

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK ONKOLOJİ BİLİM DALINDA
CİSPLATİN VE/VEYA KARBOPLATİN TEDAVİLERİ ALMIŞ
HASTALARDA OTOTOKSİSİTE ORANLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI VE OTOTOKSİSİTE RİSKİNİ ARTIRAN
GENETİK DEĞİŞİKLİKLERİN SAPTANMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. BETÜL KARGI ÖZTURAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. FARUK GÜÇLÜ PINARLI

ANKARA
Temmuz 2020

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK ONKOLOJİ BİLİM DALINDA
CİSPLATİN VE/VEYA KARBOPLATİN TEDAVİLERİ ALMIŞ
HASTALARDA OTOTOKSİSİTE ORANLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI VE OTOTOKSİSİTE RİSKİNİ ARTIRAN
GENETİK DEĞİŞİKLİKLERİN SAPTANMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. BETÜL KARGI ÖZTURAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. FARUK GÜÇLÜ PINARLI

ANKARA
09.07.2020

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık
Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/07/2020

BAŞKAN
Prof. Dr. Aysun BİDECİ
Gazi Üniversitesi

ÜYE
Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI
Gazi Üniversitesi

ÜYE
Prof. Dr. Ali VARAN
Hacettepe Üniversitesi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Aysun BİDECİ başta olmak üzere tüm hocalarıma,

Yanında çalışmaktan onur duyduğum; tez çalışmamın planlanması, yönlendirilmesi ve hazırlanmasında katkı, emek ve sabrından dolayı danışman hocam Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI'ya ve değerli eşi Uzm.Dr. Ferda ALPARSLAN PINARLI'ya ,

Çalışanları ile her daim yanımda olan ve bilgileri ile desteklerini esirgemeyen Myogen Lab. Ve Sağlık Hiz. A.Ş.'ne,

Hayatımın her döneminde yolumu aydınlatan, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan sevgili annem, babam, ablalarım ve varlıklarıyla mutluluk getiren yeğenlerime,

Uzmanlık eğitimim boyunca hep yanımda olan, desteğini hep hissettiğim ve bana güç veren sevgili eşim Bali İhsan Özturan'a ,

Birlikte çalışmaktan mutlu olduğum tüm uzman, asistan, hemşire ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür etmeyi borç bilirim.

Dr. Betül KARGI ÖZTURAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Çocukluk Çağı Kanserlerine Genel Bakış	4
2.2. İşitme Anatomisi ve Fizyolojisi.....	6
2.2.1. İşitme Anatomisi	6
2.2.1.1. Dış Kulak Yolu Anatomisi.....	7
2.2.1.2. Orta Kulak Anatomisi	8
2.2.1.3. İç Kulak Anatomisi	8
2.2.1.4. Santral İşitme Yolları	11
2.2.2. İşitme Fizyolojisi.....	11
2.2.2.1. Dış Kulak Fizyolojisi	12
2.2.2.2. Orta Kulak Fizyolojisi.....	13
2.2.2.3. İç Kulak ve Santral İşitme Yolları Fizyolojisi	13
2.2.2.4. Sensörinöral İşitme Kaybı.....	15
2.3. Platinum Grubu İlaçlar ve Ototoksisite	15
2.3.1. Ototoksisiteye Genel Bakış	15
2.3.2. Platinum İlişkili Ototoksisite.....	17
2.3.2.1. Cisplatin	17
2.3.2.2. Karboplatin.....	18
2.3.2.3. Cisplatin ve Karboplatin Yan etkileri	19
2.3.2.4. Cisplatin ve Karboplatin İlişkili Ototoksisite.....	20
2.3.2.5. Platinum İlişkili Ototoksisite Patofizyolojisi	20
2.3.2.6. Platinum İlişkili Ototoksisitede Risk Faktörleri.....	23
2.3.2.7. Platinum İlişkili Ototoksisitede Genetik	25
2.3.3. Ototoksisitenin Monitörizasyonu	30

2.3.3.1.	Saf Ses Odyometrisi.....	31
2.3.3.2.	Konuşma Odyometrisi	33
2.3.3.3.	Otoakustik Emisyonlar.....	34
2.3.3.4.	İşitsel Beyin Sapı Yanıtı (Auditory Brainstem Response- ABR)	35
2.3.4.	Platinum İlişkili Ototoksisitede Evreleme.....	36
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1.	Araştırmanın Şekli	42
3.2.	Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Zaman	42
3.3.	Vaka- Kontrol Grubu Seçimi ve Çalışma Yöntemi.....	42
3.4.	Moleküler Analiz	44
3.4.1.	DNA İzolasyonu.....	44
3.4.2.	Klasik PCR (Polymerase Chain Reaction) Yöntemi.....	45
3.4.3.	RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism) Yöntemi ..	48
3.4.4.	RFLP Sonuçlarını Yorumlama	50
3.4.4.1.	SLC31A1 rs10981694 (T>G) polimorfizmi için yorumlama..	50
3.4.4.2.	ACYP2 rs1872328 (G>A) polimorfizmi için yorumlama	51
3.4.4.3.	GSTM3 rs36120609 (CTC>del) polimorfizmi için yorumlama	53
3.5.	İstatistiksel Yöntemler	54
3.6.	Araştırmanın Etik Yönü.....	55
4.	BULGULAR.....	56
5.	TARTIŞMA	69
6.	SONUÇLAR	83
7.	ÖZET	88
8.	ABSTRACT.....	90
9.	KAYNAKLAR	92
10.	EKLER.....	117
11.	ÖZGEÇMİŞ	129

KISALTMALAR

dB	: Desibel
Hz	: Hertz
RES	: Retiküloendotelyal sistem
ASHA	: American Speech-Language-Hearing Association
AAA	: American Academy of Audiology
NOX3	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz 3
GST	: Glutasyon S-Transferaz
MS	: Multipl Skleroz
SLCL31A1	: Solute Carrier Family 31, Member 1
CTR	: Copper Transporter Protein 1
ACYP2	: Acylphosphatase 2
ERCC1-2	: Excision Repair Cross Complementation Group 1-2
TPMT	: Tiopürin- S- Metiltransferaz
COMT	: Katekol- O- Metiltransferaz
DKY	: Dış Kulak Yolu
OAE	: Otoakustik Emisyon
ABR	: Auditory Brainstem Response
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
NCI	: Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü
CTCAE	: Common Terminology Criteria for Adverse Events
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı

PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Fragment Length Polymorphism
bp	: Base Pair
HWE	: Hardy–Weinberg equilibrium
POG	: Pediatric Oncology Group
XPA	: Xeroderma Pigmentosum, group A
MRP2	: Multidrug Resistance Protein 2
ABCC2	: ATP Binding Cassette Subfamily C Member 2

ŞEKİLLER

Şekil 1: Kulağın anatomik yapısı (20).....	7
Şekil 2: Kohlea Anatomisi (24).....	10
Şekil 3: Cisplatin ototoksisitesinin şematik gösterimi (78).....	24
Şekil 4: rs10981694 (T>G) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü.....	51
Şekil 5: rs1872328 (G>A) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü	52
Şekil 6: rs36120609 (CTC>del) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü	54
Şekil 7: Tanı Grupları Yüzdeleri	56
Şekil 8: İlaç cinsine göre hasta yüzdeleri	57
Şekil 9: Cisplatin kümülatif doza göre hasta sayıları	58
Şekil 10: Karboplatin kümülatif doza göre hasta sayıları	58
Şekil 11: Brock evresine göre hasta sayıları	59

TABLÖLAR

Tablo 1: Türkiye’de 2009- 2017 yılları arasında çocukluk çağı kanser dağılımları (17)	5
Tablo 2: Brock Evrelemesi.....	38
Tablo 3: ASHA Kriterleri.....	38
Tablo 4: WHO kriterleri	39
Tablo 5: NCI- CTCAE evrelemesi.....	40
Tablo 6: SIOP- Boston ototoksosite evreleme skalası	40
Tablo 7: Chang Evrelemesi	41
Tablo 8: DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri	44
Tablo 9: PCR Reaksiyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri	46
Tablo 10: PCR Reaksiyonu İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri.....	46
Tablo 11: rs10981694 polimorfizmi için kullanılan primer dizinleri.....	46
Tablo 12: rs1872328 polimorfizmi için kullanılan primer dizinleri.....	47
Tablo 13: rs36120609 polimorfizmi için kullanılan primer dizinleri.....	47
Tablo 14: PCR Reaksiyonu Sıcaklık Koşulları	47
Tablo 15: RFLP İçin Kullanılan Kesim Enzimleri Bilgileri	48
Tablo 16: RFLP için Kullanılan MasterMix Bilgileri	49
Tablo 17: RFLP Reaksiyon Koşulları	49
Tablo 18: rs10981694 (T>G) polimorfizmi için marker bilgileri	50
Tablo 19: rs1872328 (G>A) polimorfizmi için marker bilgileri.....	52
Tablo 20: rs36120609 (CTC>del) polimorfizmi için marker bilgileri.....	53

Tablo 21: İlaç grubuna göre işitme kaybı evreleri	60
Tablo 22: İşitme kaybı gelişen hastaların genetik özellikleri.....	64
Tablo 23: İşitme kaybı olmayan (Brock evre 0) hastaların özellikleri.....	65
Tablo 24: Hasta ve kontrol (sağlıklı) grubunda GSTM3 (CTC>del), SLC31A1 (T>G) ve ACYP2 (G>A) polimorfizmlerinin genotip ve alel frekansları (p<0,05).	67
Tablo 25: İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubunda GSTM3 (CTC>del), SLC31A1 (T>G) ve ACYP2 (G>A) polimorfizmlerinin genotip ve alel frekansları (p<0,05).	68

1. GİRİŞ

Cisplatin ve karboplatin nöroblastom, hepatoblastom, retinoblastom, germ hücreli tümörler, osteosarkom, medulloblastom ve diğer beyin tümörlerinde yaygın olarak kullanılan platinum grubu ilaçlardır (1). Platinum grubu ilaçların sık görülen yan etkilerinden birisi ototoksisite ve bununla ilişkili kalıcı işitme kaybıdır (2–4).

Platinum ilişkili ototoksisitede işitme kayıpları ilk olarak yüksek frekanslarda başlayan, kalıcı, bilateral ve progresif seyir gösterebilen sensörinöral tiptedir ve sıklıkla tinnitus eşlik etmektedir(5,6). İşitme kayıpları bazı durumlarda tedavi bitiminden yıllar sonra bile ortaya çıkabilmektedir(7). Ototoksisite daha çok cisplatinin yan etkisi olarak bilinse de karboplatin de özellikle cisplatinle kombine olarak kullanıldığında ya da kök hücre transplantasyonlarında myeloablatif dozlarda kullanıldığında işitme kaybına neden olabilmektedir. Pediatrik yaş grubunda ortaya çıkan işitme kayıplarında hastanın dil gelişimi, okul performansı, sosyo-emosyonel gelişimi ve hayat kalitesi olumsuz etkilenmektedir (8).

Çocuklarda platinum tedavisi öncesinde ve ototoksisitenin odyolojik monitörizasyonunda saf ses odyometrisi, konuşma odyometrisi, akustik refleksler, otoakustik emisyonlar, genişletilmiş yüksek frekans odyometri ve elektrofizyolojik testler kullanılmaktadır. Bu testlerden hastanın yaşına uygun olan yöntem seçilerek platinum grubu ilacı almadan önce tüm hastalara uygulanması önerilmektedir. Ayrıca tedavi sırasında takip edilmesi, ototoksisite lehine bulgusu olanlarda kemoterapi dozunun değiştirilmesi, tedavi bitiminde de işitmesinin takip edilmesi önerilmektedir (6).

Platinum grubu ilaçların ototoksitesini tanımlamak amacıyla geliştirilmiş pek çok evreleme sistemleri bulunmaktadır. Bunlar Brock evreleme sistemi, Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) kriterleri, Chang evrelemesi, fonksiyonel işitme kaybı skalası, ASHA (American Speech-Language-Hearing Association) kriterleridir. Brock evreleme sistemi uygulaması kolay ve pratik olması nedeni ile en çok tercih edilen evreleme sistemleri arasındadır (7,9).

