisyonu olsa da, birçok aminoglikozitin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü üzerindeki poliamin bölgesindeki agonist etkilerinin bir sonucu olarak tüylü hücrelerde ototoksiteye neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır.^{61,62} Aminoglikozit antibiyotikler, endojen poliaminlerin pozitif modülatör etkilerini taklit edebildikleri için, bir poliamin bölgesiyle etkileşime girerek NMDA reseptörlerinin işlevini artırır.^{63,64} Bundan dolayı yüksek doz aminoglikozitler, NMDA reseptörü ile ilişkili kanaldan kalsiyum girişini artırabilir. Bu durum tüylü hücreler ve koklear sinir liflerinin dejenerasyonuna neden olurlar.⁶²

2.4. Antioksidan Ajanlar

İlaçların ototoksik etkilerini azaltmak veya önlemek için yapılan çalışmalar özellikle son yıllarda büyük oranda artış göstermiştir. Bu amaçla glutatyon, hiperbarik oksijen, salisilat, dexametazon, fenofibrat, d-metionin, resveratrol, memantin, piresetam, n-asetil sistein gibi ajanlar kullanılmıştır. Son yıllarda antibiyotiklerin toksisitesi konusundaki bilincin artmasıyla beraber bu konudaki incelemelerde artış görülmüştür. Spesifik olarak AG'lerin ototoksik etkilerini azaltmak için önerilen glutatyon ile yapılan çeşitli araştırmalarda serbest radikal etkilerini azaltarak AG'lerin tüylü hücrelerdeki toksik etkilerini azaltmış ve işitme kaybını önlemiştir. A-lipoik asit, fosfomisin ve demir şelatörleriyle yapılan çalışmalarda da olumlu sonuçlar alınmıştır.^{65,66,5}

Memelilerin hayvan deneyi modellerinde sıklıkla kullanılmasıyla beraber yeni ajan geliştirilmesi ve hatta uygulanan ajanın hastaya verilme yöntemlerinin birbirine olan üstünlüklerinin araştırılması sağlanmıştır. Ajan verilmiş şekli, dozlaması, ajanın hedef bölgeye iletilmesindeki dinamiklerin çözülmesi, iletim sırasındaki anatomik ve fizyolojik bariyer mekanizmalarını anlamak, bu çalışmaların amacını oluşturmaktadır.^{67,68,69}

Antioksidanlar, hücrelerin ROT/RNT'den zarar görmesine engel olan kimyasal maddelerdir. Normal koşullarda ROT/RNT düzeyini toksik olmayan seviyede tutarken, hücre içinde ROT/RNT artışına sebep olan patolojik durumlarda antioksidan savunma yetersiz kalmasıyla hücrede hasar oluşur. Antioksidan savunma sistemi, elektron çifti verici ve detoksifikasyon için gerekli enzimlerin çalışmasını yöneten bir katalizördür.¹⁹

Antioksidanların 4 farklı etki sistemi bulunmaktadır.

1-Serbest radikallere etki ederek tutma veya daha zayıf moleküllere dönüştürmesi topalayıcı etkisidir.

2-Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak inaktif biçime dönüştürmesi bastırıcı etkisidir. Bu etkiye vitaminler örnek verilebilir.

3-Serbest oksijen radikallerini bağlayıp zincirlerini kırarak işlevlerini bozma şekli zincir kırıcı etkisidir.

4-Serbest radikallerin neden oldukları hasarın onarılması onarıcı etkisidir.⁷⁰

Ototoksik ilaçların toksik etkilerinin azaltılması proinflatuar sitokinlerin ve oksidatif sistemi, oksidatif stres esnasında tüylü hücrelerde artmaktadır. Hasarın devamlılığında ise azalmaktadır.⁷¹ Ototoksiteye bağlı işitme kaybında ROT/RNT'leri

inaktive eden farklı antioksidanların kullanımıyla ototoksiteden korunma veya toksisite sonrası işitme kaybının düzeltilmesi amacıyla yeni çalışmalar yapılmaktadır.²¹

2.4.1. Karbon Monoksit Salan Molekül-3 (CORM-3)

Karbon monoksit salan moleküller (CORM'lar) kontrollü miktarlarda karbon monoksit (CO) salmak için üretilmiş kimyasal bileşiklerdir. CORM'lar CO'ı hücrelere ve dokulara götürebilmek için potansiyel terapötik ajanlar olarak geliştirilmektedir.

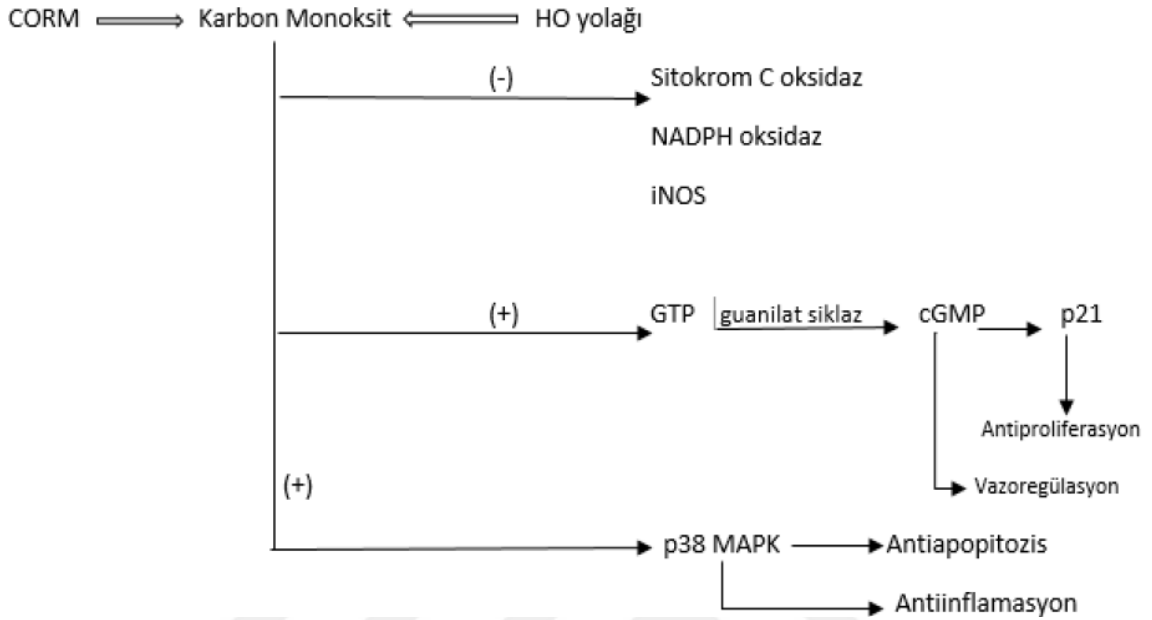
CO kömürün eksik yanmasından kaynaklanan zehirli bir gaz olarak bilinir. Aynı zamanda CO nitrik oksit (NO) ve hidrojen sülfitle (H₂S) birlikte bir gaz iletici endojen olarak bilinen bir nörotransmitterdir.⁶⁵ Endojen CO üretimi heme katabolizmasından sorumlu enzimler olan konstitütif (hemoksijenaz 2) ve indüklenbilir (hemoksijenaz 1) hem oksijenazların aktivitesi yoluyla gerçekleşir. CO'ın terapötik bir ajan olarak kullanılmasının sebebi kimyasal yapısından kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda CO molekülünün vasküler etkilerinin, antienflamatuvar özelliklerinin, antiapoptotik, antiproliferatif ve nöroprotektif etkilerinin olduğu keşfedilmiştir.

CO, düz kas hücrelerinde ve dolaşımdaki kan hücrelerinde önemli parakrin etkiler gösterir ayrıca damarlarda kas tonusunu sürdürmede etkilidir. Vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye de neden olabilmektedir. Vasküler düz kas hücreleri vasküler yaralanma sonucunda, yıkıma uğraya endotelial hücrelerin HO-1 hücrelerini indüklemesi sonucu açığa çıkan CO sayesinde vazodilatasyon, antiproliferasyon ve antitrombotik özellikler kazanırlar.⁷²

Vasküler hasarlanma esnasında, -1β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinleri salan monositler ve makrofajlar hasarlı bölgeyi sararak sitokin seviyelerinde artışa neden olur. Bununla birlikte Hemoksijenaz-1 enzimi uyarılır ve açığa çıkan CO cGMP miktarını artırıp nötrofillerin göçünü engellemektedir. Ek olarak CO'ın endotel hücrelerinin, fibroblastların ve pankreatik adacık hücrelerinin apoptozunu in vitro olarak inhibe ettiği gösterilmiştir.⁷³

HO-1 enzimi, MAPK enzimini aktive ederek endotelial hücre apoptozisini önlemektedir. Hasar nedeniyle HO-1'in aktivasyonu ile ortaya çıkan CO, hasarlı bölgede vasküler spazmı ve düz kas hücre proliferasyonunu önleyerek vasküler homeostazisi sağlar.⁷⁴ Yapılan çalışmalarda HO-1 enziminin nöroprotektif etkileri gözlemlenmiştir. CO'ın T-hücreleri, düz kas hücreleri ve kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu

baskıladığına dair çalışmalar mevcuttur. Ek olarak CO'nın nörotransmitter ve intrasellüler haberci olarak işlev gördüğü bilinmektedir.⁷⁵

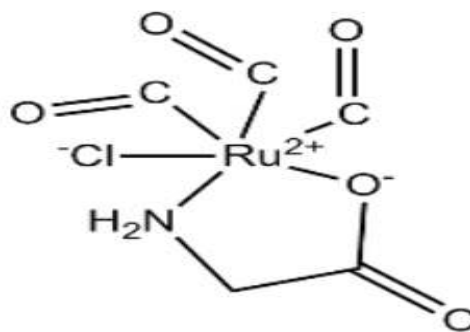


Şekil 5. CORM tarafından salınan CO mekanizması ve HO yolu⁷²

Bu çalışmalarla CO'nın canlılarda fizyolojik ve patolojik birçok durumla alakalı olduğu gösterilmiş ve karbon monoksit salınan moleküller (corm) üretilmeye başlanmıştır.

CORM-1 [$\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$] ve CORM-2 [$\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2$]'nin 400 mikromol/L konsantrasyonlarına kadar hücrelere zarar vermediği tespit edilmiştir.⁹

CORM'lar yalnızca organik çözücülerde çözünebilen ve CO'yu salabilmek için fiziksel ve kimyasal müdahalelere ihtiyaç duyan moleküllerdir. Suda çözünebilen ve CO'yu kolaylıkla salabilen ilk molekül trikarbonilkloro (glisinat) rutenyum (II) olan CORM-3'tür. CORM-3'ün vazodilatör etkiye sahip olduğu bilinmektedir.⁷⁶



Şekil 6. CORM-3 kimyasal yapısı⁷²

CORM-3, terapötik amaçlarla kullanılabilen, CO salabilmesi açısından aktif bir moleküldür. CORM-3'ün CO'yu salabilme süresi 1-5 dakika arasında değişebilmektedir. CORM-3 canlı hücrelerde ve fizyolojik solüsyonlarda CO'ı salabilmesine rağmen oda sıcaklığında suda ve asidik pH'da 24 saatten fazla stabil kalabilir.⁹ CORM-3'ün canlı organizmalarda kullanımıyla alakalı yapılan deneysel çalışmalarda terapötik dozlara ulaşılabilmiştir. Akut hipertansiyon, anjina, iskemik inme ve nörotransmisyon gibi patolojilerde CORM-3'ün canlı organizmalarda CO'yu hızla salıvermesi sayesinde sıkça kullanılan deneysel çalışmalar mevcuttur. CORM-3'ün terapötik konsantrasyonlarda organizmada olumsuz reaksiyona ve toksisiteye neden olmadığı gösterilmiştir.⁷⁷

2.5. Objektif Odyolojik Değerlendirme Yöntemleri

2.5.1. Otoakustik Emisyonlar

Otoakustik emisyonlar, iç kulaktaki dış tüy hücre hareketliliğinin sonucu oluşan enerjilerdir. İşitsel uyaran varlığı veya yokluğunda meydana gelebilirler. Korti organı otoakustik emisyonların güç kaynağıdır. Dış tüy hücrelerinin hareketliliği ve amplifikasyon özelliği nedeniyle oluşan düşük şiddette yayılımların otoakustik emisyonlar olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir.⁷⁸

İlk olarak Gold tarafından 1948 yılında kokleada aktif bir enerjinin olduğu belirtilmişse de kaydedilememiştir. 1978 yılında Kemp tarafından gelişen teknolojik şartların da etkisiyle otoakustik emisyonlar kaydedilmiştir.^{79,80}

Otoakustik emisyonlar prenöral cevaplardır. Dolayısıyla dış tüy hücre hasarına bağlı patolojilerden etkilenirler fakat iç tüy hücre hasarına bağlı patolojilerden etkilenmezler. Dış tüy hücreleri sahip oldukları prestin geni sayesinde uyarım sonrası uzunluklarında değişim gösterirler. Yapılan bir araştırmaya göre prestin geni olmayan farelerde azalmış dış tüy hücre uzunluğu ve hareketsizliği tespit edilmiştir. Otoakustik emisyonlar tüy hücre stereociliasının aktif tüy hücre demet hareketliliğinden kaynaklanmaktadır. Dış tüy hücrelerin hareketiyle korti organının vibrasyonu artar ve koklea içinde artı bir ses kaynağı gibi davranır. Bu duruma “koklear amplifikasyon” denir. Bu sebeple akustik travmalarda dış tüylü hücreler üzerindeki etkilenme daha fazladır. Stavroulaki ve ark.⁸¹, gentamisin ajanı kullandıkları çalışmasında tedavi öncesi ve sonrası odyolojik değerlendirmede anlamlı farklılık saptanmamasına rağmen, OAE testinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit etmiştir. Bu çalışmayla da OAE

testinin kokleanın fonksiyonunu değerlendiren önemli bir ölçüm aracı olduğunu belirtmiş. Ayrıca gentamisin ototoksisitesinin erken dönemlerinde OAE testi kullanılarak ölçümlenebileceğini belirtmiştir.^{82,83}

Otoakustik emisyonlar dış kulak kanalına yerleştirilen bir probe ile probe içerisine yerleştirilen hassas bir mikrofon aracılığıyla ölçülür. Probe akustik uyarıyı gönderen hoparlöre de sahiptir. Ölçülen otoakustik emisyon tipine uygun olarak analiz edilir.⁸³

2.5.1.1. Otoakustik Emisyon Türleri

Otoakustik emisyonlar oluşum mekanizmalarına göre iki gruba ayrılır. Herhangi bir uyarı olmaksızın kaydedilen OAE'ler ve akustik uyarı varlığında kaydedilen 'uyarılmış otoakustik emisyonlar' dır.

Spontan Otoakustik Emisyonlar

Probe mikrofon tarafından herhangi bir akustik uyarı olmaksızın kaydedilen, sürekli ve dar bant genişliğindeki saf tonlar şeklinde emisyon sinyalleridir. Normal sınırlarda işitmeye sahip olan bireylerin %50-70'inde spontan emisyon mevcut olabilir.⁸³

Distorsiyon Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

DPOAE, iki eş zamanlı saf-ses sinyalin kulağa yerleştirilen prob üzerinden verilmesiyle koklea tarafından üretilen cevaptır. DPOAE oluşturan primer sesler f1 ve f2 dış uyarı olarak gönderilirler. DPOAE cevabının en belirgin olduğu nokta 2f1- f2 formülünde koklear bölgesinde oluşmaktadır. Bu frekansta dış tüy hücrelerinin fonksiyonu en iyi şekilde yansıtılır. Bu primer saf seslere karşılık gelen ses şiddetleri sırasıyla L1 ve L2 olarak adlandırılır. L1 65, L2 55 dB SPL şiddetindedir. İki frekans arasındaki uzaklık L1/L2 ile ifade edilir ve bu oran 1,22 olduğunda kokleanın en iyi cevap verdiği orandır.

DPOAE'ler frekansa özel yanıtlardır ve 0.5-8 kHz arasında güvenilir olarak kaydedilir. DPOAE yanıtları sensörinöral işitme kaybından etkilenirler ve 40-50 dB HL'den daha fazla kayıplarda DPOAE yanıtları alınamaz. Bu sebeple yapılan çalışmalarda ototoksisitede güvenilir bir test yöntemi olarak kullanılabilirler.⁸³

2.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)

İşitsel uyarı tarafından koklear sinirden beyin sapının üst bölümüne kadar olan işitsel yollarda oluşturulan elektriksel aktivitenin kaydedilmesidir. İUBP dalgaları

uyaranın başlamasının ardından 2-12 msn içerisinde oluşmaktadır. İUBP ölçümlerinde latans, amplitüd ve dalga morfolojisi değerlendirilen parametrelerdir. İUBP yanıtlarında oluşan dalgalar, sekizinci sinirden beyin sapına kadar olan nöral yapılardan köken alır.⁸¹

İUBP dalga merkezlerinin anatomik kökenleri şu şekildedir:

- I. dalga: Koklear sinirin distal kısmı
- II. dalga: Koklear sinirin proksimal kısmı
- III. dalga: Ventral koklear nukleuslar
- IV. dalga: Superior olivar kompleks
- V. dalga: Lateral lemniskus ve inferior kollikulus.⁸³

İUBP'ler periferik ve santral işitme sisteminin değerlendirilmesinde kullanılan güvenilir bir elektrofizyolojik test yöntemidir. İşitme eşiklerinin belirlenmesi, koklear-retrokoklear patolojilerin belirlenmesi, yenidoğan işitme taramaları ve cerrahi bir girişim sırasında işitsel sinir sisteminin monitörizasyonunda kullanılır.⁸⁷ İUBP testinde farklı işitsel uyaranlar kullanılmaktadır. Klik ve ton burst uyaran olarak adlandırılan farklı özellikte 2 uyaran kullanılır. Klik uyaran geniş bant bir uyaran olup 500-4000 Hz bölgesine ait işitmeyi yansıtır. Fakat işitmeyi en iyi yansıttığı bölge 2000-4000 Hz frekans aralığıdır. Tone burst uyaran ise frekansa özel bilgi vermektedir.⁸³

2.6. Ratlarda Odyolojik ve Vestibüler Değerlendirme

Ratlarda işitsel fonksiyonlar objektif otoakustik emisyonlar ve işitsel beyin sapı cevaplarıyla değerlendirilmektedir. Vestibüler fonksiyonu değerlendirirken ise son dönemde davranışsal değerlendirme yöntemleri kullanılmaktadır.^{84,85,86}

Otoakustik emisyonlar dış kulak yoluna yerleştirilmiş bir prob ile ölçülür. Ölçümler sessiz bir ortamda anestezi altındaki ratlardan kısa sürede alınabilir. Bazal ölçümler sırasında emisyon yanıtları olmayan ratlar çalışma dışı bırakılır. Otomikroskopi muayenesi doğal olduğu görülen, DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlar araştırmaya dahil edilmektedir.⁸⁷

Araştırmaya dahil edilen ratlara uygulanan bir diğer objektif test ise işitsel uyarılmış beyin sapı cevapları (İUBP) testidir. Anestezi uygulanan sıçanın kulak ve vertekse yerleştirilmiş elektrotlar vasıtasıyla merkezi işitme yolları değerlendirilir.

Ratlarda İUBP yanıtlarında en belirgin olan ve eşik belirlemede kullanılan II. dalga morfolojisidir.⁸⁸

Ratlarda vestibüler fonksiyonları değerlendirmek için birçok davranışsal test yöntemi tanımlanmıştır. Bunlar arasında deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılanlar kuyruktan asma(tail hanging), havada düzelme(air rightinng) ve yüzme(swimming) testleridir. Nöromusküler gelişim değerlendirilmesinde kullanılan bu testler ototoksisiteye maruz kalan ratlarda denge davranışları analiz edilerek vestibüler etkilenme dereceleri belirlenmiştir.^{84,86,89,90}

Liorens tarafından uygulanan davranışsal test bataryasında sıçan veya farelere serbest alan incelemesi, kuyruk asma, havada düzelme ve yüzme testleri yaptırılmıştır.⁸⁹

Martin-Lorens ratlarda nitril türevlerinin vestibülotoksisitesini araştırdığı çalışmada kuyruktan asma testinde tek taraflı kasılma, dönme ve kafa çevirme hareketlerini etkilenme düzeyine göre 0-4 puan arasında puanlamış. R. Cassel ise farelerde unilateral vestibüler hasarı incelediği çalışmalarda etkilenmeyi davranışsal testlerle 0-3 puan arasında değerlendirmiştir. Etkilenme seviyesi Martin-Lorens'in çalışmasında vestibüler etkilenme skoru (VDRs: vestibular dysfunction ratings) olarak adlandırılmıştır. Tian ve arkadaşları da ratlardaki gentamisin ototoksisitesine kırmızı ginsengin etkilerinin araştırıldığı çalışmada sıçanların kuyruk asma ve yüzme testlerini yine 0-3 arasında derecelendirmiştir.⁸⁴ Cassel ek olarak hayvanların yüzme kalitesi, sudan çıkış anında kurulanma becerisi (grooming) ve sudaki dengesini de 0- 3 puan arasında puanlamış ve tek taraflı vestibüler etkilenmenin hasar düzeyini sayısal verilerle göstermiştir.^{89,91}

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığının 16.12.2022 tarih ve 8 sayılı toplantı kararının onayı ve TYL-2022-15512 proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Fonu desteğiyle yürütülmüştür. (Ek 1)

Araştırma, deneysel çalışma olarak planlandı. Araştırmanın odyolojik değerlendirmeleri, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Ünitesinde ve deneysel kısmı Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi.

Araştırmada ortalama 300-350 gr ağırlığında olan, 21 adet wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar araştırma süresince oda ısısında (21 ± 2 °C) ve 12'şer saatlik aydınlık/karanlık ortamında tutulup, standart pellet wistar rat yemi ve dinlendirilmiş musluk suyu ile ad-libitum beslendi, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

3.1.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmaya 21 ratın 21 kulağı dahil edildi. Tüm ratların işitme ölçümünden önce otoskop ile otoskopik bakısı yapılarak, dış kulak kanalları temiz olanlar ile otoskopik bakısı normal olanlar araştırmaya dahil edildi. Deney grupları aşağıdaki şekilde düzenlendi:

Grup 1 (Serum Fizyolojik kontrol grubu, n=7): Kontrol grubuna bazal işitme ölçümünün ardından 1. günden 5. güne kadar intraperitoneal yol ile serum fizyolojik (SF) uygulandı. 3. 5. 7. ve 10. günde işitme ve denge ölçümleri gerçekleştirildi. Onuncu günün sonunda eter anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 2 (Gentamisin grubu, n=7): Gentamisin grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. Ardından bu gruptaki hayvanlara 5 gün boyunca intratimpanik gentamisin uygulandı. Orta kulak boşluğunu doldurmak için (yaklaşık 20 ul/sıçan) sol kulağa intratimpanik gentamisin uygulandı. Üçüncü 5. 7. ve 10. gün davranış testleri ve işitme ölçümleri yapıldı. Onuncu gün son davranış testleri ve işitme ölçümünün ardından eter anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 3 (Gentamisin+CORM-3 grubu, n=7): Gentamisin+CORM-3 grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. Ardından gruptaki tüm hayvanlara 5 gün boyunca intratimpanik gentamisin uygulandı. Orta kulak boşluğunu doldurmak için (yaklaşık 20 ul/sıçan) sol kulağa intratimpanik gentamisin uygulandı. İlaç uygulamasının ardından 1 saat sonra 10 mg/kg/gün intraperitoneal yol ile CORM-3 uygulandı. Yarılanma ömrü göz önüne alınarak ilaç uygulaması 5. gün sonuna kadar günlük 10 mg/kg intraperitoneal yol ile CORM-3 enjekte edildi. Karaduman'ın rat ekstremitesinde CORM-3'ün iskemi reperfüzyon hasarına etkisini değerlendirdiği çalışma baz alınarak, çalışmamızda 10 mg/kg/gün CORM-3 uyguladık.⁷⁵ Üçüncü 5. 7. Ve 10. gün davranış testleri ve işitme ölçümleri değerlendirildi. Onuncu gün işitme ölçümünün ardından eter anestezisi altında kurban edildi. Deneysel modeller uygun şartlarda ve cerrahi setler ile gerçekleştirildi. Sakrifikasyondan sonra hayvanlar ve ortaya çıkan atıklar, tıbbi atık torbalarına alınarak Deney Hayvanları Laboratuvarı tarafından hastanenin imha bölümüne gönderilerek kurallara uygun koşullarda ve şekilde yok edildi. Gruplara yapılan uygulamalar, davranış testleri, işitme değerlendirmeleri ve ratların sakrifikasyonunun zamansal çizelgesi Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Gruplara uygulanan işlemlerin zamansal çizelgesi (sol kulak)

	Grup I	Grup II	Grup III
Çalışmanın 0.günü bazal değerlendirme	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR
Çalışma 1-5. gün	Anestezi Serum Fizyolojik enjeksiyonu	Anestezi İnatimpanik gentamisin uygulaması	Anestezi İnatimpanik gentamisin uygulaması Corm-3 enjeksiyonu

Çalışma 3. gün	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR
Çalışma 5. Gün	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR
Çalışma 5-7. Gün	İzlem	İzlem	İzlem
Çalışma 7. Gün	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR
Çalışma 7-10. Gün	İzlem	İzlem	İzlem
Çalışma 10. Gün	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR Sakrifikasyon	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR Sakrifikasyon	Vestibüler İnceleme Anestezi DPOAE ve ABR Sakrifikasyon

3.2. Veri Toplama Araçları

Ratların işitme duyarlılıklarının 0.25 kHz ile 80 kHz arasında olması ve ototoksisiteye bağlı işitme kaybı modellerinde işitsel fonksiyonların değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri testi ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon testi uygulandı. Ancak mevcut DPOAE test cihazı 1 kHz- 8 kHz frekans aralığında ölçüm yapabildiği için ve yüksek frekans ölçüm özelliğine sahip

olmadığı için 8 kHz üzeri DPOAE değerlendirmesi gerçekleştirilemedi. Görülebilir bir dış kulak yolu olan, kulak zarında veya orta kulakta herhangi bir patoloji olmadığı otomikroskopi ile doğrulanan, DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi. İşitme fonksiyonları değerlendirilmeden önce ratlara 40 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar flk, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin hidroklorid (Basilazine %2, Bavet) intraperitoneal uygulanarak anestezi sağlandı. Otoskopik bakışı doğal ve DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlara İUBP testi uygulandı. İşitmesinin normal olduğu odyolojik değerlendirme ile belirlenen ratların rastgele seçilmesiyle üç grup oluşturuldu. Yapılan deneylerde ajan uygulamaları sonrası etkilenmeler odyovestibüler testlerle incelenmiştir. Kokleovestibüler fonksiyon bozuklukları bu deneysel incelemeler sırasında birinci günden itibaren monitörize edilmeye başlanmıştır. Hayvanların vestibüler skorları davranışsal testlerle ölçülürken, işitsel fonksiyonlarını değerlendirmek için OAE ve IUBP kullanılmıştır. Biz de çalışmamızda sıçanların vestibüler fonksiyonlarını 3., 5., 7. ve 10. gün havada düzelmeye, yüzme ve kuyruktan asma testleriyle hesapladık. Testler yapılırken vestibüler değerlendirme sonrasında yapılan işitsel incelemeler öncesinde anestezi uygulandı ve 5 günlük multidoz uygulama sonrası 10. gün sıçanlar sakrifiye edildi.

3.2.1. Aminoglikozid Toksisitesinin Oluşturulması

Gentamisin uygulanan hayvanlara yapılmak üzere mililitresinde 100 mg gentamisin bulunan (Genta, Deva holding Türk AŞ. Çerkezköy Organize Sanayi Bölgesi) gentamisin orta kulak boşluğunu doldurmak için (yaklaşık 20 ul/sıçan) sol kulak zarının anterosuperior kadrından 5 gün süreyle yavaşça uygulandı. Sıçanlar 30 dk boyunca sol kulak yukarıda olacak şekilde aynı pozisyonda tutuldu.