Cisplatin ve karboplatine bağlı ototoksite gelişimini etkileyen risk faktörleri; erkek cinsiyet, yüksek kümülatif doz, genç hasta yaşı (özellikle 5 yaş ve altı), tedavi öncesinde ve tedavi sırasında kranial radyoterapi almış olmak, eşlik eden renal hastalık öyküsü, ilacın bolus olarak uygulanması, platinum grubu ilaçlarla birlikte aminoglikozid, furosemid gibi ek ototoksik ilaç kullanımıdır (3,10–12). Ancak tüm bu klinik faktörler platinum grubu ilaçlara ototoksite geliştiren bireyler arasındaki değişkenliği kısmen açıklamaktadır(13). Aynı dozlarda cisplatin veya karboplatini benzer programlarda alan hastalarda görülen ototoksitedeki bireysel farklılıklarda genetik yatkınlık ön plana çıkmaktadır (14). Bu konuda araştırılan başlıca gen grupları ise *GST* (glutatyon- S- transferaz) gen ailesi, *SLC* (solute carrier) gen ailesi, *TPMT* (tiopurin S-metiltransferaz) ve *COMT* (catechol O-methyltransferase) enzimlerini kodlayan genler, *ACYP2* gen ailesidir. Bu gen gruplarında işitme kaybı açısından araştırılan tek gen polimorfizmlerinin etnik kökenlere göre normal popülasyondaki sıklığının da göz önüne alınması gerektiği belirtilmektedir (15).

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji kliniğinde cisplatin veya karboplatin ile tedavi edilen ve remisyonda ya da kür olarak

değerlendirilen hastalarda işitme kaybını saptayıp şiddetine göre Brock evreleme sistemi ile evreleyerek bu iki grup ilacın ototoksite oranlarını belirlemeyi, işitme kaybı riskini artırdığı düşünülen *GSTM3*, *SLC31A1*, *ACYP2* tek gen polimorfizmlerini araştırmayı ve sağlıklı çocuklarda bu genetik varyantların sıklığını belirleyerek çok değişkenli analizlerle anlamlılıklarını saptamayı amaçladık.

Çalışmamız pediatrik hastalarda platinum ilişkili ototoksisite riskinin belirlenebilmesi amacıyla yapılan genetik marker araştırmalarında *GSTM3*, *SLC31A1* ve *ACYP2* genleri ile ilgili ülkemizdeki ilk çalışma olma özelliğindedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çocukluk Çağı Kanserlerine Genel Bakış

Kanser, çocukluk yaş grubunda erişkinlere göre daha nadir görülmekle birlikte 15 yaş altı çocuklarda yılda 100 binde 10-15 arasında kanser tanısı konulmaktadır. Erken tanı ve gelişmiş tedavi yöntemleri ile çocukluk çağı kanserlerinde yaşam oranları %80'e kadar ulaşmaktadır (16). Ülkemizde yapılan istatistiksel kayıtlara bakıldığında en sık görülen pediatrik kanserler (Tablo 1) lösemi, lenfomalar ve diğer retikuloendotelial sistem tümörleri, santral sinir sistemi tümörleri ilk 3 sırayı oluşturmaktadır ve 5 yıllık sağkalım oranları %67.8 olarak değerlendirilmiştir (17). Sağkalım oranlarının ve beklenen yaşam sürelerinin uzun olması nedeni ile hastalığa bağlı ve tedavi sonucunda gelişen sekellerin en düşük düzeyde tutulması çocukluk çağı kanserlerinde hastanın izlemindeki en önemli hedeflerden biridir.

Tüm bu çocukluk çağı kanserlerine bakıldığında, cisplatin ve karboplatin gibi platinum grubu ilaçlar; SSS tümörleri, nöroblastom, retinoblastom, germ hücreli tümörler, karaciğer tümörleri, kemik ve yumuşak doku tümörleri gibi pek çok malign hastalıkta yaygın kullanım alanına sahiptir (1). Bu ilaçların kullanımı uzun dönemde yaşam süresini artırmasına rağmen ototoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite gibi pek çok yan etkisi ortaya çıkmakta ve ağır morbiditeye neden olabilmektedir (18).

Tablo 1. Türkiye’de 2009- 2017 yılları arasında çocukluk çağı kanser dağılımları (17)

Histopatolojik tanı	Sayı	%
Lösemi	4114	27.9
Lenfoma ve RES Tümörleri	2823	19.1
Santral Sinir Sistemi Tümörleri (Kranial ve Spinal)	1950	13.2
Sempatik Sistem Tümörleri	1166	7.9
Yumuşak Doku Sarkomları	991	6.7
Kemik Tümörleri	965	6.5
Germ Hücreli Tümörler	911	6.2
Renal Tümörler	736	5.0
Karsinomlar ve Diğer Epitelyal Tümörler	436	3.0
Retinoblastom	351	2.4
Karaciğer Tümörleri	242	1.6
Diğer Nonspesifik Malignansiler	84	0.6
Toplam	14769	

2.2. İşitme Anatomisi ve Fizyolojisi

2.2.1. İşitme Anatomisi

İşitme, periferik ve santral olmak üzere 2 sistemden oluşmaktadır. Periferik sistemi kulağın komponentleri ve kohlear sinir oluşturmaktadır. Bu yapılar kraniumda her iki temporal kemik içerisinde yerleşmiştir. Santral sistemi ise kohlear nükleuslar, superior olivar kompleks, lateral lemniscus, inferior kollikulus, işitme korteksi ve interhemisferik yollar oluşturmaktadır (19).

Denge ve işitmenin periferik organı olarak görev yapan kulak 3 anatomik kısma ayrılmaktadır:

1. Dış Kulak

- ❖ Kulak kepçesi (auricula)
- ❖ Dış kulak yolu

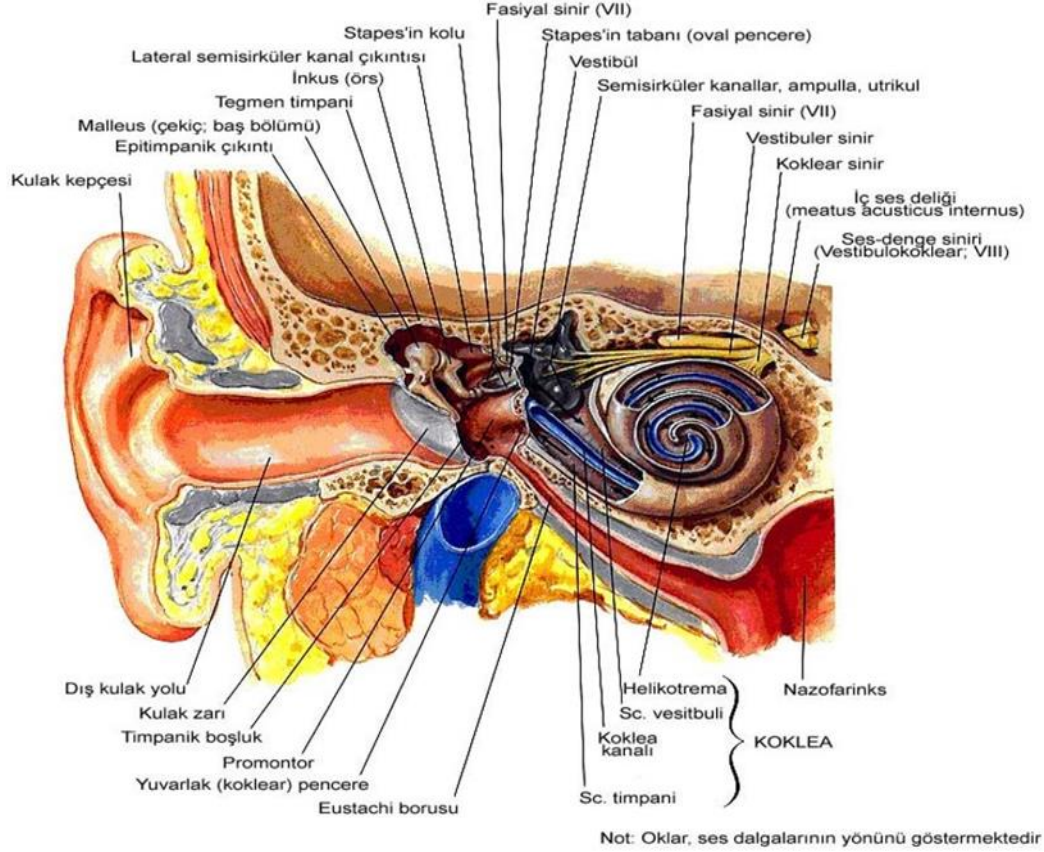
2. Orta Kulak

- ❖ Timpan membran (Kulak zarı)
- ❖ Kemikçikler (malleus, incus, stapes)
- ❖ Orta kulak kasları
- ❖ Orta kulak mukozal katlantıları
- ❖ Östaki borusu

3. İç Kulak

- ❖ Vestibuler sistem
- ❖ Kohlea

Kulağın anatomik yapısı Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Kulağın anatomik yapısı (20)

2.2.1.1. Dış Kulak Yolu Anatomisi

Dış kulak, kulak kepçesi (*auricula*) ve dış kulak yolu (*meatus acusticus externus*) olmak üzere iki bölümde incelenmektedir. Aurikula ses dalgalarının toplanmasında rol oynar. Ayrıca yapısı sayesinde 5000 Hz'lik yüksek frekans aralığındaki seslere maksimum yanıt vermeyi sağlamaktadır (19). Dış kulak yolu da bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde rol oynamaktadır (19–21).

2.2.1.2. Orta Kulak Anatomisi

Orta kulak, kulak zarı (timpanik membran) ile iç kulak arasında yerleşmiş bir boşluktur. Ses dalgalarının iç kulağa iletilmesinde görev almaktadır. Östaki borusu aracılığı ile dış ortamla ve aditus ad antrum ile mastoid hücrelerle bağlantılıdır. Orta kulak boşluğunda timpanik membrana gelen ses titreşimlerini iç kulağa ileten dıştan içe malleus, incus ve stapes denilen hareketli kemikçikler bulunur. Orta kulak içerisindeki bu oluşumlar ses dalgalarını kulak zarından iç kulağa iletirken sesi amplifiye etmektedirler (21).

2.2.1.3. İç Kulak Anatomisi

Temporal kemik petröz parçası içerisinde yerleşim gösteren iç kulak hem denge hem de işitme ile ilgili yapıları barındırır. Kemik (osseöz) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki bölümden oluşur (22).

Kemik (osseöz) labirent; otik kapsül denen kemik dokusundan oluşmuştur ve vücudun en sert kemiğidir. Kemik labirentin içerisinde membranöz labirent yer alır ve her iki labirent arasında “perilenf sıvısı” bulunur. Kemik labirent; vestibulum, semisirküler kanallar, kohlea, akuaduktus vestibuli, akuaduktus kohlea yapılarından oluşur.

Zar (membranöz) labirent; kemik labirent içerisinde yer alır ve kemik labirentin 1/3 kadarını doldurur. Zar labirent; utrikulus, sakkulus, duktus semisirkularis, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, korti organı, duktus kohlearis yapılarından oluşmaktadır (21,23).