3.2.2. Vestibüler ve Odyolojik İnceleme

Deney sırasında bazal değerlendirme, 3. gün, 5. Gün 7. gün ve 10. gün denge ve işitme testleri uygulandı. Vestibülopati; iç kulaktaki periferik denge merkezini oluşturan utrikul, sakkul ve yarım daire kanallarında oluşan hasar sonrası gelişen denge problemi. Vestibülotoksik girişimler ve ilaç uygulamalarındaki ideal dozaj ve kullanım şeklini saptayabilmek amacıyla birçok vestibulopati modeli oluşturulmuştur. Hayvan modellerinde vestibulopatiji derecelendirmek adına çeşitli tarifler yapılmış olsa da bunlar

arasında en kullanışlı olanı Llorens'in tanımladığı davranışsal test bataryası olmuştur. Yapılan araştırmalarda derecelendirme metodları da modifiye edilmiş ve etkilenme düzeyleri matematiksel olarak formüle edilmiştir. Biz de çalışmamızda vestibülün etkilenme derecesi monitörize etmek için Cassel'in fare modeli üzerindeki skorlamasını kullandık.^{89,91}



Resim 1. Swimming (Yüzme) Testi



Resim 2. Tail Hanging (Kuyruk asma) Testi

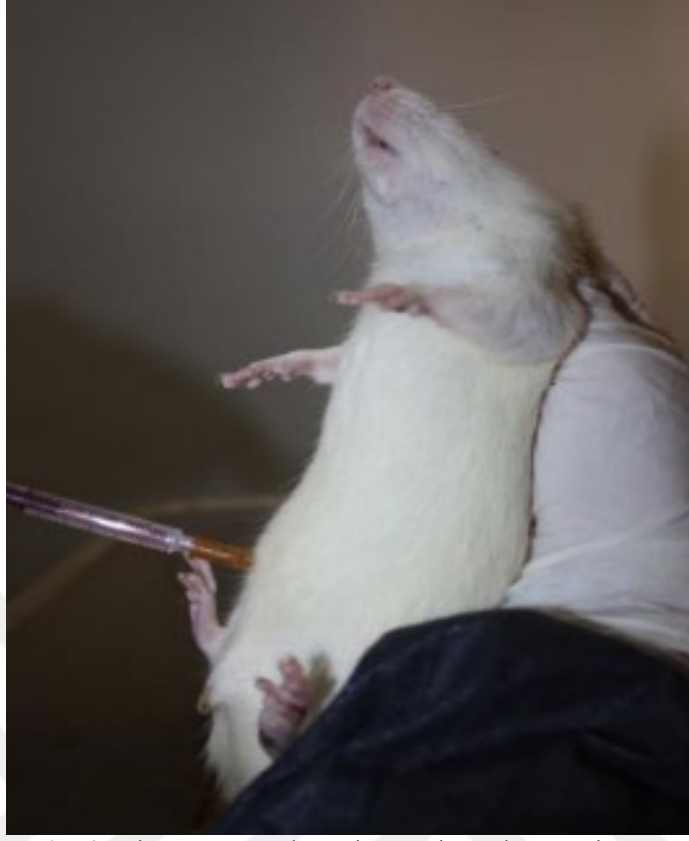
İncelemede Llorens'in tanımladığı yöntemler olan Tail-hanging (kuyruktan asma), Swimming (yüzme) ve air-righting (havada düzelme) testleri uygulandı. Testlerin değerlendirilmesi, ilaç uygulamalarından habersiz olan körleştirilmiş araştırmacılar tarafından 0- 3 arasında puan verilerek değerlendirildi.



Resim 3. Air Righting (Havada düzelme) Testi

3.2.3. Anestezi Yöntemi

DPOAE ve İUBP testleri öncesinde ratlara anestezi uygulandı. Öncelikle 40 mg/kg %10'luk Ketamin (Ketalar flk, Pfizer) ve 10 mg/kg Ksilazin (Basilazin %2, Bavet İlaç San. ve Tic. A.Ş) intraperitoneal yolla verilerek anestezileri sağlandı. (Resim 7) Ratlar, gürültü maruziyeti sonrası 7. gün DPOAE ve İUBP testlerinden sonra yüksek doz eter solutularak sakrifiye edildi.



Resim 4. Wistar rata uygulanan intraperitoneal anestezi yöntemi

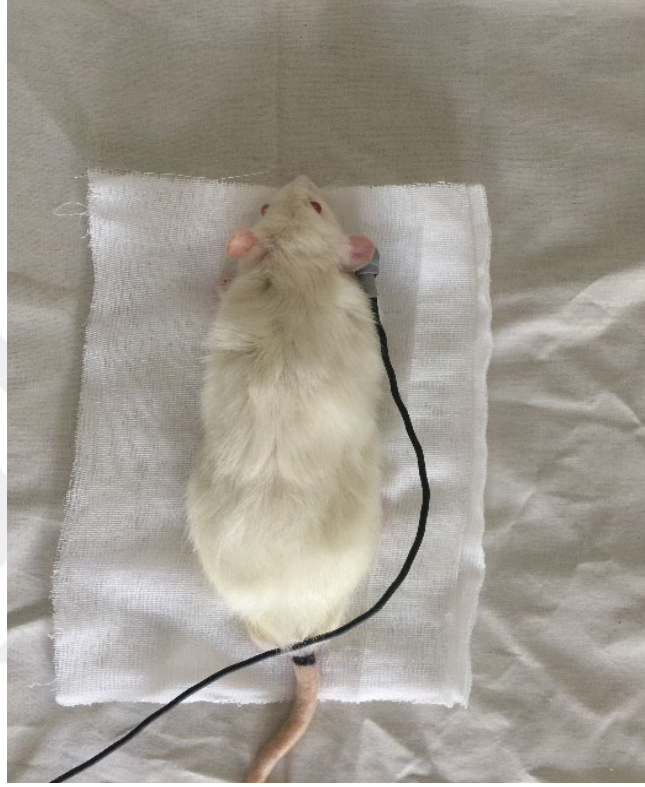
3.2.4. İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi (DPOAE) ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testi (İUBP); ratlara ototoksite maruziyeti öncesinde işitmenin bazal değerlendirmesi sonrasında gentamisin uygulanmasının 3., 5., 7. Ve 10. günlerinde işitsel fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla uygulandı. Odyolojik testler anestezi altında ve ortam gürültüsü 40 dB SPL (A)’nın altında olan sessiz odada uygulandı. DPOAE testinde 1 kHz sonrası tüm frekanslarda sinyal-gürültü oranı elde edilen ve İUBP testinde işitme eşikleri 25 dB SPL ve altında elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi.

3.2.5. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Testi

DPOAE testleri anestezi altındaki ratlara yatar pozisyon verilip proba uygun pozisyon verilmesi sağlandı. Sağ ve sol kulakları ayrı ayrı “Otodynamics ILO-V6 Cochlear Emission Analyzer”, 5.61 (Otodynamics, London) versiyonu kullanılarak test edildi. DPOAE testi için f_2 ve f_1 frekansları arasındaki oran (f_2/f_1) 1.22 olacak şekilde ayarlandı. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL ($L_1 = 65$ dB SPL, $L_2 = 55$ dB SPL)

şiddetinde tutuldu. DPOAE, f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz'deki sinyal-gürültü oranları kaydedildi (Resim 5). DPOAE'lar, 2f1-f2 frekansında ölçüldü. Her bir frekansta cevabın sinyal gürültü oranı 3 dB SPL'den büyük olarak elde edilen değerler OAE var olarak değerlendirildi.

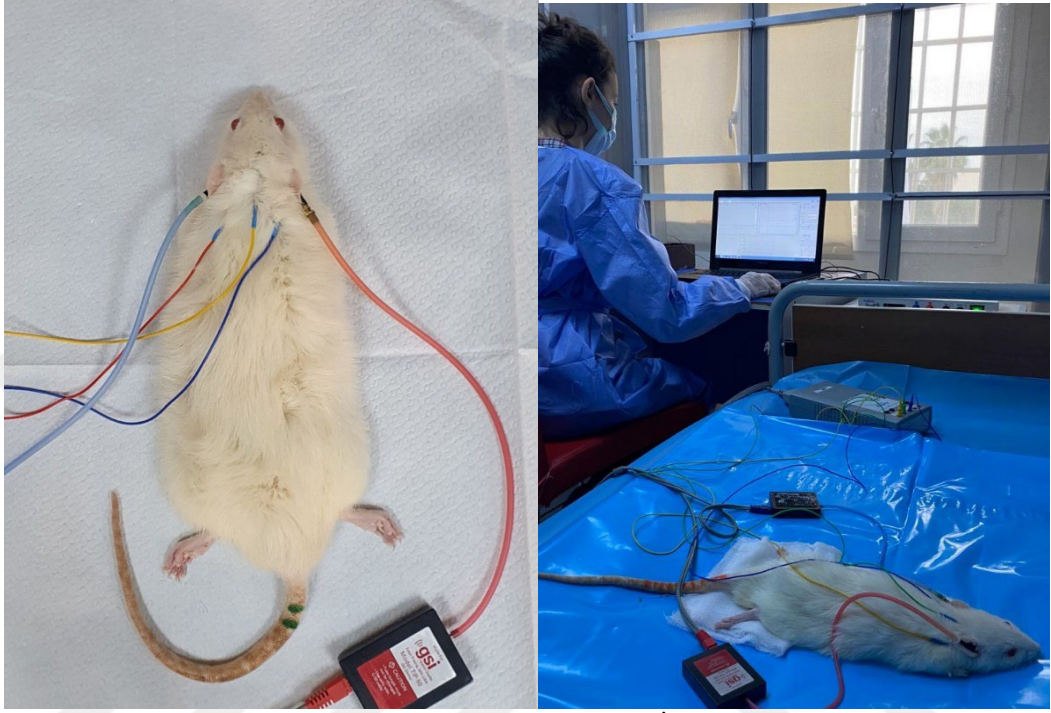


Resim 5. Wistar ratlara uygulanan DPOAE testi

3.2.6. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Testi

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri kayıtlamaları için GSI Audera cihazı versiyonu kullanıldı. Kayıt sırasında sub-dermal iğne elektrodlar kullanıldı. Aktif elektrod vertekse, referans elektrod test kulağına, toprak elektrod ise karşı kulağın ventrolateraline (kulak altı) yerleştirildi (Resim 6). Elektrod dirençleri 1 kohm'nin altında tutuldu. Elektrodlarla toplanan biyoelektriksel yanıtlar 31.3 mikrosaniye örnekleme hızında analogdan dijitale çevrildi. İUBP testinde 4, 6 ve 8 kHz'de, uyarının frekans spektrumunu daha darlaştırmak amacıyla Blackman zarfıyla, iniş-çıkış süresi 1000 ms olan ton burst uyarı kullanıldı. II. dalganın elde edildiği en düşük şiddet düzeyi ratın o frekanstaki işitme eşiği olarak kabul edildi. 70 dB SPL şiddetinden başlanarak II. dalga elde edildiğinde eşik üstü seviyelerde uyarı şiddeti 10 dB, eşiğe yaklaştıkça uyarı

şiddeti 5 dB azaltılırken, II. dalga elde edilmediğinde uyaran şiddeti 5 dB arttırılarak her iki kulağın işitme eşikleri belirlendi. İUBP testinde kullanılan kayıt ve uyaran parametreleri Tablo 2’de belirtildi.



Resim 6. Wistar ratlara uygulanan İUBP testi

Tablo 2. İUBP testlerinde kullanılan kayıt ve uyaran parametreleri

Kayıt-Uyaran Parametreleri	
Polarite	Alterne
Uyaran	4 kHz, 6 kHz 8 kHz Ton Burst uyaran
Uyaran Sıklığı	37.1 saniye
Zarf	Blackman
Kulaklık	Intelligent Hearing Systems ER3A insert earphone (300 ohm)
Averaj	1024
Örnekleme hızı	31.3 mikrosaniye
Amplifikasyon	0.5 μ V
Kayıtlama Filtresi	30- 3000 Hz bant geçirgen filtre

3.2.7. İlaç Uygulaması

Toz formdaki CORM-3, distile su içerisinde çözülerek günlük 10 mg/kg/gün dozunda olacak şekilde ayrı ayrı eppendorf tüplere konularak -20°C’de saklandı. Her gün tüplerdeki hazır dozlar oda sıcaklığına getirildikten sonra intraperitoneal yolla uygulandı (Resim 7). CORM-3, intratimpanik gentamisin uygulamasından 1 saat sonra başlanarak 5 gün boyunca her gün aynı saatte, intraperitoneal yol ile verildi. CORM-3 için uygulanan uygun intraperitoneal doz daha önce yapılmış araştırmalarda belirtilen dozlar dikkate alınarak belirlendi.



Resim 7. .Ratlara uygulanan intaperitoneal CORM-3 uygulaması

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum- maksimum) olarak özetlendi. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Bağımsız gruplarda T testi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. İki'den fazla grubun sayısal ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Tek Yönlü Varyans Analizi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu karşılaştırmalarda anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanması durumunda grup içi varyansların homojen olup olmamasına göre Bonferroni ve Games&Howell testleri kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanmaması durumunda ise Bonferroni düzeltmesi yapılmış Mann Whitney U testi kullanıldı. Aynı bireyler üzerinde farklı zamanlarda yapılan sayısal ölçümlerinin zaman içindeki değişimini karşılaştırmada tekrarlı ölçümler analizi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Araştırmamızda CORM-3'ün ototoksititeye bağlı işitme ve denge kaybında etkinliği değerlendirildi. Çalışmamızda her biri 7 wistar rattan oluşan 3 grup eşit şekilde rastgele ayrılarak DPOAE, İUBP ve davranışsal testler uygulandı. Gentamisin ve CORM-3 ajanları uygulandı ve deneyin 3., 5., 7., ve 10. günlerinde İUBP testi eşik, DPOAE amplitüd değişiklikleri ve vestibüler davranışsal değerlendirmeleri yapıldı.

4.1. Distorsiyon ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları

Tüm grupların bazal, 3.gün, 5.gün 7.gün ve 10.gün DPOAE amplitüdlerine ilişkin ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (minimum- maksimum) değerleri sol kulak olarak Tablo 3'te verilmiştir.