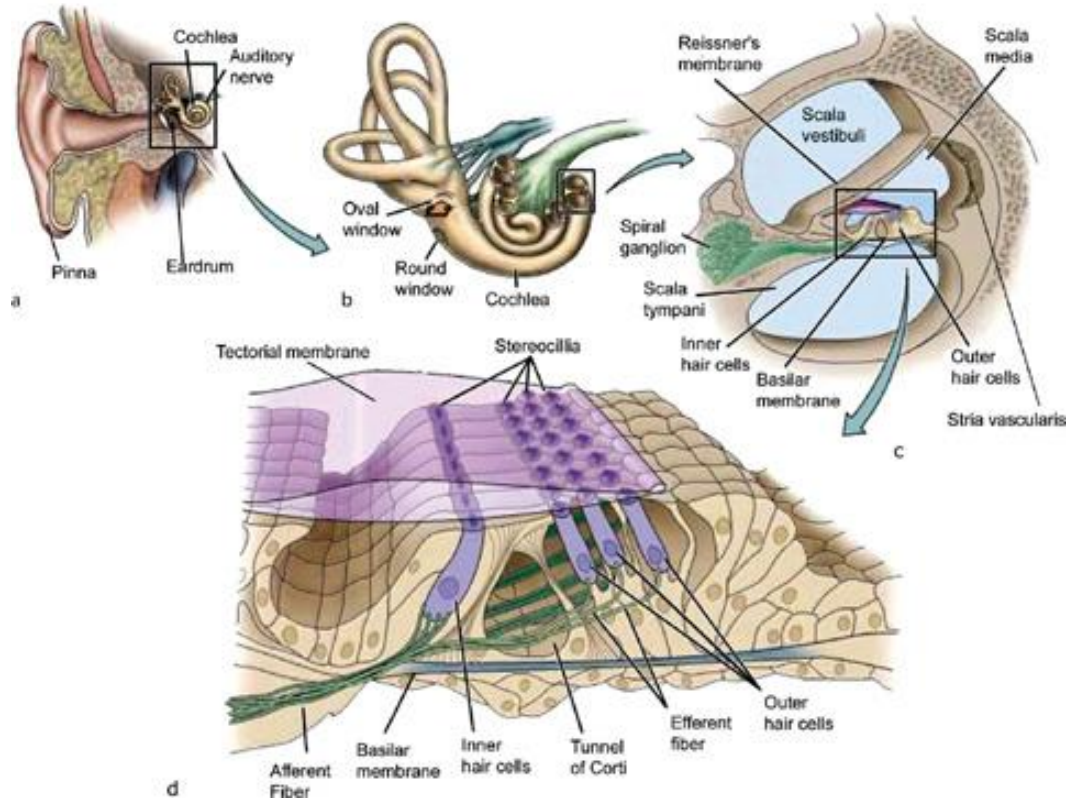
Kohlea, kemik labirentin salyangoz şeklindeki kısmıdır. Modiolus etrafında 2.2-2,7 arasında dönüş yapar. Modiolus, kohleanın merkezinde yer alan, kan

damarları ve vestibulokohlear sinire ait liflerin geçtiği delikli koni şekilli yapıdır (19). Modiolus etrafında 2.7 tur civarında dönerek saran kemik yola kanalis spiralis kohlea adı verilir. Kanalis spiralis kohleanın dış duvarına yaslanmış olarak duktus kohlearis yer alır. Duktus kohlearis scala media olarak da isimlendirilebilmektedir. İçerisi endolenf sıvısı ile doludur. Modiolusun dış yüzünden kanalis spiralis kohleanın içine uzanan kemik yaprağa lamina spiralis ossea denir. Lamina spiralis ossea ilerleyerek fibröz tabaka halini alır ve spiral kanala uzanarak baziller membran olarak isimlendirilir. Bu membran, kanalis spiralis kohleayı üstteki scala vestibuli, alttaki scala timpani olmak üzere iki geçide ayırır (20,23). Bu geçitler “helicotrema” adı verilen yapı ile birbirlerine bağlanırlar. Her iki geçit perilenf adı verilen serebrospinal sıvı ile benzer içeriğe sahip sıvı ile doludur (19).

Baziller membran üzerinde ses duyusunu alan korti organı yer alır. Korti organı, ses titreşimlerini nöroepitelyal hücreler aracılığıyla elektriksel potansiyellere dönüştürür. Korti organı; duktus kohlearisin içinde, baziller membran üzerinde yer alır. Destek ve duyu hücrelerinden oluşmaktadır (19). Duyu hücreleri ise silindirik ve silialı (tüylü) hücre gruplarıdır(20). Tüylü hücrelerde yerleşim yerine göre iç tüylü hücreler ve dış tüylü hücreler olarak 2 gruba ayrılmıştır. Bu hücre gruplarının stereosiliaları membrana tektorianın alt yüzeyi ile bağlantılıdır. Membrana tektoria temel olarak dış tüylü hücrelerle temas halindedir. Tüylü hücrelerin bazalinde afferent ve efferent işitme siniri lifleri, üst kısımlarında ise stereosilialar yer alır (19). İç tüylü hücreler tek sıra halinde dizilmiş, dış tüylü hücrelerden daha uzundur, stereosiliaları daha kalındır ve şiddetli uyaranlara cevap

verirler. Dış tüylü hücreler 3-4 sıra olarak dizilmiş ve daha kısa hücrelerdir (20).

Kohlea anatomisi Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Kohlea Anatomisi (24)

Duyu hücrelerinin bazal kısımlarında yer alan aferent ve efferent sinir lifleri spiral laminadan geçerek modiolusta yer alan "*Spiral Ganglion*" da sonlanırlar. İç ve dış titretilen tüylü hücreleri innerve eden sinir lifleri bu ganglionda yerleşmiştir (19,20).

2.2.1.4. Santral İşitme Yolları

Spiral ganglionlardan çıkan santral uzantılar "*nukleus cochlearis*"i oluştururlar. N.cochlearis, çoğunlukla afferent sinir liflerini taşımaktadır. N.cochlearis, iç kulak yolunda vestibuler sinir ile birleşerek 8.siniri oluşturarak ponsun alt kenarından beyne girer. Bu sinir lifleri beyinde dorsal ve ventral kohlear çekirdeklerle sinaps yaparlar. Sinaps yaptıktan sonra kohlear çekirdeklerden çıkan 2. nöronlardan bir kısmı çapraz yaparak bir kısmı da aynı tarafta ilerleyerek ponsta superior olivar komplekse ulaşır. Superior olivar kompleksten çıkan lifler pons ve mezensefalonda lateral lemniscus adı altında ilerler (20). Lifler lemniskus lateraleden sonra colliculus infeora ulaşır ve corpus geniculatum medialede sonlanır. Corpus genikulatum laterale, talamusun kaudalinde yer alır ve aynı taraftaki colliculus inferiordan uyarıları alır. Az miktarda da karşı taraf colliculus inferiordan uyarıları alarak sesin lokalizasyonunu ve lateralizasyonunu sağlarlar (19).

Corpus genikulatum medialeden çıkan sinir lifleri beyinde internal kapsülden geçerek primer işitme korteksi olan ve temporal lobta yer alan "*Heschl gyrusu*"nda sonlanır. İşitme korteksinden ve superior olivar kompleks ve diğer çekirdeklerden başlayan bir kısım sinir lifleri eferent sinirleri oluşturarak korti organındaki tüylü hücrelerde sonlanarak alınan bazı seslerin inhibe edilmesinde rol oynamaktadır (19,20).

2.2.2. İşitme Fizyolojisi

Dış ortamdaki moleküllerin birbiri ardına yoğunlaşma ve seyrekleşme şeklinde uzunlamasına yaptıkları titreşimlerin kulak zarına çarpması ses hissini oluşturur

(25). Sesin frekansı "Hertz (Hz)" olarak ifade edilir. İnsan kulağı için duyulabilir ses frekansı 20 – 20000 Hz arasındadır. Sesin şiddet birimi desibeldir (db) (26).

Dış ortamdaki ses dalgalarının dış kulak yolundan içeri girerek, iç kulağı iletilerek aksiyon potansiyeli oluşması ile oluşan ‘ses’ bilgisinin beyindeki merkezlerde anlam ve karakter olarak algılanmasına kadar olan süreç işitme olarak isimlendirilir.

İşitmenin asıl yolu olan, ses dalgalarının timpan zar ile kemikçiklere ve iç kulaktaki perilenf sıvısına iletilmesine "*kemikçik iletimi*" denir. Ses dalgaları, aynı zamanda yuvarlak pencereyi kapatan membranda da titreşimler oluşturur. Normal işitme için pek önemli olmayan bu olaya "*hava iletimi*" denir. Üçüncü tip iletim olan "*kemik iletimi*", kafatası kemiklerindeki titreşimlerin iç kulaktaki sıvıya iletilmesidir (25).

İşitmenin ilk fazı olan "*iletim fazı*" nda ses dalgaları kulak zarı ve kulak kemikçikleri ile stapes ayağının hareketine dönüştürülür. Bu hareketler iç kulak sıvısında dalga hareketleri oluşturur. Korti organına iletilen bu dalgalar aksiyon potansiyeli oluşumunu sağlar (25,27,28).

2.2.2.1. Dış Kulak Fizyolojisi

Auricula (kulak kepçesi), çevredeki sesleri toplayarak dış kulak yoluna yönlendirmeyi sağlar. Ayrıca dış kulak yolu ile birlikte belirli frekans aralığında daha belirgin olmak üzere kulak zarı üzerine olan ses basıncını artırır ve ses kaynağının yönüne bağlı olarak ses basıncının farklı olması nedeniyle sesin lokalizasyonunu belirlemeye yardımcı olur (25,27). Dış kulak yolu bir ucu açık bir ucu kapalı bir tüp benzeri anatomik yapısı ile akustik rezonatör olarak görev yapar.

İletilen ses dalgalarını kendi uzunluğundan yaklaşık 4 kat daha büyük dalga boyları ile düzenleyip oluşan akustik enerjiyi güçlendirerek düzenleme yapar ve kulak zarına iletir (19).

2.2.2.2. Orta Kulak Fizyolojisi

Kulak zarının dış yüzeyinde ses dalgalarının yaptığı basınç değişikliklerine yanıt olarak timpan zar içe ve dışarı doğru hareket eder. Bundan dolayı zar, ses kaynağının titreşimlerini üreten rezonatör görevi görür. Oluşan titreşimler zara yapışık konumda bulunan "*manibrium mallei*" vasıtasıyla malleusa iletilir. Malleus, uzun ve kısa kollarının birleştiği yerden geçen bir eksen etrafında salınır ve titreşimin inkusa iletilmesini sağlar. İnkusun hareketi ile stapes başına, stapes başının hareketleri ile de oval pencereye iletilir. Böylece orta kulak kemikçikleri, timpan zarda oluşan titreşimleri kohleanın perilenfle dolu olan skala vestibulisine iletmek üzere stapes hareketleri oluşturan kaldırma sistemi gibi görev yapar (25). Orta kulakta bu iletim sırasında, ses dalgaları akustik rezistansı düşük olan atmosferden akustik rezistansı çok yüksek olan perilenfe (sıvı ortama) geçerken enerji kaybına uğramaktadır. Bu ortam değişikliği sırasında 30 dB ses kaybı ortaya çıkmaktadır. Ancak orta kulak ve kemikçikler, ses basıncını artırmakta, kendisine gelen akustik enerjiyi yaklaşık 30 dB kadar yükselterek perilenfe aktarmaktadır (27,28).

2.2.2.3. İç Kulak ve Santral İşitme Yolları Fizyolojisi

Stapes tabanının hareketleri, skala vestibuli içerisindeki perilenfte dalga hareketlerini başlatır. Oluşan mekanik dalga, baziller membranı tabandan apekse doğru hareketlendirir(27,28). Bu dalgalar kohleadan yukarı doğru, baziller

membran üzerinde hareket ederken dalga boyu bir noktada maksimuma yükselir ve daha sonra hızla düşer. Bu dalgaların baziller membran üzerinde en büyük titreşimi yaptığı yer, her frekans için ayrıdır (29). Kohleadaki membranın tabana yakın yeri ince, kısa ve gergindir. Apekte yakın yeri ise kalın, uzun ve gevşektir. Bu nedenle membranın en alt kısmı en yüksek frekanslarda; en üst kısmı ise en alçak frekanslarda uyarılır. Baziller membranın hareketi, tektorial zar üzerindeki tüy hücreleri arkaya ve öne doğru sürtünmesine ve uyarılmasına neden olur (30). İç tüylü hücreler, işitme sinirlerinde aksiyon potansiyeli oluşturan esas duyuşal hücrelerdir. Ancak dış tüylü hücreler de iç tüylü hücrelerin farklı ses tonlarına olan duyarlılığını denetlemekte, seslerin genliğini ve netliğini artırmaktadır. Bu görüşü destekleyecek şekilde pek çok efferent sinir lifi beyin sapından dış tüylü hücrelere ulaşmaktadır (25,30).