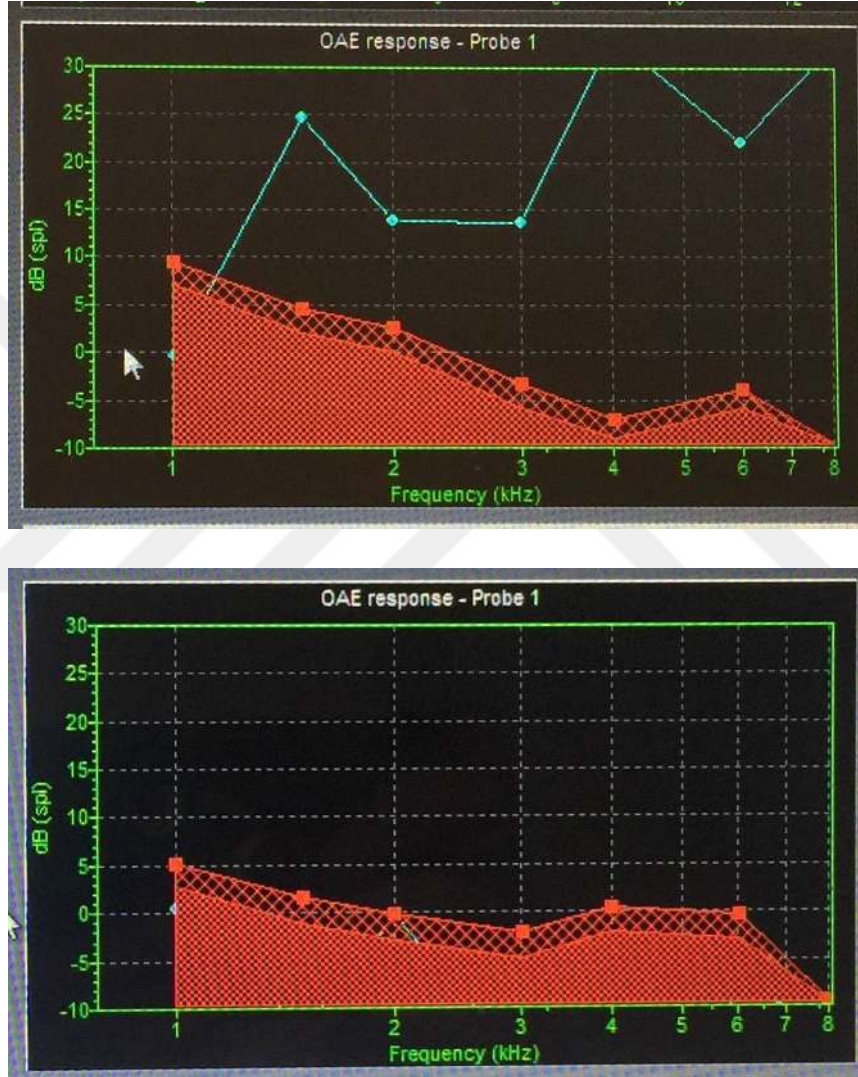
Tüm frekanslarda elde edilen bazal DPOAE yanıtı kontrol grubu, gentamisin grubu ve CORM-3 grubu arasında farklılık göstermedi. Üçüncü gün, 5.gün, 7. Gün ve 10.gün ise tüm frekanslarda elde edilen DPOAE yanıtı kontrol grubu ve gentamisin grubu arasında farklılık gözlemlendi. (Tablo 3). Üçüncü gün, beşinci gün, 7.gün ve 10.gün tüm frekanslarda elde edilen DPOAE yanıtı gentamisin grubu ve gentamisin+corm-3 grubu arasında farklılık gözlemlendi.

Gentamisin verilmeyen kontrol grubunun bazal, 3. 5. 7.ve 10.gündeki ölçümlerinde tüm frekanslarda elde edilen DPOAE yanıtları arasında farklılık izlenmedi.

Tablo 3. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde elde edilen sinyal-gürültü oranları (S/N)- SOL

Zaman	KHz	Kontrol	Gentamisin	Gentamisin + Corm-3
Bazal	1	0.7±2.8	-1±1	-0.3±1.3
	1.5	5.3±4.9	0.6±1	0.7±1.6
	2	10.3±7.6	3.4±3.4	8.6±3.4
	3	17±5.4	10.9±4.4	20.3±4.2
	4	27.3±8.6	22.9±6.3	29.6±5.4
	6	35.7±3.7	29.4±4.4	34.9±3.4
	8	40±5.3	38.6±3.4	41.6±2.4
3. gün	1	0±0.8	-0.9±1.2	-1.6±0.5
	1.5	6.1±0.9	-1.3±0.8	-1.3±0.8
	2	11±1.2	-0.7±0.8	-0.9±0.9
	3	18.6±1.5	-0.6±0.8	-0.3±1.4
	4	23.6±1.7	-0.6±0.5	-0.6±1.9
	6	37.6±1.7	-0.4±0.8	-0.1±0.9
	8	42.1±1.3	-0.7±0.8	-0.7±0.8
5.gün	1	0.4±0.8	-0.9±0.9	-0.4±0.5
	1.5	6.1±1.6	-0.9±0.4	-0.7±1.1
	2	11.7±1.1	-0.6±0.5	0.6±2.2
	3	19±1.9	-0.3±0.8	0.3±2.5
	4	25.3±1.1	0±0.6	2±2.6
	6	37.4±4.7	0.4±0.5	2.3±3.9
	8	43±2.3	1.3±1.1	4.7±5.3
7.gün	1	0.3±0.8	-0.9±0.9	-0.9±1.2
	1.5	5.4±1.7	-0.9±0.4	-1.4±0.8
	2	10.9±1.3	-0.6±0.5	-0.9±0.7
	3	19.7±1.4	-0.3±0.8	1.1±2.3
	4	24.4±1.6	0±0.6	2.4±4.8
	6	38.1±1.3	0.4±0.5	4.6±7.6
	8	43.3±1.8	1.3±1.1	6.9±10.1
10.gün	1	0.4±0.8	-0.9±1.2	-0.1±0.7
	1.5	6±2	-1.4±0.8	1.6±2.9
	2	12.9±2.9	-0.9±0.7	2.9±2.6
	3	19.4±1.7	-0.7±0.8	4.3±4.2
	4	25.7±3.9	-0.6±0.5	7.3±8.5
	6	35.9±2.4	-0.4±0.8	10.9±13.7
	8	42.7±2.5	-0.7±0.8	12.3±13.1

Gentamisin verilen ratların gentamisin sonrası 3., 5., 7. ve 10. günlerde bütün frekanslardaki DPOAE yanıtları kaybolduğundan; çalışma gruplarının ikili karşılaştırılması incelendiğinde gentamisin sonrasındaki ölçümlerde tüm frekanslarda kontrol grubu ile gentamisin ve gentamisin+CORM-3 grupları arasında farklılık elde edilmiştir. Gentamisin önce ve sonrası DPOAE test yanıtları Şekil 11’de gösterilmiştir.



Şekil 11. Ototoksisite maruziyeti öncesi ve sonrası DPOAE testinde sinyal-gürültü oranları

4.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Bulguları

DPOAE ölçümü, 45-50 dB işitme kaybına kadar işitsel fonksiyon hakkında bilgi verirken; 50-100 dB aralığındaki işitme kayıplarında tüylü hücre, vestibülokoklear sinir ve iç kulak fonksiyonu hakkında bilgi vermediğinden DPOAE, ototoksisiteye bağlı işitme

kaybı modelinde yeterli değerlendirme sağlamamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda elektrofizyolojik test olan IUBP uygulandı.

4.2.1. Dalga Morfolojisi

Ratlara yapılan bazal İUBP ölçümünde elde edilen dalgalar, morfolojileri açısından değerlendirildi. Tespit edilenler içerisinde II. dalga en belirgin dalga iken, III. dalga genellikle II. dalga ile birleşik durumda ve en düşük amplitüdlü dalga olarak gözlemlendi. İlk ortaya çıkan, en belirgin ve en son kaybolan dalga olması nedeniyle eşğin belirlenmesinde II. dalga kullanıldı.

4.2.2. Grupların İUBP Eşik Ortalamaları ve Değişimi

Ratlar eşit şekilde ototoksititeye maruz kalmayan kontrol grubu, gentamisin ototoksitesine maruz bırakılan gentamisin grubu ve gentamisin ototoksitesine maruz bırakılan aynı zamanda CORM-3 ajanı uygulanan gentamisin+corm-3 grubu olmak üzere sınıflandırıldı.

Tüm grupların sol kulaklarındaki her frekanstaki bazal, 3., 5., 7., ve 10. günde İUBP eşiklerinin ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (minimum- maksimum) değerleri (dB SPL) Tablo 4'te verilmiştir.

Gentamisin verilmeyen ve ototoksititeye maruz bırakılan tüm gruplarda uygulamalardan önce yapılan bazal işitme değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi. ($p>0,05$) (Tablo 4)

Tablo 4. Çalışma gruplarında elde edilen IUBP dağılımı- Sol kulak

Gün	kHz	Kontrol	Gentamisin	Gentamisin + Corm-3	p*
Bazal	4	15.0±0.0	13.6±2.4	14.3±1.9	0,346
		15(15-15)	15(10-15)	15(15-15)	
	6	12.1±2.7	12.9±2.7	12.9±2.7	0,848
		10(10-15)	15(10-15)	15(10-15)	
	8	12.9±2.7	12.1±2.7	11.4±2.4	0,598
		15(10-15)	10(10-15)	10(10-15)	
3.gün	4	15.0±0.0	46.4±6.9	37.1±8.6	<0.001
		15(15-15)	50(40-50) ^a	35(30-45) ^a	
	6	14.3±1.9	50.0±8.2	38.6±8.5	<0.001
		15(15-15)	45(45-60) ^a	35(35-45) ^a	
	8	12.9±2.7	52.9±9.5	42.9±10.4	<0.001
		15(10-15)	55(45-60) ^a	40(35-55) ^a	
5.gün	4	15.0±0.0	61.4±10.7	47.1±7	<0.001
		15(15-15)	65(55-70) ^a	50(40-55) ^{a,b}	
	6	13.6±2.4	65.0±9.6	49.3±6.7	<0.001
		15(10-15)	65(55-75) ^a	50(45-55) ^{a,b}	
	8	12.1±2.7	69.3±4.5	57.9±7	<0.001
		10(10-15)	70(65-75) ^a	60(55-65) ^{a,b}	
7.gün	4	13.6±2.4	65.0±8.7	44.3±3.5	<0.001
		15(10-15)	65(55-75) ^a	45(40-45) ^{a,b}	
	6	12.9±2.7	62.9±8.1	47.1±7	<0.001
		15(10-15)	65(55-70) ^a	50(40-50) ^{a,b}	
	8	13.6±2.4	67.9±4.9	55±9.6	<0.001
		15(10-15)	70(65-70) ^a	55(55-60) ^{a,b}	
10.gün	4	12.1±2.7	62.1±9.1	42.1±6.4	<0.001
		10(10-15)	65(50-70) ^a	40(40-45) ^{a,b}	
	6	13.6±2.4	58.6±8	45±7.1	<0.001
		15(10-15)	60(55-65) ^a	45(40-50) ^{a,b}	
	8	12.9±2.7	58.6±9.4	47.9±8.1	<0.001
		15(10-15)	60(50-70) ^a	45(45-55) ^a	

*Her zaman noktasında ve frekansta tek yönlü varyans analizi ile grup karşılaştırması yapılmıştır. İkili karşılaştırmalarda Games-Howell testi kullanılmıştır. ^a kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b gentamisin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

Gentamisin verilmeyen kontrol grubunun 4, 6 ve 8 kHz frekanslarında bazal, 3., 5., 7., ve 10. gündeki işitme ölçümlerinde elde edilen işitme eşiklerinin analizinde istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi (p>0,05) (Tablo 4). Kontrol grubuna uygulanan intraperitoneal SF'in işitme düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi saptanmadı.

Her bir gruptaki ratların sol kulaklarına ait İUBP eşiklerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Ototoksite maruziyeti sonrası yapılan 3.gün, 5.gün, 7.gün ve 10.gün ölçümlerde deney grupları olan gentamisin ve gentamisin+CORM-3 gruplarının, tüm frekanslarda orta ve ileri derecede işitme kaybı saptandı.

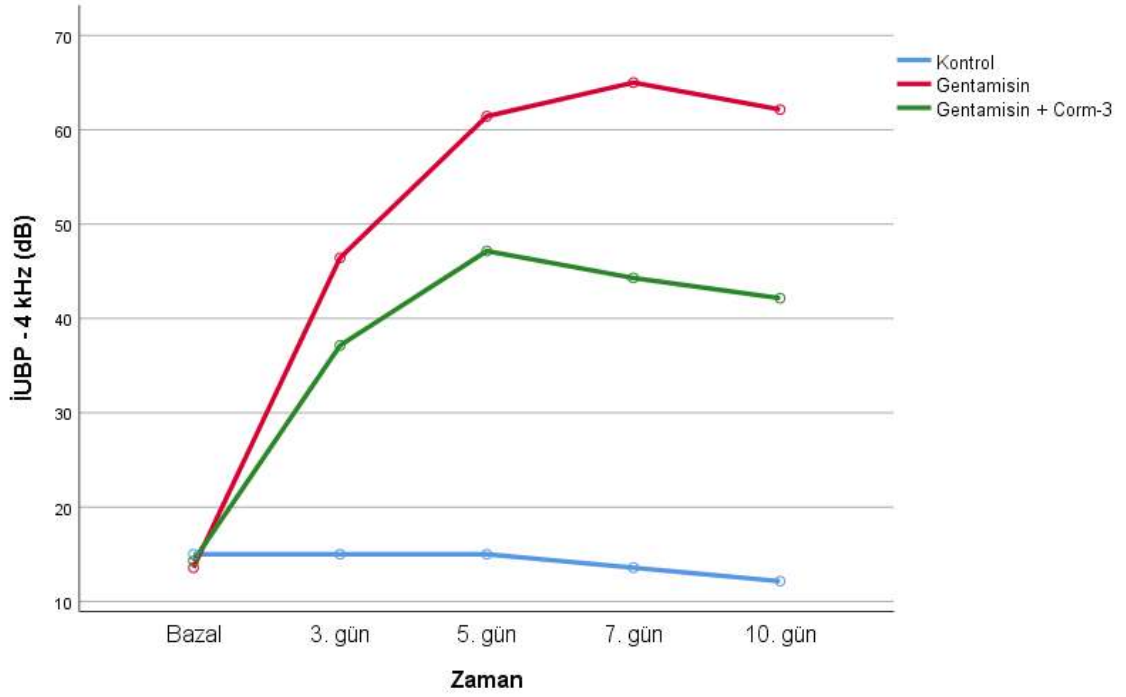
IUBP ortalama değerlerinin zamana bağlı değişimi Tablo 4'te özetlendi. 4, 6 ve 8 kHz frekansları için IUBP değerlerinin zamana bağlı değişiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0.001$). Zamana bağlı IUBP değişimi üzerinde çalışma gruplarının etkisi incelendiğinde, gentamisin verilen grupların kulağında bazal işitme değerlendirmeleri ile ototoksisite maruziyeti sonrası gerçekleştirilen ölçümlerinde işitme kaybında belirgin artış izlendi ($p<0.001$) (Tablo 4, Şekil 7,8,9).

Deney sürecinde 5 gün intratimpanik gentamisine maruz bırakılan ratların yapılan IUBP ölçümleri değerlendirildiğinde, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz, frekansları arasında ototoksik ajan uygulamasından en fazla etkilenen frekans 8 kHz olarak belirlendi.

Dört, altı ve sekiz kHz frekansında 3.gün, 5.gün, 7.gün ve 10.gün IUBP ölçümleri arasındaki fark baz alınarak çalışma gruplarının karşılaştırılmasına ait elde edilen sonuçlar Tablo 4'te verildi.