Tüylü hücrelerle sinaps yapan sinir liflerinin hücre gövdesi, spiral ganglionda yerleşmiştir. Spiral gangliondaki hücreler bipolar olup periferik uzantıları kohleadadır. Santral uzantıları ise birleşerek işitme sinirini meydana getirirler (30,31). İşitme sinirinde 2 tip lif vardır. Tip 1 sinir lifleri, tüm liflerin %90'ını oluşturup iç tüylü hücrelerle sinaps yaparken, tip 2 lifler dış tüylü hücrelerle bağlantılıdır (19). Tüm bu sinir lifleri beyin sapında çaprazlaşarak karşı taraf superior olivar komplekse ulaşır. Bir miktar sinir lifleri de ipsilateral superior olivar kompleks ile sinaps yapar. Süperior olivar kompleksten çıkan işitme yolu lateral lemniskus üzerinden inferior kollikulusa geçer. Ardından tüm işitme sinir liflerinin sinaps yaptığı medial genikulat çekirdeğe ulaşırlar. Son olarak da temporal lobun superior gyrusunda yer alan işitme korteksine ulaşırlar(30). Ses uyaranları

taşıdıkları frekanslara göre işitme merkezinde değişik yerlerde sonlanırlar ve kohlea gibi tonotopisite göstermektedirler(19,28). Düşük tonlar işitme korteksinin anterolateralinde, yüksek tonlar ise posteromedialinde sonlanırlar (25).

2.2.2.4. Sensörinöral İşitme Kaybı

Sensörinöral sağırılık, sesin oluşturduğu enerjinin nöronal taşınımı ile ilişkili problemler sonucu ortaya çıkan işitme kaybı tipidir. Kohlear yapıların veya işitme sinirinin hasarı sonucu ortaya çıkabilir. Bu tip işitme kayıplarının çoğu kohleadaki tüylü hücre hasarından kaynaklanmaktadır. Tüylü hücreler, frekansa özel uyarı oluşturmaları nedeni ile işitme kayıpları da belirli frekans aralığına özel olarak ortaya çıkmaktadır (32).

Sensörinöral işitme kaybı nedenleri, genetik sendromlar; kızamık, kızamıkçık, CMV gibi virüsler; hipoksik hasar, hiperbilirubinemi, akustik nörinom ve 8.kranial sinir tümörleri, medullada vasküler harabiyet, yaşlılığa bağlı işitme kaybı (presbiakuzi); aminoglikozid, furosemid, cisplatin gibi ototoksik ilaç kullanımları sayılabilir (32,33).

2.3. Platinum Grubu İlaçlar ve Ototoksisite

2.3.1. Ototoksisiteye Genel Bakış

Bazı terapötik ajanların kullanımına bağlı olarak kohlear hücrelerde ve bazı durumlarda vestibuler yapılarda ortaya çıkan dejenerasyon “ototoksisite” olarak isimlendirilmektedir (34). Potansiyel ototoksik etkiye sahip 600'den fazla ilaç kategorisinin olduğu bilinmektedir (35). Aminoglikozid grubu antibiyotikler, loop diüretikleri, antimalaryal ilaçlar, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, antiretroviral tedavi ve platinum grubu ilaçlar en yaygın kullanılan ototoksik ajanlardır (34).

Ototoksisite gelişimi işitme kaybı, tinnitus, hiperakuzi, vertigo, dengesizlik gibi belirtilerle ortaya çıkmaktadır. Bu semptomların yoğunluğu geçici tinnitustan total sağırılığa kadar değişmektedir (35). Tinnitus ve işitme kaybı genellikle bilateralidir.

İlaç ilişkili ototoksisite tanısının konulmasında gecikme, klinik pratikte sık karşılaşılan bir durumdur. Ortaya çıkan işitme kaybının oldukça değişken olması, hasta yaşının küçük olması, hastanın bilişsel seviyesi, eşlik eden ek hastalık öyküsü tanının gecikmesinde etkili olan faktörler arasındadır (36).

Ototoksik ilaçlar, kohleada öncelikle bazal membranın tabana yakın olan ve yüksek frekansları algılayan dış tüylü hücrelerini etkilerler ve daha düşük frekansları algılayan hücrelerde dejenerasyon yaratarak işitme kaybının ilerlemesine neden olabilirler (36).

İşitme kaybı tipik olarak 8000 Hz ve üzerinde başlayarak daha düşük frekanslara progrese olmaktadır (37). Bu nedenle ilaç ilişkili ototoksisite riskine karşı odyolojik monitorizasyonu sağlamak için American Speech-Language-Hearing Association (ASHA) ve the American Academy of Audiology (AAA), 250 Hz- 8000 Hz frekans aralığında değerlendirme yapan saf ses odyometrisi (pure-tone odyometri), 9000 Hz- 20000 Hz aralığını değerlendiren yüksek frekans odyometrisi ve "distortion-product otoakustik emisyon" gibi objektif ölçümleri içeren odyometrik testlerin kullanılmasını önermektedir (38).

2.3.2. Platinum İlişkili Ototoksosite

2.3.2.1. Cisplatin

Cisplatin, diğer ismiyle cis- diamminedichloroplatinum(II), alkilleyici benzeri bir ajandır ve platinum grubu ilaçlar arasında ilk geliştirilmiş olan üyedir. Cisplatinin kimyasal formülü $PtCl_2 (NH_3)_2$ dir (39). Moleküler ağırlığı 301.1 g/mol'dür (40).

Cisplatin, cis pozisyonunda ayrılabilen iki klor ve iki amonyum atomu ile çevrelenmiş platinum atomundan oluşmaktadır. Sudan zengin ortamlarda, hidroksil iyonları ile klorid iyonları yer değiştirmesi ile oluşan platinum katyonları, DNA üzerindeki pürin bazlarına N7 pozisyonundan kovalent bağlarla bağlanmakta ve DNA'da zincir içi ve zincirler arası çapraz bağlar oluşturmaktadır (41).

Cisplatin, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır. Oral emilimi kötüdür. Bu nedenle intravenöz olarak uygulanmaktadır. İlaç, intravenöz infüzyon ile vücuda verildikten sonra karaciğer, böbrekler, kolon, ince bağırsak gibi dokularda yüksek konsantrasyonlara ulaşırken santral sinir sistemine geçişi iyi değildir. Cisplatinin yaklaşık % 90'ı böbreklerden, %10'u ise bilier atılım yolu ile elimine edilmektedir (18).

Cisplatinin sitotoksik etkisi, DNA'daki pürin bazlarına özellikle de guanine N7 ucundan bağlanması ile DNA-protein ve DNA-DNA zincirleri ve zincirler arasında çapraz bağlar oluşturmaları ile başlamaktadır (42). Sonuçta hücrelerde DNA, RNA ve protein sentezini ve DNA tamir mekanizmalarını engellemektedir. Mitokondrial DNA ile etkileşime girmesi ile reaktif oksijen radikalleri oluşturan cisplatin, hücre hasarı oluşturmakta ve apoptozisi indüklemektedir (42,43).

Cisplatin; osteosarkom, nöroblastom, hepatoblastom, germ hücreli tümörler, relaps veya refrakter lenfomalar, küçük hücreli akciğer kanserleri, santral sinir sistemi tümörleri, over kanserleri gibi pek çok çocukluk çağı ve erişkin kanserlerinde kullanılmaktadır (44).

2.3.2.2. Karboplatin

Karboplatin (cis-diammine-1,1-cyclobutane decarboxylate platinum [II]), cisplatinin doz bağımlı toksisitesine karşı geliştirilmiş, 2. jenerasyon platinum bileşiğidir (45). Kimyasal yapısında, cisplatinden farklı olarak, platinum atomu etrafında 2 klor iyonu yerine siklobutan-dikarboksilat grubu yerleşmiştir (46).

Karboplatin, kimyasal olarak cisplatine göre daha stabildir ve plazma proteinleri ile daha az reaksiyona girmektedir (45). Hücre üzerindeki etkisini, cisplatinde olduğu gibi platinum-DNA etkileşimi ile pürin bazlarına kovalent bağlarla bağlanması ile göstermekte; DNA sentezini ve hücre bölünmesini inhibe etmektedir. Ancak DNA hasarı oluşturma etkisi daha yavaş ve zayıftır. Bu nedenle cisplatine göre daha yüksek dozlarda uygulanması gerekmektedir (46).

Karboplatin, oral yolla alındığında emilimi düşüktür. İntravenöz ve intraperitoneal uygulanabilmektedir. Kan beyin bariyerini geçerek serebrospinal sıvıya ulaşmaktadır. Karboplatinin temel eliminasyon yolu böbreklerdir. 24 saat içerisinde %90 'ı glomerüler filtrasyon yolu ile böbreklerden atılmaktadır (46).

Karboplatin; retinoblastom, hepatoblastom, germ hücreli tümörler, optik gliom gibi beyin tümörleri, over kanserleri, akciğer kanserleri gibi kanser türlerinde kullanılmaktadır (45).

2.3.2.3. Cisplatin ve Karboplatin Yan etkileri

Gastrointestinal Sistem: Cisplatin, diğer platinum grubu ilaçlara göre en yüksek emetojenik potansiyeli olan ajandır (47). Bulantı ve kusma, cisplatinin en sık görülen yan etkisidir. Ciddi ve uzamış kusma epizotları ortaya çıkarabilmektedir (48). Metalik tat algısı, mukozit, ishal diğer gastrointestinal sistem yan etkileridir. Karboplatin de cisplatin gibi emezise neden olabilmektedir. Ancak daha az sıklıkta görülmektedir ve cisplatin ilişkili emezise göre çok daha kolay kontrol altına alınabilmektedir (18,48,49).

Kardiyovasküler Sistem: Platinum grubu ilaçların spesifik kardiyak yan etkisi olmamakla birlikte sinüs bradikardisi, taşiaritmilerin geliştiği vakalar mevcuttur (50,51).

Nörolojik Sistem: Cisplatin, periferik sinir sisteminde kümülatif hasar ortaya çıkarabilmektedir. Özellikle dorsal kök ganglionlarında hasar oluşturmaktadır (52). Nöropati sonucunda uyuşma, vibrasyon ve pozisyon hissi kaybı, ağırlı pareteziler, tremor, ataksi ve konvülziyon gibi semptomlar ortaya çıkabilmektedir (53). Karboplatin ilişkili nörotoksisite ise cisplatine göre çok daha az görülmektedir (54).

Hematolojik Sistem: Myelosupresyon, karboplatinin doz kısıtlayıcı toksisitesidir, Karboplatin yan etkisi olarak cisplatinden daha sık ortaya çıkmaktadır ve şiddetli trombositopeniye neden olabilmektedir (54).

Renal Etkiler ve Elektrolit Değişiklikleri: Cisplatin, diğer platinum grubu ilaçlara göre en nefrotoksik ajandır(55). Tübüler epitelyal hücrelerde, glomerullerde nekroza yol açarak geçici proteinüri, Fankoni benzeri sendrom,

hipomagnezemi, hipokalsemi, renal tuz kaybı, akut renal yetmezlik, distal tübüler asidoz ortaya çıkarabilmektedir (56).

Karboplatin de yüksek dozlarda nefrotoksik etki gösterebilmekte, kreatinin klirensinde azalma ve hipomagnezemiye neden olabilmektedir (57).

Görme ile İlgili Etkiler: Cisplatin ön planda olmak üzere platinum grubu ilaçlar, optik nörit, papilödem, retrobulber nörit ve retinal toksisiteye neden olabilmektedirler (55).

2.3.2.4. Cisplatin ve Karboplatin İlişkili Ototoksisite

Cisplatin, platinum grubu bileşikler arasında en fazla ototoksik olan ajandır. Ancak myeloablatif dozlarda kullanılan karboplatin de ototoksisiteye neden olabilmektedir. Ayrıca eşlik eden ek ototoksik ilaç kullanımı da riski artırmaktadır (8,58). Platinum ilişkili ototoksisite, bilateral, simetrik, progresif ve geri dönüşümsüz, sensörinöral tip işitme kaybına neden olarak ortaya çıkmaktadır (59). Tinnitus ve vertigo da eşlik eden diğer semptomlardandır. İşitme kaybı, öncelikle yüksek frekanslarda başlamakta, artan ilaç uygulamaları ile artan kümülatif dozlarda daha düşük frekansları etkileyerek progresif seyir göstermektedir (60).