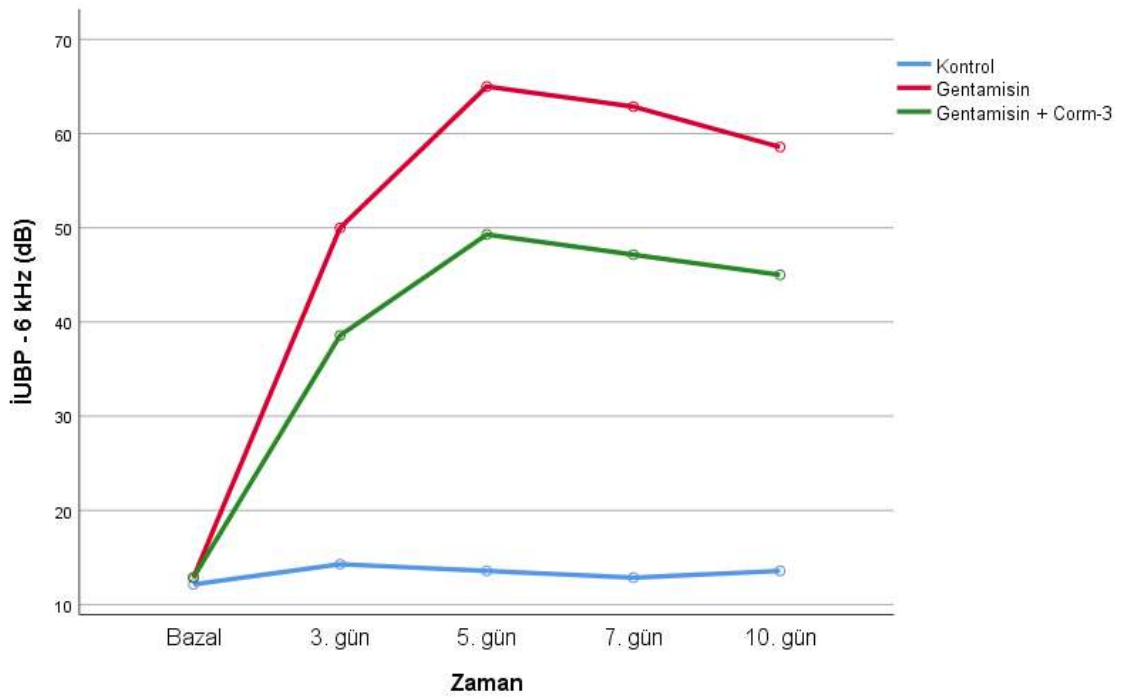
Ratların her bir frekansta elde edilen işitme eşiklerinin gruplara ve günlere göre değişimi Şekil 7, 8 ve 9'da verilmektedir. Buna göre gentamisin+CORM-3 grubunun ölçüm yapılan tüm günlerde işitme eşik ortalamaları tüm frekanslarda, gentamisin grubuna göre daha iyi olarak saptanmıştır. Çalışma gruplarına ait 4 kHz, 6 kHz ve 8 kHz'e ait işitme eşik değişimleri, ortalamaları ve p değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

4 kHz frekansında IUBP ölçümlerinin zamana bağlı değişim trendleri incelendiğinde gruplarda zamana bağlı değişimin anlamlı olduğu görüldü ($p<0.001$).



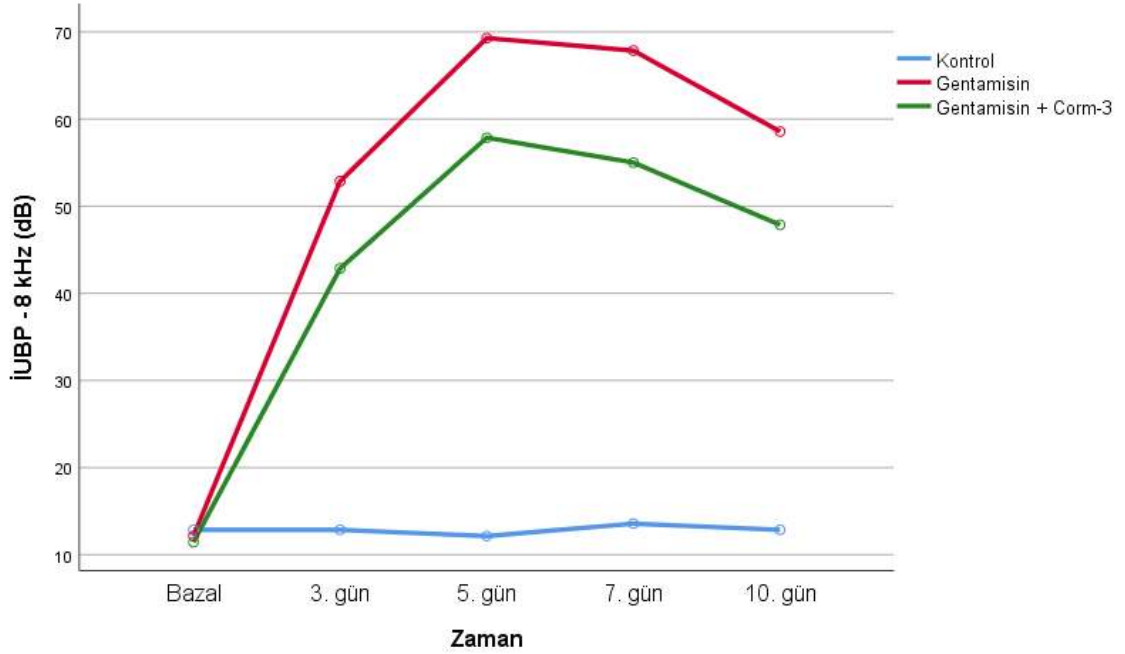
Şekil 7. 4 kHz IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi

6 kHz frekansında İUBP ölçümlerinin zamana bağlı değişim trendleri incelendiğinde gruplarda zamana bağlı değişimin anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.001$).



Şekil 8. 6 kHz IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi

8 kHz frekansında İUBP ölçümlerinin zamana bağlı değişim trendleri incelendiğinde gruplarda zamana bağlı değişimin anlamlı olduğu görüldü ($p<0.001$).



Şekil 9. 8 kHz İUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi

Grupların işitme eşik değerlerinin değişimlerine bakıldığında 3.günden itibaren gentamisin verilen grupların değişimlerinin istatistiksel anlamlı farklılık oluşturduğu saptandı. ($p<0,05$) (Tablo 4) Grupların kendi içinde tekrarlayan ölçümlerdeki değişimleri incelemek için Friedman analizi uygulandı ve gün bazında istatistiksel olarak anlamlı farklılık varlığı araştırıldı. Farklılığın hangi günler arasında olduğunu saptamak için Post-Hoc Bonferroni analizi uygulandı. (Tablo 5)

4.3.Vestibüler Etkilenme Bulguları

Davranışsal test bataryasında kuyruktan asma, yüzme ve havada düzelme testleri uygulandı. Bu testler sırasında izlenen tek taraflı kasılma, kalçadan dönme, yüzme kalitesi, dönme davranışı, kurulanma becerisi ve havada düzelme becerileri karşılaştırılmış araştırmacılar tarafından skorlandı.

Tablo 5. Vestibüler Etkilenme Düzeyi Tanımlayıcı Analizleri

	grup									p*
	Kontrol			Gentamisin			Gentamisin + Corm-3			
	Medyan	Q1	Q3	Medyan	Q1	Q3	Medyan	Q1	Q3	
KA0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,999
KA3	0	0	0	3	2	3	1	1	2	<0,001
KA5	0	0	0	3	3	4	2	2	2	<0,001
KA7	0	0	0	4	4	5	3	2	3	<0,001
KA10	0	0	0	5	5	7	3	3	4	<0,001
p**	0,999			<0,001			<0,001			
Y0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,999
Y3	0	0	0	2	1	3	1	1	2	<0,001
Y5	0	0	0	4	3	5	2	2	3	<0,001
Y7	0	0	0	5	4	6	3	2	3	<0,001
Y10	0	0	0	6	5	7	3	3	4	<0,001
p**	0,999			<0,001			<0,001			
HD0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,999
HD3	0	0	0	2	1	2	1	1	1	<0,001
HD5	0	0	0	2	1	3	1	1	1	<0,001
HD7	0	0	0	3	1	4	1	1	2	<0,001
HD10	0	0	0	2	1	4	1	1	2	<0,001
p**	0,999			0,001			<0,001			

*Her zaman noktasında Kruskal Wallis testi ile grup karşılaştırması yapılmıştır. İkili karşılaştırmalarda p değeri düzeltilmeli Dunn test kullanılmıştır. ^a kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b gentamisin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05). **Her grubun kendi içerisinde zaman değişimi Friedman testi ile değerlendirilmiştir.

4.3.1. Gentamisin Grubu Vestibüler Değerlendirme Bulguları

Tüm grupların bazal değerlendirmelerinde sıçan vestibüler davranış skorları normal olarak sonuçlandı ve gruplar arası farklılık izlenmedi. Enjeksiyon sonrası davranış testlerinde gentamisin grubunun etkilenme puanları kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ölçüldü. (p<0,05).

Gentamisin grubunun denge fonksiyonlarında 3.günden itibaren giderek artan bozulma olduğu saptandı. Kuyruk asma testinde tek yöne deviyeye vücut postürü ve tek yöne kasılma hareketi derecelendirildiğinde bazal değerlendirmede toplam puan 0(sıfır) iken, 3. günde vestibüler hasar skoru 19, 5. günde 23, 7. günde 31, 10. Günde ise 39 hasar skoru sonuçları elde edildi.

Benzer şekilde gentamisin grubundaki sıçanların havada düzeme becerileri puanlamasında bazal değerlendirmede puan 0 iken, 3. günde 11 puan, 5. günde 15 puan, 7. günde 17 puan ve 10.günde 18 puan olarak etkilenme düzeyi belirlendi.

Bu grubun yüzme testinde yüzme kalitesindeki bozulmada bazal değerler 0 puan iken, 3. Günde 14 puan, 5. günde 28 puan 7. günde 36 puan ve 10. günde 41 puan olarak ölçüldü. Yüzme testi sırasında hayvanların kuyruk eksenleri boyunca sürekli dönme hareketi (rolling) ve havuzdan çıktıktan sonraki temizlenme becerisi (grooming) da etki düzeyi ile orantılı olarak puanlandı. (Tablo 6)

4.3.2.Gentamisin+ Corm-3 Grubu Vestibüler Değerlendirme Bulguları

Gentamisin ile kombinasyon grupları arasında ise işitme eşiklerinde gözlediğimiz gibi istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). Kombinasyon grubu ve serum fizyolojik grubunun etki düzeyleri arasındaki farklılık ise istatistiksel olarak anlamlı hesaplandı ($p<0,05$).

Gentamisin+corm-3 grubu incelemelerinde, gentamisin grubunda olduğu gibi enjeksiyon sonrası 3. Günden itibaren, anlamlı derecede etkilenme şüphesi ve net etki bulguları gözlenmeye başlandı.

Bu grupta tail hanging (kuyruk asma) testinde bazal değerlendirme 0 puan olarak hesaplandı, 3. gün grup toplam puanı 10, 5. günde 15, 7. Günde 20 ve 10. günde 25 olarak ölçüldü. Havada düzeme becerileri skorları bazalde 0, 3. günde 6, 5. günde 8, 7. Günde 9 ve 10. günde 9 olarak ölçüldü.

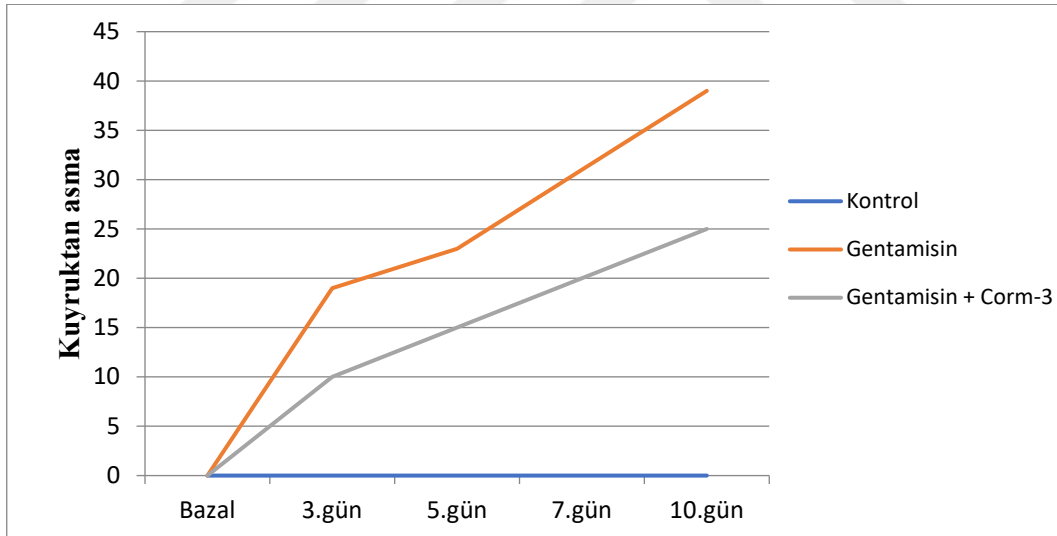
Yüzme testinde hasar skoru bazalde 0, 3. günde 12,5. Günde 18, 7. günde 21 ve 10.günde 25 olarak ölçüldü.

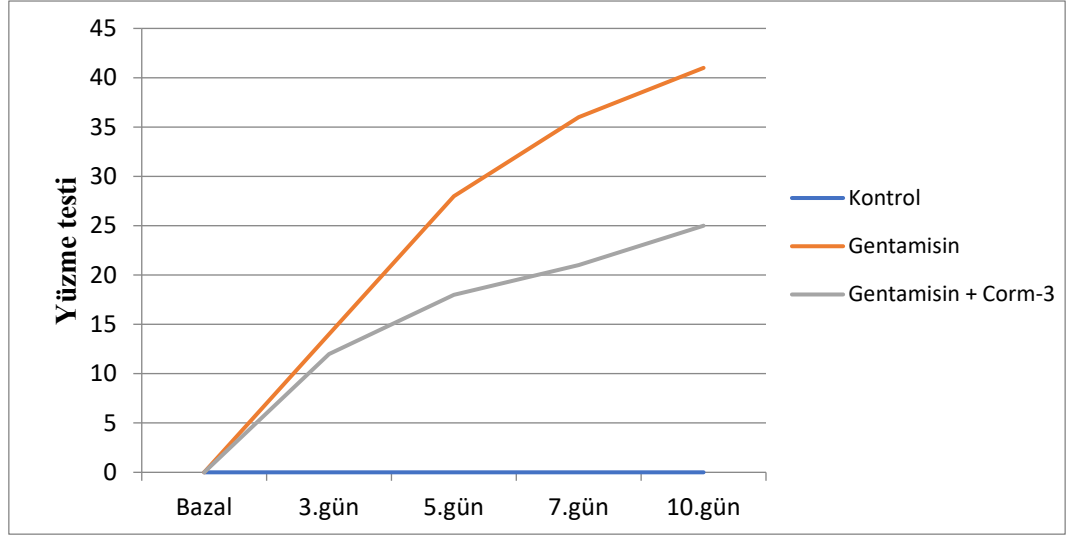
Vestibülopati skorlarına bakıldığında Gentamisin grubu skorları gentamisin+corm-3 grubuna kıyasla çok daha yüksek hasar skoruna sahip olduğu tespit edildi. (Tablo 6).