2.3.2.5. Platinum İlişkili Ototoksisite Patofizyolojisi

Cisplatin ototoksisitesi ile ilgili yapılan histopatolojik çalışmalarda, hücre hasarı dış tüylü hücrelerde başlamakta, kohleanın apeksine doğru ilerleyebilmektedir. Devam eden maruziyetlerde de 2.-3. sıra dış tüylü hücre hasarı da ortaya çıkmaktadır (61,62). Hasar, sadece tüylü hücrelerle sınırlı olmayıp destek hücrelerinde, stria vasculariste marjinal hücrelerde ve spiral ganglionda da meydana gelmektedir (63). Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hem endolenfte

bozulmuş potasyum alımı ve sekresyonu hem de dış ve iç tüylü hücrelerin homeostazisinin bozulması sonucunda stria vaskularis, platinum tedavisi sonrası ilk etkilenen bölge olarak değerlendirilmiştir (64).

Karboplatine bağlı ototoksisite konusunda yapılan çalışmalarda ise bazı hayvan modellerinde hasarın öncelikle iç tüylü hücrelerde başladığı görülmüştür (65). Ancak sıçanlar üzerinde yapılan araştırmalarda ise cisplatine benzer şekilde, hasar öncelikli olarak dış tüylü hücrelerde görülmüştür (66).

Cisplatinin sitotoksisite oluşturmada konusunda öne sürülen *moleküler* mekanizmalarla ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında:

- 1) Reaktif oksijen radikalleri oluşturarak (67,68),
- 2) Antioksidan olan glutasyonu ve oluşumunu sağlayan enzimleri inhibe etme (69),
- 3) Lipit peroksidasyon hızını artırma (70),
- 4) Proteinlerin oksidatif modifikasyonu (64),
- 5) Kaspaz sistemi aktivasyonu ile nükleik hasarı (70),
- 6) Kohlear proteinlerin S- nitrozilasyonu yoluyla (71) apoptozisi indüklemesi yoluyla hücre ölümüne neden olabilmektedir.

Reaktif oksijen radikalleri, normal hücre metabolizması sırasında, inflamatuvar olaylar, kemoterapik ajan kullanımı veya radyoterapiye yanıt olarak oluşabilmektedir (72). Oluşan reaktif oksijen radikallerinin hücrelerde oksidatif stresi tetiklemesi nedeni ile hücreler endojen antioksidan sistemi kullanırlar. Bu sistem glutasyon, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz gibi enzimlerden oluşmaktadır. Kohleada da antioksidan sistem glutasyon, glutasyon

peroksidaz, glutatyon reduktaz, süperoksit dismutaz ve katalazdan oluşmaktadır (69). Reaktif oksijen radikalleri, antioksidan sistem ile kontrol altına alınmadığında hücrelerde, membranların aldehidik lipid peroksidasyonu, proteinlerin oksidatif modifikasyonu ve DNA lezyonlarına neden olmaktadır (73).

Cisplatin, kohleada dokularda birikip selüler DNA ile çapraz bağlar oluşturarak birleşir ve antioksidan enzimlerin sentezi de dahil olmak üzere protein sentezini engeller. Sonuçta ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri artışı, artan membran lipid peroksidasyonu ve tüylü hücrelerde, destek hücrelerinde, stria vasküleriste ve işitme sinirinde apopitozisi tetikler (74).

Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz 3 izoformu (NOX3) enziminin kohleadaki oksidasyonda temel rol oynadığı düşünülmektedir. Esas olarak iç kulakta bulunan bu enzimin yapılan çalışmalarda, cisplatin ile aktive olduğunda superoksit radikali ürettiği görülmüştür(75). Oluşan superoksit radikalleri, hidroksil iyonuna dönüşebilmekte, membranlardaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek 4- hidroksinoneal, malonaldehit gibi oldukça toksik aldehitler oluşmaktadır. Bu aldehitler, dış tüylü hücrelerde artmış kalsiyum geçişi ve sonuçta apopitozis ile hücre ölümüne neden olmaktadır(76).

Ek olarak oksijen radikalleri, '*transient vanilloid receptor potential-1*' isimli iyon kanalını da aktive etmektedir. Bu iyon kanalı, korti organında da bulunmaktadır. Aktive olduklarında hücre içine kalsiyum geçişi ile caspaz enzim sistemini aktive ederek hücre ölümüne neden olmaktadırlar (77).

Cisplatin ototoksisine ilişkin mekanizmaların şematik olarak Şekil 3'te gösterilmiştir.

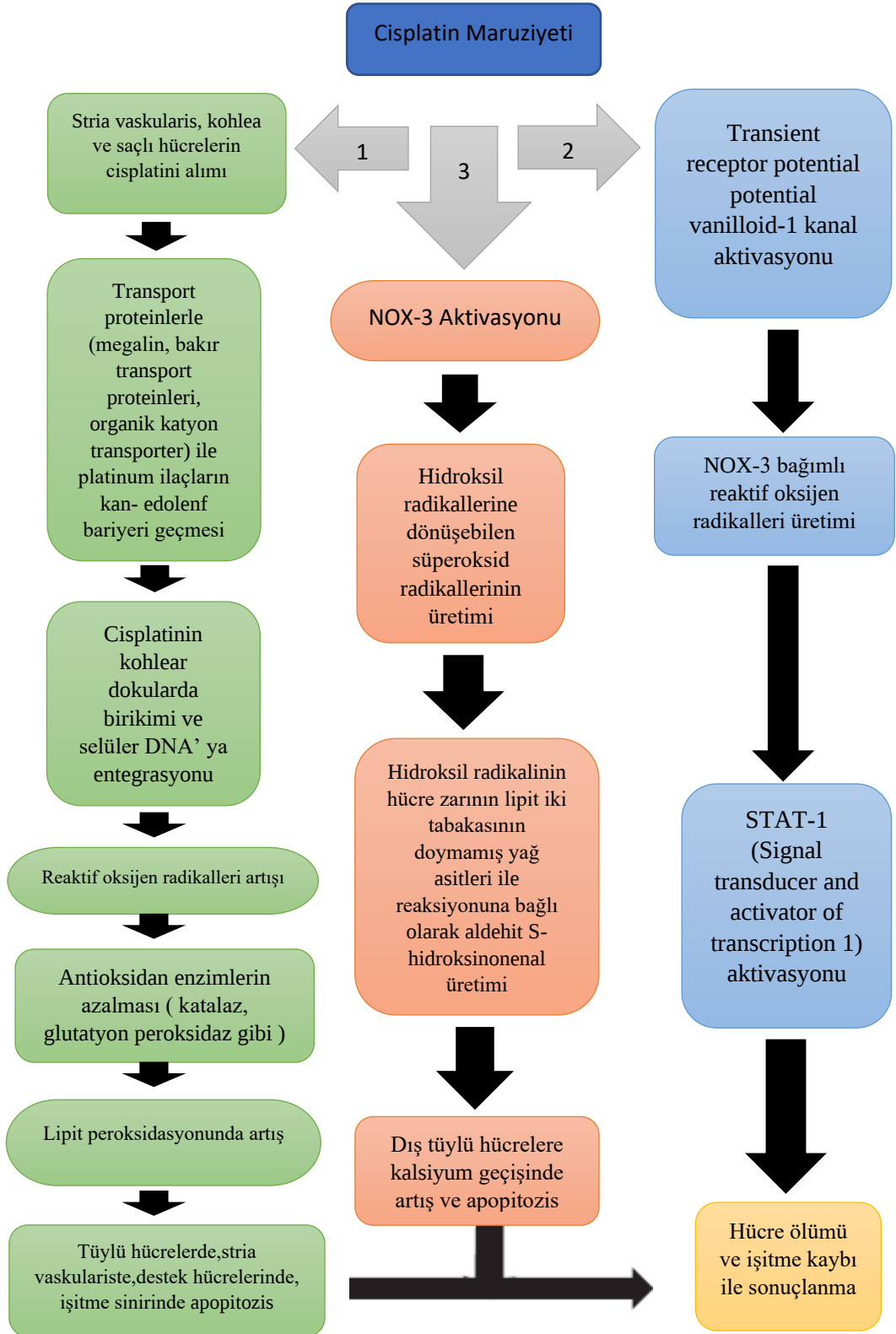
2.3.2.6. Platinum İlişkili Ototoksisitede Risk Faktörleri

Platinum ilişkili ototoksisitede risk faktörleri, küçük hasta yaşı (özellikle 5 yaş altında) (4), erkek cinsiyet, yüksek kümülatif doz, ilacın bolus uygulanması (4), gürültü maruziyeti, eşlik eden ek ototoksik ilaç kullanımı, kranial radyoterapi öyküsüdür (78).

Erkek cinsiyet, bazı çalışmalarda bağımsız risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (79,80). Östrojen reseptörleri, bazı hayvan çalışmalarında stria vasküleriste de gösterilmiştir (81). Bu nedenle erkek cinsiyette daha sık olarak ototoksisite ortaya çıkması östrojenin otoprotektif etkisine bağlanmıştır. Ancak çelişkili sonuçlar edinilmesi nedeni ile bu konuda uzlaşısı bulunmamaktadır (83).

Birçok çalışmada tedavi zamanında 5 yaş altında olan hastalarda işitme riskinin arttığı saptanmıştır. Ayrıca bu hastalarda ototoksisite evresinin de daha fazla olduğu görülmüştür (3,4). Genç yaş grubundaki hastalar, hem kohlear immatüritenin olması hem de serbest plazma platinum konsantrasyonu daha fazla olup eliminasyon hızının da daha büyük yaşlardaki bireylere göre daha düşük saptanması nedeni ile platinum ilişkili ototoksisiteye yatkındır (84).

Cisplatinin, 400 mg/m² ve üzerindeki kümülatif dozlara ulaştığında ototoksisiteye neden olduğu görülmüştür (79). Cisplatinin kümülatif dozundaki her 100 mg/ m² artış ototoksisite riskini % 5- 7 arasında artırmaktadır (68,69). Dean ve arkadaşlarının (85) yaptığı çalışmada 3000 mg/ m² üzerindeki kümülatif dozlarda karboplatin alan hastalarda ototoksisitenin ortaya çıktığı görülürken, Brock ve ark.(7) ile Gratton ve Smyth'in (86) çalışmasında 1600 mg/ m²' den daha az dozlarda hastaların ototoksisite ortaya çıkarmadan ilacı tolere ettiği görülmüştür.



Şekil 3. Cisplatin ototoksitesinin şematik gösterimi (82)

Aminoglikozid grubu antibiyotikler de cisplatin gibi kohleada saçlı hücrelere, stria vaskülarise ve spiral gangliona reaktif oksijen radikallerini artırarak toksik etki göstermektedir (87,88). Bu nedenle birlikte kullanımlarında ototoksisite riskini artırdığı değerlendirilmektedir (80,89). Furosemid gibi loop diüretiklerinin de stria vaskülaristeki kan damarlarındaki hücreler arasındaki “*tight junction*” adı verilen bağlantıları yıkıma uğratarak kan-kohlea bariyerinin geçirgenliğinde geçici bir artışa yol açtığı ve kohleanın cisplatin gibi ototoksik ilaçlara maruziyetini artırdığı düşünülmektedir (90).

Kohleanın özellikle yüksek frekanslardaki sesin işitmesinden sorumlu olan bölgesi radyasyon etkisine karşı duyarlıdır (91). Bu nedenle radyoterapi, platinum alan hastalarda işitme kaybı riskini artıran ana faktörlerdendir. Beyin tümörlerinde, infratemporal ve nazofaringeal tümörlerde kohlear radyasyona maruz kalma meydana gelmektedir (45).

2.3.2.7. Platinum İlişkili Ototoksisitede Genetik

Platinum ilişkili ototoksisitede klinik risk faktörleri, işitme kaybı gelişen bireyler arasındaki değişkenliği tamamen açıklayamamaktadır. Örneğin 360- 480 mg/m² arasındaki kümülatif dozlarda cisplatin alan hastalarda işitme kaybı gelişmeyebilirken yalnızca 120 mg/m² dozlarda ek risk faktörü olmadan işitme kaybı gelişen hastalar olduğu görülmüştür(92). Genetik faktörler ve etnik farklılıkların ototoksisitede etkili olduğu düşünülmektedir (15).

Genetik faktörler değerlendirilirken öncelikle aday gen yaklaşımı benimsenmiştir. Bu yaklaşıma göre seçilen genler, genellikle platinum ototoksisitesi mekanizmalarına göre belirlenmiştir (59).

Bu konuda çalışılan aday gen gruplarından ilki Glutatyon-S-transferaz (GST) enzimlerini kodlayan gen ailesidir. Glutatyon-S-transferazlar, elektrofilik bileşenlerin (ilaçlar, ilaç metabolitleri, karsinojenler, reaktif oksijen radikalleri gibi) glutatyon ile detoksifikasyonunda görev alan faz 2 enzim ailesidir (93). Kohleada da dış tüylü hücrelerde sentezlenmekte ve platinum grubu ilaçların oluşturduğu reaktif oksijen radikallerini metabolize ederek ototoksisiteye karşı koruyucu rol üstlenmektedir (59). GST’lerdeki genetik polimorfizimler değerlendirildiğinde belirli genotipleri olan bireylerin kanser gibi bazı hastalıklara, cisplatin gibi kemoterapotik ilaçların yan etkilerine karşı daha duyarlı hale geldiği gösterilmiştir (94). GST enzim grupları, hücre içerisindeki yerleşim yerlerine göre “mitokondrial, sitozolik ve mikrozomal” olmak üzere 3 ana gruba ayrılmaktadır. İnsanlarda sitozolik GSTler, farklı intron/ekzon yapıları ve kromozomal yerleşimleri ile “Alfa (GSTA), Mu (GSTM), Pi (GSTP), Teta, Omega, Sigma” gibi sınıflara ayrılmıştır. M1, M2, M3, M4, M5 ve M6 olmak üzere 6 farklı GSTM (Mu sınıfı) enzim grubu tanımlanmıştır (95). GSTM, iç ve dış tüylü hücrelerde, GSTP ise esas olarak destek hücrelerinde bulunmaktadır (96).

GSTM3, yapılan bir çalışmada HeLa hücrelerinde en fazla bulunan GST grubunu oluşturduğu ve kanser hücrelerinde cisplatin duyarlılığını etkilediği gösterilmiştir. *GSTM3* geninde, *GSTM3*A* wild-tip allel ve intron 6’da 3 baz çifti delesyonunun varlığı ile *GSTM3*B* varyant genotipleri tanımlanmıştır (97). Bazal hücreli karsinomlu hastalarda *GSTM3*A* wild tip varlığı artmış tümör hücre sayısı saptanmıştır (98). Yine *GSTM3*A* varlığında MS hastalarında daha ciddi seyir gösterilmiştir (99). Bu gözlemlere dayanarak *GSTM3* intron 6’da 3 baz delesyonun

saptanmasının koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir. Mekanizması tam net olmamakla birlikte bu polimorfizmin karsinogen ve toksinlere duyarlılığı değiştirerek koruyucu olduğu değerlendirilmiştir(100). Öte yandan mesane kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, intron 6'da oluşan 3 baz çifti delesyonu (*GSTM3*B alleli*), mesane kanseri tanılı grupta kontrol grubuna göre daha sık bulunmuştur ve *GSTM3*B* allelini taşıyan hastalarda artmış mesane kanser riski saptanmıştır(101). Bir diğer çalışmada da *GSTM3*B* mutant alleli taşıyan bireylerde prostat kanseri riskinin 2 kat arttığı saptanmıştır (102). Benzer sonuçlar larinks (103), kolorektal (104) ve meme kanserli (105) hastalarda yapılan çalışmalarda da edinilmiştir. Mekanizması değerlendirildiğinde ise *GSTM3* geninde intron 6'da 3 baz delesyonu sonucunda transkripsiyon faktör YY1 (Ying Yang 1) için tanıma alanı oluştuğu düşünülmektedir. YY1 transkripsiyon faktörü vasıtasıyla IFN-c (İnterferon-c) gibi stres cevabı ilişkili genler ve sitokinler baskılanarak kanser duyarlılığının arttığı belirtilmiştir. Ayrıca *GSTM3* mutasyonu sonucunda kanserojenlere karşı detoksifikasyon etkinliğinin azalması nedeniyle kanser yatkınlığının gelişebileceğinden bahsedilmektedir(102).

Peters ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada cisplatin ile tedavi edilmiş, 3- 22 yaş arası, 71 hastada işitme kayıpları değerlendirilmiştir. *GSTM1*, *GSTM3*, *GST1* genlerine yönelik polimorfizmler ile platinum ilişkili ototoksisite değerlendirilmiştir. *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* polimorfizmlerinin, işitme kaybına yatkınlık açısından istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı görülmüştür. *GSTM3*B* alleli (rs1799735), işitme kaybı gelişmeyen hastalarda daha fazla bulunmuş ve otoprotektif rolü olduğu saptanmıştır (106). Cisplatin veya karboplatin ile tedavi

edilmiş hastalarda yapılan bir diğer çalışmada ise *GSTM3* (rs1799735) tek gen polimorfizmi değerlendirildiğinde *GSTM3*B* polimorfizminin ototoksosite üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür (107).

Platinum gurubu ilaçlar, hücre membranından pasif difüzyon veya taşıyıcı proteinler vasıtasıyla geçebilmektedir. Bakır transportundan sorumlu transmembran proteini olan, *SLC31A1* (solute carrier family 31, member 1) olarak da bilinen *CTR1* (copper transporter protein 1), hücre içerisine bakır taşınmasından sorumlu olup, cisplatinin hücre içerisine alımında da rol oynamaktadır (108,109). Cisplatinin, *CTR1* proteininin esas substratı olan Cu^{+} ile aynı ekstraselüler domaine bağlandığı düşünülmektedir (110). *CTR1*, farelerde intestinal epitelyal hücrelerde inhibe edildiğinde cisplatinin hücre içi konsantrasyonunun azalarak direnç geliştiği, overyan kanser hücrelerinde aşırı ekspresyonunun da platinum duyarlılığını artırdığı görülmüştür (111,112). Farelerde yapılan bir araştırmada, *CTR1* (*SLC31A1*) ekspresyonu en yoğun olarak kohleada dış tüylü hücrelerde, iç tüylü hücrelerde, spiral ganglionda ve stria vaskulariste olduğu gözlemlenmiştir. *CTR1* substratı olarak bakır sülfat verilerek *CTR1* inhibe edildiğinde farelerin kohlear hücrelerine cisplatin alımının azaldığı ve ototoksiteden korunduğu gözlemlenmiştir (113).

Çin'de 204 küçük hücre dışı akciğer kanserli hastada yapılan bir çalışmada cisplatinin organ toksisitesi ve *SLC31A1* genindeki 20 ayrı tek gen polimorfizmi ilişkisi değerlendirilmiştir. *SLC31A1* rs10981694 polimorfizminin ototoksosite riskini belirgin bir şekilde artırdığı görülmüştür (114). Li ve ark. (115) yaptığı bir çalışmada da platinum direnci saptanan epitelyal over kanserli hastalarda *CTR1*

rs10981694 polimorfizmi araştırılmıştır. *CTR1* rs10981694 polimorfizmi görülen hastalarda karboplatin direnci saptanmıştır. Özellikle rs10981694 G alleli taşıyan hastalarda yüksek oranda karboplatin direnci görülmüştür. Ortaya çıkan bu direnç, platinin hücre içine alınmasındaki bozukluk olarak açıklanmıştır. Ancak bu mutasyonu olan hastalarda yalnızca karboplatin direnci saptanmış olup cisplatine direnç görülmemiştir. *SLC31A1* geni üzerinde çok az çalışma yapılmış olup daha çok hayvan deneylerinden elde edilen veriler mevcuttur ve insan *SLC31A1* geni ile ototoksosite ilişkisini değerlendiren daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

ACYP2 geni, karboksil-fosfat bağlarının hidrolizini katalizyen ve iskelet kasında bulunan Ca/Mg-ATPaz gibi membran pompalarının fosfoenzim ara ürünlerini hidrolize eden sitozolik asilfosfataz enzimini kodlamaktadır (116). Hücre içinde kalsiyum homestazisi üzerine de etki göstermektedir (117). Kohleada, kaslarda ve beyinde eksprese edilmektedir (118). Apoptozis ve hücre farklılaşmasında rol oynamaktadır (119). ATP bağımlı kalsiyum sinyalleri vasıtasıyla kohleada saçlı hücre gelişiminde etkisi olduğu düşünülmekle birlikte, kohleadaki net görevi bilinmemektedir (120). Ayrıca akciğer ve kolon gibi çeşitli kanser türleri (121,122) metabolik hastalıklar, oksaliptatin ilişkili nöropati (123), iskemik inme (124) gibi pek çok hastalıkla ve telomer uzunluğu (125) ile ilişkilendirilmiştir. Platinum ilişkili ototoksistide de aday gen gruplarından birisi *ACYP2* genidir. Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, yeni tanı almış embriyonel beyin tümörlü 238 hasta ve tekrar grubu olarak yeni tanı almış 68 beyin tümörlü hasta, sisplatin temelli kemoterapi sonrası işitme kaybı ve *ACYP2* rs1872328 tek gen polimorfizmi ilişkisi açısından değerlendirilmiştir. Bu

polimorfizm ile işitme kaybı gelişen hastalar arasında ortalama risk oldukça yüksek bulunmuş olup, sisplatin ilişkili kohlear hücre ölümündeki moleküler mekanizmalar ve ototoksisite riskini saptamada aday gen olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca rs1872328 tek gen polimorfizmi değerlendirilirken Afrikalı bireylerde bu genetik değişikliğin sık görüldüğü, Avrupalı bireylerde ototoksisite açısından daha anlamlı olduğu saptanarak, etnik kökenin de göz önünde bulundurulması gerektiğine dikkat çekilmiştir (120). Testis kanseri nedeni ile sisplatin ile tedavi edilmiş 229 erişkin hastada platinum ilişkili işitme kayıpları ile *ACYP2* rs1872328 polimorfizminin ilişkisinin değerlendirildiği bir diğer çalışmada da bu polimorfizmin ototoksisitede önemli bir risk faktörü olduğu saptanmıştır. Yeni çalışmalarla desteklenerek bu genetik değişikliğin, platinum ilişkili ototoksisiteyi önlemeye yönelik strateji geliştirme konusunda farmakogenetik bir marker olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (118).

Cisplatin ototoksisitesine yönelik çalışılan ve ototoksisite ile ilişkili olduğu düşünülen gen grupları ise *ERCC1* (excision repair cross complementation group 1) ve *ERCC2* gibi platin grubu ilaçların oluşturduğu DNA eklentilerinin tamirinde görev alan nükleotid eksizyon tamir mekanizmalarını kodlayan genler; *TPMT* (tiopürin- S- metiltransferaz) ve *COMT* (katekol-O-metiltransferaz) gibi hücre içinde metil grubunun transferinde görev alan enzimleri kodlayan gen gruplarıdır (15,107).

2.3.3. Ototoksisitenin Monitörizasyonu

Platinum grubu ilaç alan hastalarda tedavi boyunca odyolojik takibin yapılmasının 2 önemli amacı vardır. Bunlardan ilki tedavi boyunca platinum

ilaçların doz modifikasyon gerekliliğine karar vermektir. Diğer de işitme kaybı ortaya çıkan hastalarda en erken zamanda önlemleri almak, hastanın ailesini iletişim problemleri konusunda uyarak gerekli desteği sağlamaktır. Ototoksik tedavi alması planlanan hastalarda, tedavi öncesi temel odyolojik tetkikleri yapılması önerilmektedir. Özellikle cisplatin ile tedavi edilecek hastalarda her siklus öncesi işitme testi yapılması gereklidir. Tedavi bitiminde değerlendirmesi de son kürden 4-6 hafta sonrasında yapılmalıdır (6).

Çocuklarda odyolojik monitörizasyon amacıyla kullanılan tetkikler; davranışsal pure tone odyometri (saf ses odyometrisi), konuşma odyometrisi, otoakustik emisyonlar, akustik refleksler, genişletilmiş yüksek frekanslı odyometrilere ve elektrofizyolojik testlerdir.