Tablo 6. Vestibüler Test Bataryası Hasar Skorları

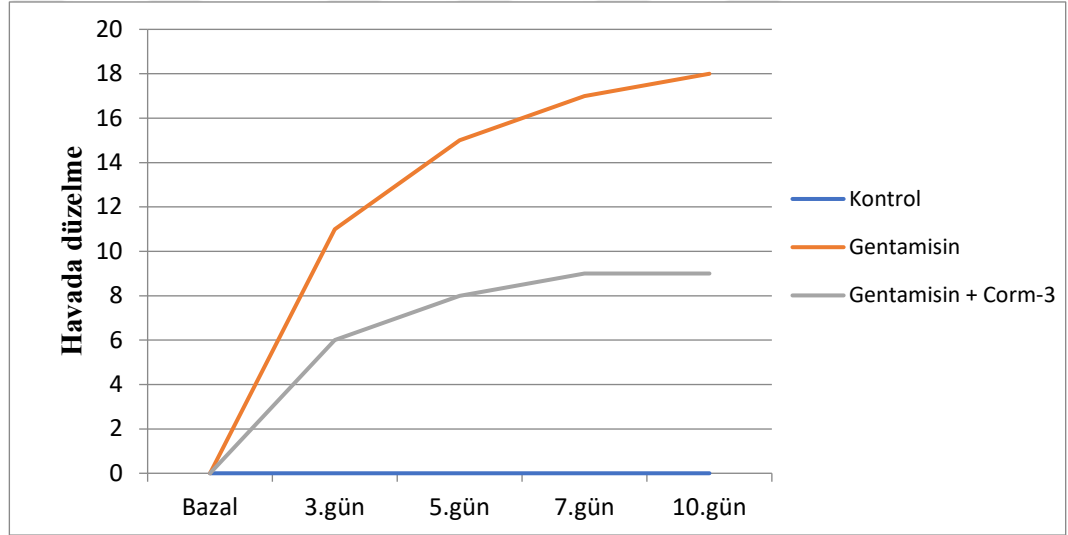
		Bazal	3.gün	5.gün	7.gün	10.gün
Kuyruktan asma	Kontrol	0	0	0	0	0
	Gentamisin	0	19	23	31	39
	Gentamisin + Corm-3	0	10	15	20	25
Yüzme testi	Kontrol	0	0	0	0	0
	Gentamisin	0	14	28	36	41
	Gentamisin + Corm-3	0	12	18	21	25
Havada düzelme	Kontrol	0	0	0	0	0
	Gentamisin	0	11	15	17	18
	Gentamisin + Corm-3	0	6	8	9	9
Toplam	Kontrol	0	0	0	0	0
	Gentamisin	0	44	66	84	98
	Gentamisin + Corm-3	0	28	41	50	59

Tüm grupların bazal, 3.,5., 7., ve 10. günlerdeki vestibüler etkilenme skorları Şekil 10,11,12 ve 13’de verilmiştir.

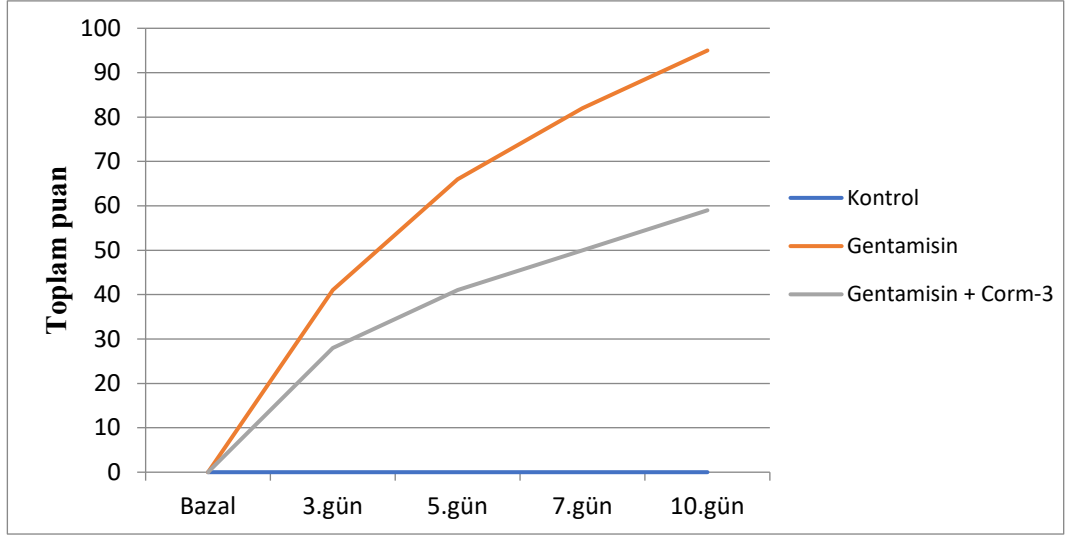
**Şekil 10.** Kuyruktan Asma test skorlarının zamana bağlı değişimi



Şekil 11. Yüzme Testi skorlarının zamana bağlı değişimi



Şekil 12. Havada Düzeltme Testi skorlarının zamana bağlı değişimi



Şekil 13.Vestibüler Etkilenme Total Puanları- Tüm Gruplar

5. TARTIŞMA

Sıçan gibi memelilerin kulak yapıları insan kulağına benzer şekildedir. Sıçanlar işitme açısından değerlendirildiğinde insan kulağına kıyasla daha hassastır. Anatomik olarak insana fazla benzemeseler de benzer geçiş yolları sebebiyle deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılmışlardır. Toksisiteye maruziyet durumunda elektrofizyolojik testler ve davranışsal vestibüler testler ile toksisite düzeyleri ölçülebilen hayvanlardır.

Aminoglikozitler tüm dünyada yaygın kullanıma sahip antibiyotiklerdir. Aminoglikozit antibiyotikleri koklear ve vestibüler hücrelerin oksidatif stres vasıtasıyla apoptotik yol ile ölümüne sebep olurlar. Bu ototoksisite işitme kaybı, tinnitus ve/veya vertigoya neden olabilir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanımlarına devam edilen bu ajanların sebep olduğu ototoksisitelerini önleyici çalışmalar önem arz etmektedir. Gentamisin özellikle vestibülotoksik etkiye sahiptir. Bu etkiyi iç kulaktaki endolenf üretiminden sorumlu dark hücrelerini selektif olarak tahrip ederek gerçekleştirmektedir. Bu özelliğiyle vertigo tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür fakat kokleotoksik etkisi klinik kullanımını sınırlandırmaktadır. Kokleotoksik etkisi kıyasla daha az oranda olup literatürde %25-30 arasında olduğuna dair çalışmalar mevcuttur.^{95,96}

Kokleotoksik etkiye sahip ajanlar iç saçlı tüy hücrelerini etkileyerek yüksek frekanslarda kalıcı işitme kaybına neden olurlar. Kokleanın bazalinde başlayan işitme kaybı ilerleyen dönemde apikal kısımlarını da etkiler ve konuşma frekanslarında da kayıp gelişir. Kokleotoksisite maruziyeti tüylü hücrelerde apoptoza ve/veya nekroza yol açarak konuşmayı ayırt etme skorlarının düşmesine neden olur. Vestibülotoksik etki ise vertigo, mide bulantısı, kusma ve nistagmus gibi etkilere sebep olur.

Aminoglikozit toksisitesine bağlı işitme ve denge kaybını önlemek için birçok antioksidan ve kimyasal ajan kullanılmıştır. Bu ajanlar arasında ginko biloba, glutatyon, demir şelatörleri, magnezyum, b12, α lipoik asit, deksametazon, metilprednizolon ve daha birçok ajan sayılabilir.^{97,98,99} Çalışmamızda, literatürdeki çalışmalardan elde edilen bilgiler ışığında, gentamisin uygulamasının neden olduğu ototoksik etkilerin azaltılması veya önlenmesinde antioksidan özelliği bilinen CORM-3'ün terapötik etkisi olup olmadığının odyolojik ve vestibüler olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Karbon monoksit (CO), vücutta fizyolojik fonksiyonları modüle ettiği kanıtlanmış olan terapötik etkilere sahip bir moleküldür. CO'nun toksik etkilere sebep olabileceğine

dair görüşlerden dolayı üretilmiş olan CO serbest bırakan molekül CORM'un, yapılan çalışmalarda faydaları kanıtlanmıştır. Biz de çalışmamızda CORM'un bir türevi olan CORM-3 molekülünü kullandık. CORM-3 molekülü, CO'nun vazodilatör, anti-iskemik ve antienflamatuar etkilerini daha da desteklemesiyle beraber su ve yağda hızlı çözülmesinden dolayı kullanılmaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz odyolojik ve vestibüler davranışsal analizler sonucunda CORM-3 tedavisinin etkili olması yapılan çalışmaları desteklemekle birlikte yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir.

CORM-3'ün vazoaktif özelliklerini değerlendiren bir çalışmada önceden kasılmış damarlarda CORM-3'ün bir gevşeme üreterek vazodilatör etki sağladığı tespit edildi. Bu etki ATP'ye bağlı potasyum kanallarının ve cGMP'nin CO'nun vazoaktif özelliklerine aracılık ettiğini göstermiştir. Bu mekanizma CORM-3'ün damar tonusu ve kan basıncı düzenleyici etkilerini açıklamaktadır.¹⁰⁰

Kollajen kaynaklı artritte CORM-3'ün etkilerini araştıran bir çalışmada tümör nekroz faktörü seviyeleri CORM-3 tarafından inhibe edilmiştir. CORM-3 ile tedavi sonrasında eklem iltihabı ve yıkımı azalmıştır. Bu faydalı etkiler CORM-3'ün antienflamatuvar durumların tedavisi için umut vadeden bir ajan olduğunu göstermektedir.¹⁰¹

Başka bir çalışma, sıçanlarda oluşturmuş oldukları hemorajik inme modelinde CORM-3'ün beyin hasarı üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. CORM-3 ile enflamasyonu önemli ölçüde önlediği kanıtlanmıştır. Ayrıca CORM-3'ün beyin hasarını azalttığı ve nöroprotektif etki gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda bu nöroprotektif etki sayesinde gentamisin maruziyeti sonrası oluşan spiral ganglion hücrelerindeki dejenerasyonun, CORM-3 uygulanan grupta daha az olduğu gözlenmiştir.⁹

Steve Lancel ve ark. yapmış oldukları çalışmada farelerde peritonite bağlı sepsiste CORM-3 tedavisinin etkinliği araştırıldı. Septik farelerde CORM-3 uygulaması, sepsisin mitokondriyal membran potansiyeli ve solunum kontrol oranı üzerindeki zararlı etkilerini iyileştirdiği görülmüştür. CORM-3'ün kardiyak mitokondriyal disfonksiyonu iyileştirdiği ve mortaliteyi azalttığı kanıtlanmıştır. Bu veriler CORM-3'ün sepsiste organ işlev bozukluğunu ve ölümü önlemek için terapötik amaçla kullanılabileceğini göstermektedir.¹⁰²

Yan Li, Min Zhang ve ark. da sıçanlarda oluşturdukları travmatik beyin hasarı ve hemorajik şokun depresyon ve anksiyete benzeri davranışlar üzerinde etkilerini

değerlendirmişlerdir. CORM-3 tedavisi ile sıçanların depresyon ve anksiyete davranışlarında iyileşme gözlenmiş olup serebral kan akışının geliştiği gözlenmiştir. CORM-3'ün travmatik beyin hasarını ve kanama şokunun sebep olduğu duygusal işlev bozukluğunu iyileştirdiğini ayrıca travma sonrası amigdalada apoptozu zayıflattığı görülmüştür.¹⁰¹ Depresyon ve anksiyete davranışlarını değerlendirmede yüzme testi gibi davranışsal testler uygulanan bu çalışmada olduğu gibi çalışmamızda dengeyi değerlendiren davranışsal testler kullanıldı ve CORM-3 tedavisi alan grupta denge puanları almayan gruba göre nispeten daha iyi olduğu gözlenmiştir.

Luisa Lo Locana ve ark. yaptıkları çalışmada suda çözünen CORM-3'ün, izole kalp hücrelerine iletilmesiyle CO'nun düşük seviyelerde hücresel solunumun önemli bir düzenleyici mekanizması olduğunu göstermiştir. Bu çalışma CO gazı kullanımının teknik sınırlılıklarından dolayı üretilen CORM'ların, CO'yu düşük konsantrasyonlarda etkin halde hücrelere taşımasındaki başarısı gösterilmiştir.¹⁰⁴

Literatür araştırmamıza göre, ototoksik ajan sonrası uygulanan intratimpanik antioksidan maddelerin etkilerini inceleyen çalışmalarda anlamlı bulgular elde edilmiştir.^{103, 104} CORM-3 ile ilgili yapılmış olan tüm araştırmalarda intraperitoneal yol ile uygulama yapılmış olup, çalışmamızda da intraperitoneal uygulama yöntemi tercih edilmiştir.

Çalışmamızda 3.gün ölçümlerinden itibaren gentamisin enjeksiyonu uygulanan gruplarda ölçüm yapılan tüm frekans eşiklerinde işitme kaybında artış olduğu gözlendi. Kelly ve ark. intratimpanik gentamisin uygulamasının orta kulaktan iç kulağa geçişini araştırdıkları çalışmada uygulanan ajanın ilk 24 saat içinde yaklaşık %60'lık kısmının salındığını belirtmişlerdir. Sonrasında ise toksik ajan salınma hızının yavaşladığını bildirmiştir.¹⁰⁷ Bizim çalışmamızda da gentamisin etkisi 3.gün ölçümlerinde elektrofizyolojik testlerde tespit edilmiştir. Yalnızca gentamisin uygulanan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi. Gentamisin uygulamasının yapıldığı ilk 5 gün toksisite şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Klinik testlerin devamında gentamisin uygulaması yapılmamasına rağmen 7.gün ölçümlerinde toksisite düzeyinin arttığı gözlenmiştir. 10.gün ölçümlerinde ise azalmaya başladığı görülmüştür. Bu bulgulara göre gentamisin uygulamasının İUBP eşiklerine etkisinin ölçüldüğü en yüksek seviye 7.günde tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında toksik ajan uygulama sonrası

ilaç difüzyonunun devam etmesi ve apoptoz kaskadı sebebiyle toksisite riskinin devam ettiği görüşü doğrulanmaktadır.^{108,109}

Çalışmamızın İUBP yanıtları incelendiğinde 3.gün ölçümlerinden itibaren gentamisin ve gentamisin+CORM-3 enjeksiyonları uygulanan gruplarda benzer şekilde yükseliş gösteren işitme eşikleri tespit edildi. Sadece gentamisin enjeksiyonu uygulanan grupta, işitme eşiklerinin gentamisin+CORM-3 kombinasyon grubuna oranla daha fazla etkilendiği gözlenmiştir. 3.gün ölçümlerinde gentamisin grubu İUBP eşikleri gentamisin+CORM-3 grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç gözlenmedi. 5. ve 7. gün ölçümlerinde gentamisin grubu ve gentamisin+corm-3 grubuyla karşılaştırıldığında tüm frekans ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar edildi. 10.gün ölçümlerinde ise gentamisin ve gentamisin+corm-3 grubu karşılaştırıldığında 4 kHz ve 6kHz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiş olup 8kHz frekansında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Her iki grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gentamisin+CORM-3 grubunun daha az etkilendiği anlamlı farklılık oluşturmuştur.