2.3.3.1. Saf Ses Odyometrisi

Saf ses odyometrisi, çeşitli frekanslarda saf ton sesler verilerek işitme eşiğinin saptanmasını sağlayan yöntemdir. İşitme, her iki kulak için de hem hava yolu hem de kemik yolu ile değerlendirilir. Hava yolu iletimi, kulaklık yardımıyla ses dalgalarının dış kulak yolundan timpanik membran, orta kulak ve işitme siniri yolunu izlemesiyle oluşan işitmenin değerlendirilmesidir. Kemik iletimi ile de mastoid kemik üzerine yerleştirilen bir osilatör yardımıyla, orta kulak atlanarak direkt olarak iç kulaktaki sıvıların ve kohleanın uyarılmasıyla oluşan işitme değerlendirilir. Hava yolu iletimi için 125- 8000 Hz frekans aralığında, kemik yolu iletimi için de 250- 4000 Hz aralığında verilen sinyaller ile değerlendirilmeler yapılmaktadır (32). Testin başlangıç frekansı 1000 Hz' dir. Her ses, hasta onu işitene kadar artan şiddette (desibel olarak ifade edilerek) verilir. 10'ar desibellik

azaltmalarla hastanın duymadığı seviyeye kadar inilir. Daha sonra 5 desibellik artırımlar yapılarak *saf ses eşik değeri* bulunur. Normal saf ses eşik değeri, 20 dB ve altındadır (126). Sağ kulak için hava yolu eşiğı “0” ile, kemik yolu eşiğı “<” ile, sol kulak için hava yolu eşiğı “X” ile, kemik yolu eşiğı “>” ile işaretlenir (28). İşitme eşikleri saptandıktan sonra 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz'lerdeki işitme eşikleri toplanarak ortalamaları alınır. Buna *işitme eşiğı ortalaması* denilmektedir. 5 yaş üzeri hastaların büyük çoğunluğunda saf ses odyometrisi uygulanabilmektedir. Ancak daha küçük çocuklarda bu testler yaş aralığına göre oyun (özellikle 3-5 yaş aralığında) veya görsel güçlendirme (9- 36 ay aralığında) teknikleri kullanılarak adapte edilebilmektedir (127).

Saf ses odyometrisi ile saptanabilen işitme kayıpları 3 çeşittir:

- İletim tipi işitme kaybı
- Sensörinöral tip işitme kaybı
- Mikst tip işitme kaybı

İletim tipi işitme kayıplarında, ses iç kulaktaki yapılara iletilememektedir. Dış kulak yolunda serumen, perfore kulak zarı varlığı, otoskleroz ve orta kulakta efüzyon gibi nedenlere bağılı olarak ortaya çıkmaktadır (32). İletim tipi işitme kaybı olan hastalarda, kemik yolu işitme eşikleri normal sınırlardayken, hava yolu işitme eşikleri şiddet olarak daha üzerindedir.

Sensörinöral tip işitme kaybı, sesin iç kulakta ve nöral yapılarda iletimi sırasında ortaya çıkan sorunlardan kaynaklanmaktadır. Bu hastalarda, hava yolu eşikleri normalin dışındadır ve hava yolu ile kemik yolu eşikleri aynıdır (28).

Mikst tip işitme kayıplarında sorun, hem iç kulak veya işitme sinirinde hem de sesin hava yolu ile taşınan kısımlarında, yani DKY'da, timpanik membranda veya orta kulak yapılarındadır. Hem hava yolu işitme eşikleri hem de kemik yolu işitme eşikleri normalin altındadır ve hava kemik aralığı mevcuttur (28).

2.3.3.2. Konuşma Odyometrisi

Konuşma odyometrisi, çocuğun işitsel fonksiyonlarını gözlemlemek ve kaybın derecesi hakkında bilgi edinmek amacıyla saf ses odyometriye yardımcı, klinik odyolojik testlerin önemli bir kısmını oluşturur. Çocuklarda konuşma uyararı ile yapılan bu testlerde yapılan değerlendirmeler şunlardır:

- ❖ Konuşmayı algılama eşiği
- ❖ Konuşmayı fark etme eşiği
- ❖ Konuşmayı ayırt etme testleri

Konuşmayı algılama eşiği, kişiye sunulan kelimelerin %50' sini doğru olarak tekrar edebildiği en düşük şiddet seviyesidir. Hastanın, konuşma sesini tam olarak anlayabildiği en düşük işitme eşiği saptanmaktadır. 5 yaş ve üzerindeki çocuklarda yaş gruplarına göre geliştirilmiş kelime listeleriyle yapılmaktadır. Daha küçük çocuklarda resim işaret etme gibi şekillerde yapılmalıdır.

Konuşmayı fark etme eşiği, kişinin uyararı süresinin %50'sinde sesi fark ettiği en düşük şiddet seviyesidir. Hastanın ne söylendiğini anlamaması ancak konuşma sesinin geldiğini fark etmesi, konuşmayı algılama eşiği ile arasındaki temel farklılıktır. Bebeklerde ya da çok düşük konuşmayı ayırt etme skoru olan, işitme

becerisi çok kötü olan bireylerde kullanılır. Sonuçlar mutlaka saf ton sesler ile değerlendirilmelidir.

Konuşmayı ayırt etme testleri, bireyin farklı dinleme koşullarında konuşmayı anlama ve kelimeleri ayırt etme becerisini değerlendirmektedir. 25 ya da 50 kelimelik listeler kullanılmakta ve her kelime için belirlenmiş puana göre çocuğun skoru belirlenmektedir. Hastanın en iyi işitebildiği ses seviyesinde uygulanmalıdır. Ancak amaç en yüksek skorunu elde etmektir. Bu testle birlikte çocuğun hem konuşma gelişimi ve dil algısı değerlendirilirken işitme kaybı olanlarda tedavi veya rehabilitasyon takiplerini de sağlamaktadır (128).

2.3.3.3. Otoakustik Emisyonlar

Otoakustik emisyon, dış tüylü hücre fonksiyonlarını değerlendiren invaziv olmayan, objektif bir odyolojik testtir. Dış tüylü hücrelere ulaşan ses ile oluşan titreşimler kohleadaki sıvılara yayılarak orta kulak ve dış kulak yoluna doğru yayılım gösterir. Bu elektro fizyolojik cevap, dış kulak yoluna yerleştirilen bir prob yardımıyla kaydedilebilmektedir. Bu ölçümlere oto akustik emisyon denir. 30 dB üzerindeki kayıplarda otoakustik emisyon alınmamaktadır. Yenidoğan tarama programlarında da kullanılan bu yöntemin çeşitleri şunlardır:

- ✓ Spontan otoakustik emisyon (SOAE)
- ✓ Transient otoakustik emisyon (TOAE)
- ✓ Distortion product otoakustik emisyon (DPOAE)

Spontan otoakustik emisyonlarda ölçümler herhangi bir uyarı verilmeden yapılmaktadır. Ancak işitmesi normal olan hastaların % 50' sinde de saptanamayacağından, alınamaması kesin patoloji varlığını göstermemektedir (32).

Transient otoakustik emisyon, iç kulağa gönderilen kısa akustik uyaranlara karşı kohleanın oluşturduğu yanıttır. 30 dB' den daha fazla işitme kayıpları olan kadar olan işitme kayıplarında OAE alınamadığı için işitme tarama programlarında kullanılmaktadır. Ancak işitme frekans eşiklerinin tayini yapılamamaktadır.

Distortion- product otoakustik emisyon, aynı anda iki frekans özelliğine sahip işitsel stimulusa alınan cevabın değerlendirilmesidir. İç kulağın iki ayrı frekansta ses tonu ile uyarılması, iç kulakta yayılan bu iki dalganın birbiri ile etkileşmesine ve iki dalganın girişim gösterdiği ses tonlarında, daha düşük amplitüdlü bir cevabın oluşmasına neden olur. İki ses tonu ile kohleanın uyarılması ile bu iki ses tonunun kombinasyonlarından oluşan frekanslarda seslerin algılanmasını sağlar. Dış kulak yoluna doğru yayılan ve mikrofonlar yardımıyla kaydedilen bu sesler, gönderilen seslerin girişim ürünüdür ve '*distortion product*' olarak adlandırılır. DPOAE ile belirli frekans bölgelerinin taranmasına imkân sağlamaktadır. Bu nedenle ototoksik ilaç kullanımında, ilk olarak yüksek frekanslarda kaybın gelişmesi nedeni ile hastanın takibinde işitme monitörizasyonu olarak kullanılabilir. İnvaziv olmaması, hastanın aktif katılımını gerektirmemesi nedeni testin avantajlarıdır (28,32).

2.3.3.4. İşitsel Beyin Sapı Yanıtı (Auditory Brainstem Response- ABR)

ABR, işitme sinirinin başlangıcından ponsun en üst bölümüne kadar olan anatomik bölgede, işitme yollarındaki elektriksel akımın senkronize aktivitesinin

monitörize edilmesi esasına dayanmaktadır. Klik uyaran ve tone-burst uyaranlar gibi stimuluslar kullanılarak yapılabilmektedir. Klik uyaran ile kohleadaki, 2000-4000 Hz arasındaki frekans bölgeleri aynı anda uyarılır. Bu nedenle frekansa özgü bilgi edinilmez. Tone-burst uyaran ile frekansa özgü uyarm sağlanarak kayıt yapılabilmektedir.

ABR de uyarımdan sonraki yaklaşık ilk 10 ile 12 msn'de görülen uzak saha potansiyelleri değerlendirilir. Bu uyarm 7 dalga pikinden oluşmaktadır:

- 1.dalga akustik sinir distal kısmı,
- 2.dalga akustik sinir proksimal kısmı- kohlear nükleuslar ,
- 3. dalga superior olivar kompleks,
- 4. dalga lateral lemniskus,
- 5. dalga inferior kollikulus,
- 6. dalga talamusta korpus genikulatum laterale,
- 7. dalga talamokortikal bölgeden kaynaklanmaktadır.

Bu dalgaların yorumu ise dalgaların latensi ve amplitüdüne göre yapılmaktadır.

ABR, standart odyolojik testlerin yapılmasının mümkün olmadığı yaştaki çocuklarda, koopere olamayan hastalar, nörolojik hastalarda lezyon yeri tayininde, kohlear ve retrokohlear işitme kayıpları ayırımında kullanılabilmektedir (28,32).

2.3.4. Platinum İlişkili Ototoksisitede Evreleme

Pediyatrik onkoloji hastalarında platinum ilişkili işitme kayıplarında çok sayıda ototoksisite kriterleri ve evreleme sistemleri geliştirilmiştir. Ancak klinik kullanımda bu kriterler güvenilir, her yaştaki çocuk için uygulanabilir, objektif ve

kolay anlaşılabilir olmalıdır. Bu konuda en sık kullanılan kriterler ve evreleme sistemleri;

- Brock evreleme sistemi,
- Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) evrelemesi
- American Speech-Hearing-Language Association (ASHA) kriterleri
- World Health Organization (WHO) kriterleri
- Pediatric Oncology Group (POG) kriterleri
- Muenster sınıflaması
- Chang evrelemesidir.

Brock evreleme sistemi (Tablo 2), özellikle platinum ilişkili ototoksisiteyi değerlendirmek amacıyla geliştirilmiştir. Uygulaması kolay ve pratiktir. Odyogram sonrasında hemen evreleme yapılarak klinik kararlar vermede etkindir. 40 desibel işitme eşik değeri olarak kabul edilerek evreleme gerçekleştirilir. Ancak 40 dB altındaki işitme kayıpları saptanamamaktadır (9,45).

Tablo 2. Brock Evrelemesi

Kriter	Evre
Tüm frekanslarda <40 dB işitme eşiği	0
8000 Hz ve üzeri frekanslarda ≥ 40 dB işitme eşiği	1
4000 Hz ve üzeri frekanslarda ≥ 40 dB işitme eşiği	2
2000 Hz ve üzeri frekanslarda ≥ 40 dB işitme eşiği	3
1000 Hz ve üzeri frekanslarda ≥ 40 dB işitme eşiği	4

ASHA kriterleri (Tablo 3), ototoksik tedavi süresince ve bitiminde, tedavi öncesi yapılan odyogramlarla karşılaştırarak işitme kayıplarını değerlendirmektedir. Bu kriterler 8000 Hz ve üzeri frekanslar için kullanılmaktadır. Tedavi öncesi tam bir temel odyolojik değerlendirme gerektirmesi bu evreleme sisteminin kısıtlayıcı faktörlerindendir (45).