Gentamisin uygulaması sonrası yapılan 3.gün, 5.gün, 7.gün ve 10.gün ölçümlerinde deney grupları olan gentamisin ve gentamisin+CORM-3 gruplarının, tüm frekanslarda orta ve ileri derecede işitme kaybı olduğu tespit edildi. Deney sürecinde 5 gün intratimpanik gentamisine maruz bırakılan ratların yapılan İUBP ölçümleri değerlendirildiğinde, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz frekansları arasında ototoksik ajan uygulamasından en fazla etkilenen frekans 8 kHz olarak belirlendi. Zhou ve ark. farelerde yaptıkları gentamisin kaynaklı toksisite deneyinde çalışmamıza benzer şekilde ölçüm yapılan tüm frekanslarda belirgin düzeyde etkilenim görülmüştür. Farklı olarak 16, 20, ve 32 kHz'lerde de İUBP ölçümleri yapılmıştır. Bizim çalışmamızda teknik ekipman eksikliği nedeniyle bu frekanslarda değerlendirmeler yapılamamıştır. Ayrıca Zhou'nun yapmış olduğu farelerde gentamisin kaynaklı toksisite modelinde İUBP eşik ölçümleri 5. ve 6. haftalarda yapılmıştır. Bizim çalışmamızda ise İUBP eşik ölçümleri 3., 5., 7., ve 10. günlerde yapılmıştır.

Hayvan deneyi modellerinde, antioksidan ajanların vestibüler fonksiyonlar üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla davranışsal denge testleri kullanılmaktadır. Literatüre baktığımızda, vestibülotoksik etki sonucu yapılan denge değerlendirmeleri için farklı protokoller uygulanmaktadır.

Yapılan çalışmalar denge testlerinin ajan uygulamalarından hemen sonra ilk saatler içerisinde yapılabildiğini göstermektedir. Dyhrfield ve ark.'larının ratlarda vestibülotoksisiteyi değerlendirdikleri bir çalışmada 90. dakikada ilk etkileri gözlemlemişler ve 3. Saatte en yüksek vestibüler hasar skorlarını ölçmüşler.⁹² Cassel ve ark.'larının çalışmasına göre intratimpanik kainik asit uygulaması sonrası vestibüler hasar skorları ölçülen farelerde maksimum etki 4. Saatte gözlenmiştir. 4. Saat, 1.gün, 2.gün, 3. Gün, 1. Hafta, 2. Hafta ve son olarak 3. Hafta olmak üzere 7 zaman noktasında değerlendirmeler yapmıştır.⁹¹

Tian ve ark. ise sıçanlarda gentamisin vestibülotoksisitesini değerlendirdikleri çalışmada ilk etkileri 1. günde ölçmüş olup sırasıyla 8., 15, 22. ve 30. günlerde vestibüler etkilenmeyi ölçmüştür.⁸⁴

Wu ve ark. ve Güneri ve ark. 2017 yılında yaptıkları çalışmalarda vestibüler etkilenmeyi ilk olarak 7. günlerde ölçmüşlerdir.^{110,111} Biz de çalışmamızda 3., 5., 7., ve 10. günlerde devam eden vestibüler etkilenme düzeyini ölçümledik.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda intratimpanik gentamisin uygulanan grupta vestibüler hasar skorunun 292 puan, gentamisin+corm-3 grubunda ise toplam 178 puan olduğu tespit edildi. Bu iki grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur. Kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. 3. günden itibaren gentamisin uygulanan tüm ratlarda yapılan davranış analizlerinde hasar skoru saptandı ve artarak devam etti. Yapılan analizler sonucunda intratimpanik gentamisin uygulamasının vestibüler etkilenme düzeyi geri dönüşümsüz olup maksimum etkinin 10. Günde ortaya çıktığı saptanmıştır. Çalışmamızda denge analizlerinde 3. gün ölçümlerinden itibaren vestibüler hasar skorlarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğu gözlemlendi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, wistar ratlarda intratimpanik gentamisin enjeksiyonuyla ototoksisite ve vestibülotoksisite başarıyla oluşturuldu. Ratların odyolojik ölçümlerinde, gentamisin uygulanan tüm hayvanlarda orta ve/veya ileri derecede işitme kaybı olduğu gözlemlendi. İUBP eşikleri gentamisin alan gruplar arasında karşılaştırıldığında gentamisin+CORM-3 grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Saptanan bu iyileştirici etki 4, 6, 8 kHz frekanslarında ölçümlendi. Klinik kısıtlılıklardan dolayı yüksek frekans değerlendirme yapılamadı. Çalışmamız CORM-3'ün ototoksisiteye karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri olabileceğini odyolojik olarak göstermiştir.

Çalışmamızın gentamisin sonrası vestibülotoksisite analizine baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Fakat corm-3 uygulanan grupta vestibüler etkilenme hasar skorları daha düşük seviyelerde ölçüldü. Farklı gözlem sayısı ve davranışsal metotlarla yapılacak olan yeni çalışmaların literatüre katkı sağlayacağı öngörülmüştür. Gentamisinin iç kulaktaki etkilerini incelediğimiz çalışmamız, odyolojik ve vestibüler değerlendirmelerin bir arada uygulanmış olduğu nadir çalışmalardandır.

CORM-3 ile ilgili yapılan çalışmaların çeşitliliği, kapsamı ve sayısının yetersiz olmasının yanında, CORM-3'ün özellikle ototoksisite tedavisi için alternatif olabilecek, umut vadeden bir antioksidan olduğu söylenebilir. CORM-3'ün özelliklerini ve etkilerini araştıran çalışmaların gelecekte artacağı ve bu çalışmada elde edilen sonuçların yapılacak daha kapsamlı ileri çalışmalar için rehber olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKÇA

1. **J. Kros¹ and Peter S. Steyger^{2,3}** ¹ Sussex Neuroscience, School of Life Sciences, University of Sussex, Falmer, Brighton BN1 9QG, United Kingdom ² Oregon Hearing Research Center, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon 97239 ³ National Center for Rehabilitative Auditory Research, VA Portland Health Care System, Portland, Oregon 97239.
2. **Rizzi MD, Hirose K.** Aminoglycoside ototoxicity. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* **2007**;15(5): 352-7.
3. **Wu WJ, Sha SH, Schacht J.** Recent advances in understanding aminoglycoside ototoxicity and its prevention. *Audiol Neurotol* **2002**; 7: 171-174.
4. **Strupp M, Arbusow V.** Acute vestibulopathy. *Curr Opin Neurol* 2001; 14: 11-20. 6. **Mizuta K, Saito A, Watanabe T, ve ark.** Ultrastructural localization of megalin in the rat cochlear duct. *Hear Res* **1999**; 129: 83-91.
5. **Conlon BJ, Perry BP, Smith D W.** Attenuation of neomycin ototoxicity by iron chelation. *Laryngoscope* **1998**; 108: 284-7.
6. **Fetoni AR, Sergi B, Scarano E ve ark.** Protective effects of alpha-tocopherol against gentamicin-induced Oto-vestibulo toxicity: an experimental study. *Acta Otolaryngol.* **2003**; 123(2): 192-7.
7. **7-Pizarro MD, Rodriguez J V, Mamprin ME, et al.** Protective effects of a carbon monoxide-releasing molecule (CORM-3) during hepatic cold preservation. *Cryobiology.* **2009**;58(3):248- 255.
8. **Musameh MD, Green CJ, Mann BE, Fuller BJ, Motterlini R.** Improved Myocardial Function After Cold Storage With Preservation Solution Supplemented With a Carbon Monoxide-Releasing Molecule (CORM-3). *J Hear Lung Transplant.* **2007**;26(11):1192-1198.
9. **Yabluchanskiy A, Sawle P, Homer-Vanniasinkam S, Green CJ, Foresti R, Motterlini R.** CORM-3, a carbon monoxide-releasing molecule, alters the inflammatory response and reduces brain damage in a rat model of hemorrhagic stroke. *Crit Care Med.* **2012**;40(2)
10. **Li, Yan, et al.** "CORM-3 ameliorates neurodegeneration in the amygdala and improves depression- and anxiety-like behavior in a rat model of combined traumatic brain injury and hemorrhagic shock." *Neurochemistry International* 140 (2020): 104842.
11. **Esmer N, Akıner MN, Karasalihoğlu AR, Saatçi MR.** Klinik Odyoloji, Özişik Matbaacılık, **1995**; 17-43
12. **Svere A, Vedul T.** Diffusion-Based Model for Noise-Induced Hearing Loss. Norwegian University of Science and Technology Department of Electronics and Telecommunications, Master of Science in Electronics, **2007**
13. **Moller AR.** Hearing: Anatomy, Physiology, and disorders of the auditory system. Second Edition. USA, Elsevier Inc. **2012**; 3-300.
14. **Aslan A,** Kulak Anatomisi Koç C, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi, 2. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri, **2013**
15. **Erixon E, Högstorp H, Wadin K, Rask-Anderson H:** Variational anatomy of the human cochlea: implications for cochlear implantation. *Otol Neurotol* **2009**; 30:14-22

16. **Probst R, Grevers G, Heinnrich I.** Temel Otorinolaringoloji: Nobel Tıp Kitapevleri; **2011.**
17. **Raikos A.** Morhoanatomical study of the human inner ear development: University Bochum; **2010.**
18. **Mills Samir JH, Khariwala S, Weber PC.** İşitmenin Anatomi ve Fizyolojisi. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD, editors. Baş&Boyun Cerrahisi- Otolarengoloji. 4th ed. Ankara: *Lippincott Williams & Wilkins*; **2011.** p. 1883–904.
19. **Bulut E.** Corti organı frekans seçiciliğinde dış tüylü hücrelerin rolü. Edirne, Doktora tezi, Trakya Üniversitesi, **2009.**
20. **Kanlıkama M.** İşitme fizyolojisi. İçinde: Çelik O (editör). Otoloji ve Nörootoloji, 1. Baskı, İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık, **2013**; 59-84.
21. **Kalkavan CŞ.** Ototoksik ajanların iç kulak üzerine olan etkilerinin otoakustik emisyon ile fonksiyonel olarak değerlendirilmesi. İstanbul Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi. **2009**,1-40
22. **Seikel J, King DW, Drumright G.** Anatomy & Physiology for Speech, Language and Hearing. Third ed. USA: Thomson Delmar Learning; **2005.**
23. **Santi PA. and Mancini P.** "Koklear anatomi ve santral işitme yolları (çeviri: F. Karayel)." Koç C (Editör). Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, Cilt 4, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, **1998**; 4: 3373-3401
24. **Chein W, Lee DJ.** Physiology of the Auditory System. China: Mosby Elsevier: Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery; **2010.**
25. **Herdman S.** Vestibular Rehabilitation. Third Edition ed: F. A. Davis Company; **2007.**
26. **Higstein SM, Fay R R, Popper A N.** The Vestibular System. New York: Springer; **2004.**
27. **Sunny TYF.** The human vestibulo-ocular reflex: The effect of vergence angle and unilateral lesions on reflex dynamics. Canada: Toronto University; **2000.**
28. **O'reilly RC, Morlet T, Cushing S L** Manual of Pediatric Balance Disorders. San Diego: Plural Publishing; **2013.**
29. **Olgun Y.** Hipoksik iskemik ensefalopati oluşturulan yenidoğan sıçanlarda işitsel fonksiyon kaybı ve eritropoetin etkisinin araştırılması. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2012**; 3-90.
30. **Runge CL, Friedland DR.** Anatomy of the Auditory System. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. Cummings Otolaryngology. Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; 2015. p. **1987–93.e2.**
31. **Özdemir S. İ.** Kulak, İşitme Siniri ve Santral Koklear Yolların Fizyolojisi. In: Önerci M, Güneri EA, editors. N.rootoloji. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi; **2016.** p. 26–34.
32. **Emre B, Salgırlı Y.** Deneklerin Fizyolojik Özellikleri ve Deneysel Çalışmalarda Model Oluşturmadaki Zorlukları, Journal of Clinical and Analytical Medicine, **2000.**
33. **Poyraz Ö.** Laboratuvar Hayvanları Bilimi, Ankara. Kardelen Ofset. **2000**
34. **Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA.** The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comparative Medicine*. **2008**; 58: 424-30.

35. **Yarsan E, Durgut R.** Farmakoloji ve toksikolojide rat modelleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, **2010**
36. **Heffner HE, Heffner RS.** Sound localisation in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Hearing Research*, **1985**;19: 151-55.
37. **Albuquerque AF, Rossato M, Aparecido de Oliveria JA, Hyppolito MA.** Understanding the anatomy of ears from guinea pig and rats. *Bfraz J Otorhinolaryngol* **2009**;75(1): 43-9.
38. **Kayabaşoğlu G.** Cep telefonlarından kaynaklanan elektromanyetik alanın işitme üzerindeki etkilerinin sıçanlarda incelenmesi. İstanbul, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2009**;1-73.
39. **Zimmer, WM, Rosin, DF, Saunders JC.** Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *The Anatomical Record*, **1994**, 239(4), 475-484
40. **Arıcı M.** Sıçanlarda akustik travmaya bağlı işitme kaybı modelinde likopenin etkisinin araştırılması. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2015**; 4-62.
41. **Göksu N.** Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **1992**; 101: 699-704
42. **Sichel J, Plotnik M, Cherny L, Elidian J, Sohmer H.** A unique animal for auditory research. *J. Bas. Clin. Physy. Pharm.* **1997**; 8: 206.
43. **Kelley MW, Wu DK.** Development neurobiology of the ear: Current and future directions. In: **Kelley MW, Wu DK, Popper AN, Fay RR**, editors. *Development of the inner ear*, First Edition, United States of America: Springer Science+Business Media Inc, **2005**; 1-9.
44. **Muller M.** Frequency representation in the rat cochlea. *Hear Res*, **1991**; 51:247–54
45. **Hebel R, Stromberg MW.** *Anatomy of the laboratory rat*. Baltimore, Williams & Wilkins Co, **1976**
46. **Morata TC.** Chemical exposure as a risk factor for hearing loss. *J Occup Environ Med.* **2003**;45(7):676-82.
47. **Chen Y, Huang WG, Zha DJ, Qiu JH, Wang JL, Sha SH**, et al. Aspirin attenuates gentamicin ototoxicity: from the laboratory to the clinic. *Hear Res.* **2007**;226(1-2):178-82. [Crossref] [PubMed]
48. **Hain TC, Cherchi M, Yacovino DA.** Bilateral vestibular loss. *Semin Neurol.* **2013**;33(3): 195-203. [Crossref] [PubMed]
49. **Ganesan P, Schmiedge J, Manchaiah V, Swapna S, Dhandayutham S, Kothandaraman PP.** Ototoxicity: a challenge in diagnosis and treatment. *J Audiol Otol.* **2018**;22(2):59-68.
50. **Bisht M, Bist SS.** Ototoxicity: The Hidden Menace. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* **2011**;63(3):255-259.
51. **Schacht J.** Biochemical basis of aminoglycoside ototoxicity. *Otolaryngol. Clin.* **1993**; 26: 845–856.
52. **Kusunoki T, Cureoglu S, Schachern PA, Sampaio A, Fukushima H, Oktay MF**, et al. Effects of aminoglycoside administration on cochlear elements in human temporal bones. *Auris Nasus Larynx.* **2004**;31(4):383-8. [Crossref]
53. **Matz G, Rybak L, Roland PS, Hannley M, Friedman R, Manolidis S et al.** Ototoxicity of ototopical antibiotic drops in humans. *Otolaryngol* 42 Aynali, ototoksisite ve önlem S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. **2009**;16(2)/ 39-44 *Head Neck Surg.* **2004**;130(3 Suppl): 79-82. Kaplan DM,

54. **Nedzelski JM, Chen JM, Shipp DB.** Intratympanic gentamicin for the treatment of unilateral Meniere's disease. *Laryngoscope*. **2000**;110(8):1298-305. [Crossref] [PubMed]
55. **Roland JT, Cohen NL.** Vestibular and auditory ototoxicity. In: Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA Krause CJ, Richardson MA, Schüller DE, eds. *Otolaryngology Head & Neck Surgery*, 2nd ed. St.Louis: Mosby -Year Book, Inc.**1998**;3186-97.
56. **Segal JA, Skolnick P.** Polyamine-like actions of aminoglycosides and aminoglycoside derivatives at NMDA receptors. *Eur J Pharmacol* **1998**; 347: 311-7.
57. **Rybak LP, Kelly T.** Ototoxicity: bioprotective mechanisms. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* **2003**; 11: 328-33
58. **Roland PS.** New developments in our understanding of ototoxicity. *Ear Nose Throat J* **2004**; 83: 15-6.
59. **Dehne N, Rauen U, de Groot H, Lautermann J.** Involvement of the mitochondrial permeability transition in gentamicin ototoxicity. *Hear Res* **2002**; 169: 47-55.
60. **Ylikoski J, Xing-Qun L, Virkkala J, Pirvola U.** Blockade of c-JUN N-terminal kinase pathway attenuates gentamicin-induced cochlear and vestibular hair cell death. *Hear Res* **2002**; 166: 33-43.
61. **Smith PF.** Are vestibular hair cells excited to death by aminoglycoside antibiotics? *J Vestib Res* **2000**; 10: 1-5.
62. **Bienkowski P, Scinska A, Kostowski W, Koros E, Kukwa A.** Ototoxic mechanism of aminoglycoside antibiotics-role of glutaminergic NMDA receptors. *Pol Merkuriusz Lek* **2000**; 9: 713-5.
63. **Basile AS, Huang JM, Xie C, Webster D, Berlin C, Skolnick P.** N-methyl-D-aspartate antagonists limit aminoglycoside antibiotic-induced hearing loss. *Nat Med* **1996**; 2: 1338-43.
64. **Segal JA, Harris BD, Kustova Y, Basile A, Skolnick P.** Aminoglycoside neurotoxicity involves NMDA receptor activation. *Brain Res* **1999**; 815: 270-7.
65. **Lautermann J, McLaren J, Schacht J.** Glutathione protection against gentamicin ototoxicity depends on nutritional status. *Hear Res* **1992**; 61:132-7.
66. **Ohtani I, Okitsu K, Aikawa T, et al.** Protective effect of fosfomycin against aminoglycoside ototoxicity. *ORL* **1985**; 47:42-8.
67. **Lin SCY, Thorne PR, Housley GD, Vlajkovic SM.** Resistance to neomycin ototoxicity in the extreme basal (hook) region of the mouse cochlea. *Histochem Cell Biol*. **2018**;150(3):281-289.
68. **Lee JJ, Jang JH, Choo OS, Lim HJ, Choung YH.** Steroid intracochlear distribution differs by administration method: Systemic versus intratympanic injection. *Laryngoscope*. **2018**;128(1):189-194.
69. **Saber A, Laurell G, Bramer T, Edsman K, Engmér C, Ulfendahl M.** Middle ear application of a sodium hyaluronate gel loaded with neomycin in a guinea pig model. *Ear Hear*. **2009**;30(1):81-89.
70. **Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. MIMOZA Yayınları, Konya, **1995**.
71. **Yuan H, Wang X, Hill K, Chen J, Lemasters J, Yang SM, Sha SH.** Autophagy attenuates noise-induced hearing loss by reducing oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, **2015**; 22(15):1308-24.

72. **Karaavcı NÇ.** Deneyisel subaraknoid kanama modelinde karbonmonoksit releasing molekül-3'ün serebral vazospazm üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzm Tezi. **2017**; Erzurum.
73. **Nakao A, Kimizuka K, Stolz DB, et al.** Protective effect of carbon monoxide inhalation for coldpreserved small intestinal grafts. Surgery. **2003**;134(2):285-292
74. **Otterbein LE, Zuckerbraun BS, Haga M, et al.** Carbon monoxide suppresses arteriosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury. Nat Med. **2003**; 9: 183-90
75. **Ryter SW, Otterbein LE.** Carbon monoxide in biology and medicine. Bioessays. **2004**; 26: 270-80
76. **Clark JE, Naughton P, Shurey S, et al.** Cardioprotective Actions by a Water-Soluble Carbon Monoxide-Releasing Molecule. Circ Res. **2003**;93(2): e2-e8.
77. **Karaduman H.** Sıçan Alt Ekstremit Akut İskemi Reperfüzyon Modelinde Corm -3 Molekülünün Etkilerinin Gingko Biloba, Sıçan Alt Ekstremit Akut İskemi Reperfüzyon Modelinde Corm -3 Molekülünün Etkilerinin Gingko Biloba ., Published online **2020**
78. **Şerbetçioğlu B, Gürkan S, Mungan S.** İUBP ve OAE Testlerinin Klinik Önemi ve Uygulama Prensipleri. Türkiye Klinikleri J E.N.T.-Special Topics **2012**; 5(2):51-61.
79. **Çelik O, Şerbetçioğlu B, Göktan C.** Otoloji ve Nöro-otolijde öykü, muayene ve değerlendirme. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, Çelik O (ed), 2nd edn, Asya Kitapevi, **2007**:1-35.
80. **Dallos P.** Cochlear amplification, outer hair cells and prestin. Curr Opin Neurobiol, **2008**;18:370-376.
81. **Stavroulaki P, Apostolopoulos N, Dinopoulo D, ve ark.** Otoacoustic emissions-an approach for monitoring aminoglycoside-induced ototoxicity in children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol **1999**; 50: 177-184
82. **Janssen T, Müller J.** Otoacoustic emissions as a diagnostic tool in a clinical context. In: Manley GA, Fay RR, Popper AR, eds. Active processes and otoacoustic emissions in hearing. 1 st ed. New York: Springer; **2008**; 421-60.
83. **Hall JW.** Introduction to auditory evoked response measurement. New Handbook of Auditory Evoked Responses. 1st ed. Boston: Pearson Education; **2007**; 58-109.
84. **Tian CJ, Kim SW, Kim YJ, et al.** Red ginseng protects against gentamicin-induced balance dysfunction and hearing loss in rats through antiapoptotic functions of ginsenoside Rb1. Food Chem Toxicol. **2013**; 60:369-376.
85. **Martins-Lopes V, Bellmunt A, Greguske EA, Maroto AF, Boadas-Vaello P, Llorens J.** Quantitative Assessment of Anti-Gravity Reflexes to Evaluate Vestibular Dysfunction in Rats. J Assoc Res Otolaryngol. **2019**. [Epub ahead of print]
86. **Slaterry DA, Cryan JF.** Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. Nat Protoc. **2012**;7(6):1009-1014.
87. **Gündoğdu R, Erkan M, Aydın M, et al.** Assessment of the Effectiveness of Quercetin on Cisplatin-Induced Ototoxicity in Rats. J Int Adv Otol. **2019**;15(2):229-236
88. **Zhou M, Sun G, Zhang L, et al.** STK33 alleviates gentamicin-induced ototoxicity in cochlear hair cells and House Ear Institute-Organ of Corti I cells. J Cell Mol Med. **2018**; (11):5286-5299.

89. **Llorens, J., Demêmes, D., & Sans, A.** (1993). The behavioral syndrome caused by 3, 3'-iminodipropionitrile and related nitriles in the rat is associated with degeneration of the vestibular sensory hair cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 123(2), 199-210.
90. **Nguyen AT, Armstrong EA, Yager JY.** Neurodevelopmental Reflex Testing in Neonatal Rat Pups. *J Vis Exp*. **2017**;(122):1-10.
91. **R, Bordiga P, Pericat D, Hautefort C, Tighilet B, Chabbert C.** New mouse model for inducing and evaluating unilateral vestibular deafferentation syndrome. *J Neurosci Methods*. **2018**; 293:128-135.
92. **Dyhrfjeld-Johnsen J, Gaboyard-Niay S, Broussy A, Saleur A, Brugeaud A, Chabbert C.** Ondansetron reduces lasting vestibular deficits in a model of severe peripheral excitotoxic injury. *J Vestib Res Equilib Orientat*. **2013**;23(3):177-186.
93. **Greguske EA.** Calyx junction dismantlement and synaptic uncoupling precede hair cell extrusion in the vestibular sensory epithelium during subchronic 3,3'-iminodipropionitrile ototoxicity in the mouse. *Arch Toxicol*. **2019**;93(2):417-434
94. **Boadas-Vaello P, Riera J, Llorens J.** Behavioral and pathological effects in 112 the rat define two groups of neurotoxic nitriles. *Toxicol Sci*. **2005**;88(2):456- 466.
95. **Moore RD, Smith CR, Lietman PS.** Risk factors for the development of auditory toxicity in patients receiving aminoglycosides. *J Infect Dis*. **1984**; 149(1): 23-30.
96. **Mulherin D, Fahy J, Grant W, ve ark.** Aminoglycoside induced ototoxicity in patients with cystic fibrosis. *Ir J Med Sci*. **1991**; 160(6): 173-5.
97. **Unal OF, Ghoreishi SM, Ataş A, Akyürek N, Akyol G, Gürsel B.** Prevention of gentamicin induced ototoxicity by trimetazidine in animal model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. **2005**; 69(2): 193-9.
98. **Conlon BJ, Aran JM, Erre JP, Smith DW.** Attenuation of aminoglycoside-induced cochlear damage with the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Hear Res*. **1999**; 128(1-2): 40-4.
99. **Feldman L, Efrati S, Eviatar E ve ark.** Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. *Kidney Int*. **2007**; 72(3): 359-63.
100. **Foresti, Roberta, et al.** "Vasoactive properties of CORM-3, a novel water-soluble carbon monoxide-releasing molecule." *British journal of pharmacology* 142.3 (2004): 453-460.
101. **Ferrandiz, M. L., et al.** "Treatment with a CO-releasing molecule (CORM-3) reduces joint inflammation and erosion in murine collagen-induced arthritis." *Annals of the rheumatic diseases* 67.9 (2008): 1211-1217.
102. **Lancel, Steve, et al.** "Carbon monoxide rescues mice from lethal sepsis by supporting mitochondrial energetic metabolism and activating mitochondrial biogenesis." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 329.2 (2009): 641-648.
103. **Li, Yan, et al.** "CORM-3 ameliorates neurodegeneration in the amygdala and improves depression- and anxiety-like behavior in a rat model of combined traumatic brain injury and hemorrhagic shock." *Neurochemistry International* 140 (2020): 104842.
104. **Iacono, Luisa Lo, et al.** "A carbon monoxide-releasing molecule (CORM-3) uncouples mitochondrial respiration and modulates the production of reactive oxygen species." *Free Radical Biology and Medicine* 50.11 (2011): 1556-1564.

105. **Celebi, S., Gurdal, M.M., Ozkul, M.H. et al.** The effect of intratympanic vitamin C administration on cisplatin-induced ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 270, 1293–1297 (**2013**).
106. **Ozdogan F., Ensari S., Cakır O. et al.** Investigation of the cochlear effects of intratympanic steroids administered following acoustic trauma. *Laryngoscope*, **2012**
107. **R.M. K, J.D. M, J.E. M, et al.** In vitro release kinetics of gentamycin from a sodium hyaluronate gel delivery system suitable for the treatment of peripheral vestibular disease. *Drug Dev Ind Pharm.* **1999**;25(1):15-20.
108. **Hao J, Li SK.** Inner ear drug delivery: Recent advances, challenges, and perspective. *Eur J Pharm Sci.* **jinch**; 126:82-92
109. **McCall AA.** Drug Delivery for Treatment of Inner Ear Disease: Current State of Knowledge. **2010**;46(2):220-231.
110. **Wu X, Cai J, Li X, et al.** Allicin protects against cisplatin-induced vestibular dysfunction by inhibiting the apoptotic pathway. *Eur J Pharmacol.* **2017**; 805:108-117.
111. **Guneri EA, Olgun Y, Aslier M, et al.** Cochlear and Vestibular Effects of Combined Intratympanic Gentamicin and Dexamethasone. *J Int Adv Otol.* **2017**;13(1):47-52.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Kararı

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
8	16.12.2022	Ç.Ü- SABİDAM	Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR

KARAR NO : 14 – ÇÜTF Kulak Burun Boğaz Ana Bilim Dalı'nda görevli Doç. Dr. Özgür SÜRMELOĞLU'nun yöneticisi olduğu “**Vestibüler Ve Koklear Toksisite Modelinde Carbon Monoxide Releasing Molecule-3'ün (Corm-3) Etkinliğinin Değerlendirilmesi.**” konusu, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oy birliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

ÖZGEÇMİŞ