Tablo 3. ASHA Kriterleri

Kriter	Evre
En az bir frekansta 20 dB ya da daha fazla kayıp olması	A
Birbirini takip eden 2 frekansta 10 dB ve daha fazla kayıp olması	B
Ardışık 3 frekansta daha önce elde edilen cevabın yokluğu	C

WHO kriterleri (Tablo 4), daha iyi işiten kulağın 0.5, 1, 2 ve 4 kHz'deki eşik değerlerinin ortalamasına göre evrelemektedir. Bu kriterlerin kısıtlılığı, 4 kHz üzerindeki frekansları değerlendirememesidir (9).

Tablo 4. WHO kriterleri

Evre	Ortalama eşik değer (iyi kulakta)	Performans
0	25 dB veya daha iyi	İşitme kaybı yok veya çok hafif kayıp var, fısıltıları duyabilir.
1	26- 40 dB	Bir metrede normal konuşma seslerini duyabilir, kelimeleri tekrar edebilir.
2	41- 60 dB	Bir metrede yüksek sesleri duyabilir, kelimeleri tekrar edebilir.
3	61- 80 dB	Daha iyi işiten kulağa bağırıldığında bazı sesleri duyabilir
4	≥ 81 dB	Bağırıldığında bile kelimeleri anlayamaz ve tekrar edemez

Amerikan Ulusal Kanseri Enstitüsü (NCI) tarafından 2009 yılında yayınlanan ve 2010 yılında revize edilen “Common Terminology Criteria for Adverse Events – CTCAE Version 4.0” a göre ototoksisite evrelendirmesi (Tablo 5), bütün kemoterapi ilişkili işitme kayıplarında kullanılabilmektedir. Evrelemenin yapılabilmesi için tedavi öncesi ve tedavi süresince periyodik olarak hastaların işitme testleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir (45).

Tablo 5. NCI- CTCAE evrelemesi

Evre	Kriter
1	En az 1 kulakta 8000 Hz' de işitme eşliğinde 20 desibelden fazla artış
2	En az 1 kulakta 4000 Hz frekansta, işitme eşliğinde 20 dB' den fazla artış
3	Tedavi gerektirecek düzeyde işitme kaybı; en az 1 kulakta, 3000 Hz frekansta işitme eşliğinde 20 dB üzerinde artış
4	Kohlear implant için endikasyon varlığı

'The New International Society of Pediatric Oncology (SIOP) Boston Ototoxicity Grading Scale' olarak adlandırılan evreleme sistemi (Tablo 6), 2010 yılında önceki tüm evreleme sistemlerinin kısıtlılıkları göz önüne alınarak, pratik ölçümlerle uygulaması kolay bir sistem olması amacıyla geliştirilmiştir (49).

Tablo 6. SIOP- Boston ototoksisite evreleme skalası

Sensörinöral işitme kaybı eşikleri	Evre
Tüm frekanslarda 20 dB altında işitme kaybı	0
4000 Hz üzerinde (6000 veya 8000 Hz) >20 dB işitme kaybı	1
4000 Hz ve üzerinde >20 dB kayıp	2
2000 veya 3000 Hz ve üzerinde >20 dB kayıp	3
2000 Hz ve üzerinde > 40 dB işitme kaybı	4

Chang ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı çalışmada, Brock evreleme sisteminin kısıtlılıkları değerlendirilmiş olup kriterleri daha hassas hale getirmişlerdir (Tablo 7). İşitme kaybında ses şiddetinin değeri 40 dB'den 20 dB'e azaltılmış olup değerlendirilen frekanslar 12000 Hz' e artırılmıştır (9).

Tablo 7. Chang Evrelemesi

Evre	Kriter
0	1000, 2000 ve 4000 Hz'de işitme eşiğinin 20 dB veya altında olması
1a	6-12 kHz arasındaki herhangi bir frekansta işitme eşiğinin 40 dB veya üzerinde olması
1b	4 kHz frekansta işitme eşiği 40 dB altında ancak 20 dB üzerinde olması
2a	4000 Hz ve üzerinde işitme eşiğinin 40 dB ve üzerinde olması
2b	4000 Hz altındaki frekanslarda 20 dB üzerinde, 40 dB altında
3	2000 veya 3000 Hz ve üzerinde 40 dB ve üstünde işitme eşiği
4	1000 Hz ve üzerinde 40 dB üstünde işitme

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Şekli

Bu araştırma, kanser tanısı alarak cisplatin ve/ veya karboplatin ile tedavileri almış, remisyonda ya da kür olarak değerlendirilen hastalarda ototoksisiteyi belirlemek ve ototoksisite riskini artıran genetik değişiklikleri saptamak amacıyla yapılan tanımlayıcı- kesitsel bir çalışmadır.

3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Zaman

Bu çalışma, Ocak 2019- Ekim 2019 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji bilim dalında malign tümör tanısı alarak cisplatin ve/ veya karboplatin ile tedavi edilerek remisyonda ya da kür olarak değerlendirilen hastalar dahil edilerek yapılmıştır. Hastalar ek vizite gerek kalmaksızın rutin poliklinik kontrolleri sırasında değerlendirilerek işitme testleri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İşitme, Konuşma, Ses ve Denge Bozuklukları Merkezi'nde uzman odyologlar tarafından yapılmıştır.

Kontrol grubu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine çeşitli yakınmalar ile başvuran ve işitme sorunu olmayan hastalar ile oluşturulmuştur.

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kan örneklerinde genetik çalışma ve analizler Myogen Laboratuar ve Sağlık Hizmetlerinde yapılmıştır.

3.3. Vaka- Kontrol Grubu Seçimi ve Çalışma Yöntemi

Vaka grubuna işitme testlerine yeterli kooperasyonu sağlaması amacıyla 5 yaş üstü hastalar dahil edilmiştir. Çocuk onkoloji biriminde tedavi alan hastalar 25

yaşına kadar takibe devam edilebildiği için 25 yaş üst yaş sınırı olarak belirlenmiştir. Remisyonda ya da kür olarak değerlendirilmiş 34 hasta çalışmaya alınmıştır. Tedavi öncesi bilinen işitme kaybı olan, intrakranial kitle ile takip edilen veya intrakranial kanama, cerrahi veya ciddi kafa travması öyküsü olan, baş-boyuna yönelik radyoterapi alma öyküsü olan ve ek kronik hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca çalışmaya katılmaya gönüllü olmayan hastalar da çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastalar ve kontrol grubundaki tüm olgulara ve anne babalarına ayrıntılı olarak çalışmanın amacı ve sorumlulukları, sorumlu araştırmacı tarafından anlatılarak bilgilendirilmiş gönüllü onam formları imzalatılmıştır (Ek-1, Ek-2, Ek-3, Ek-4). Ayrıca genetik materyalde çalışma yapılacak olması nedeni ile genetik olur formları da imzalatılmıştır (Ek-5 ve Ek-6).

Rutin kontrollerinin yapılması amacıyla polikliniğe başvuran hastalara, otoskopik muayene ile değerlendirildikten sonra patoloji saptanmaması halinde, uzman odyologlar tarafından Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İşitme, Konuşma, Ses ve Denge Bozuklukları Merkezi'nde saf ses odyometrisi yapılmıştır. Saf ses odyometrisi, rutin olarak kullanılmakta olan ve düzenli kalibrasyonu yapılan "İnteracoustics AC40" cihazı kullanılarak ses izolasyonu tam olan bir odada uygulanmıştır. Hastaların hem sağ hem sol kulak için 8000 Hz frekansa kadar işitme fonksiyonları değerlendirilerek sonuçlar Brock evreleme sistemine göre 5 evreye ayrılmıştır. Brock evre 0 olan hastalar '*işitmesi normal*', evre 1,2,3,4 olan hastalar ise '*işitme kaybı var*' olarak kabul edilmiştir.

Dosya taraması yapılarak tüm hastaların yaş, cinsiyet, tanı, tanı aldığı yaş, hangi platinum grubu ilacı aldığı ve kümülatif dozu, son platinum dozundan sonra geçen süre, tedavi öncesi ve tedavi bitimindeki GFR ve renal fonksiyonları, aminoglikozid alıp almadığı, furosemid alıp almadığı ve Brock evresi kaydedilmiştir.

Kontrol grubu ise Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Polikliniğine başvuran, bilinen akut veya kronik hastalığı olmayan 0-18 yaş arası, onamları alınmış 100 sağlıklı çocuktan oluşmaktadır.

Çalışmaya alınan hasta bireylerde ve sağlıklı çocuklarda, rutin tetkikleri sırasında kan alınması planlanırken, *GSTM3* (rs36120609), *SLC31A1* (rs10981694), *ACYP2* (rs1872328) gen polimorfizmleri çalışılmak üzere ek olarak EDTA'lı tüpe 4 ml kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri +4 °C sıcaklıkta saklanarak Myogen Laboratuar ve Sağlık Hizmetlerine iletilmiştir.

3.4. Moleküler Analiz

3.4.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için aşağıda markası ve adı verilen materyaller kullanılmıştır (Tablo 8).

Tablo 8. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri

Kullanılan Kitin Markası	Kitin Adı
GeneAll	Exgene Blood SV
GeneAll	RNase A (20 mg/ml)

DNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

- I. 1.5 ml tüp içerisine 20 uL Proteinase K eklenerek üzerine 250 ul tam kan eklenmiştir.
- II. Optional olarak 20 ul RNase A eklendikten sonra pipetaj yapılmıştır.
- III. Oda sıcaklığında 2 dk bekletildikten sonra 200ul BL Buffer (Blood Lysis Buffer) eklenmiştir. 56°C 10 dk inkübe edilmiştir.
- IV. 200 ul absolute ethanol eklenerek tüm karışım kolona aktarılıarak 10,000 rpmde 2 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası kolon temiz bir toplama tüpünün içine yerleştirilmiştir.
- V. 600ul BW Buffer (Column Wash Buffer B) eklenerek 10,000 rpm de 2 dk santrifüj edilip collection tüp yenilenmiştir.
- VI. 700ul TW Buffer (Column Wash Buffer T) eklenerek 10,000 rpm de 2 dk santrifüj edilmiştir.
- VII. Reziduel yıkama tamponunu uzaklaştırmak amacıyla full- speed 14,000 rpm de 2 dk santrifüj edildikten sonra kolon, temiz ve hasta adı- soyadı ile etiketlenmiş tüp içerisine alınmıştır.
- VIII. Ardından 60ul AE Buffer (10mM Tris-HCl, pH 9.0, 0.5mM EDTA içerikli Elution Buffer) eklenerek 14.000 rpm, 2 dk santrifüj yapılmıştır. Bu tampon sayesinde kolona bağlanmış olan DNA' nın kolondan ayrılarak alttaki tüpte toplanması sağlanmıştır.

3.4.2. Klasik PCR (Polymerase Chain Reaction) Yöntemi

DNA izolasyonu sonrasında PCR aşamasına geçilmiştir. PCR reaksiyonu için kullanılan kitin markası, adı ve katalog numarası Tablo 9'da belirtilmiştir.

Tablo 9. PCR Reaksiyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri

Kitin Markası	Kitin Adı	Katalog No
WizPure™	PCR 2X Master	W1401

Kullanılan PCR 2X Master kiti, Taq DNA Polimeraz, MgCl₂, deoksinikleozit trifosfat ve stabilizatör içermektedir.

PCR için kullanılan "mastermix" bilgileri Tablo 10'da belirtilmiştir.

Tablo 10. PCR Reaksiyonu İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri

MasterMix Bileşenleri	Hacim
PCR 2X Master	10 µl
Forward Primer	0.5 µl
Reverse Primer	0.5 µl
Template DNA	2 µl
Su	7 µl
TOPLAM	20 µl

SLC31A1 (rs10981694), *ACYP2* (rs1872328) ve *GSTM3* (rs36120609) tek gen polimorfizmleri için kullanılan primer dizileri Tablo 11, 12 ve 13'te yer almaktadır:

Tablo 11. *SLC31A1* (rs10981694) polimorfizmi için kullanılan primer dizinleri

rs10981694 (T>G)	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC %	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AAAGCAGACTTAGGGCCATT	Plus	20	1036	1055	57.09	45.00	4.00	2.00
Reverse primer	TGTTAGGTGTGGGAGACAAC	Minus	20	1518	1499	57.08	50.00	3.00	1.00
Product length	483								
KESİM ENZİMİ: NlaIII									

Tablo 12. ACYP2 (rs1872328) polimorfizmi için kullanılan primer dizinleri

rs1872328 (G>A)	Sequence (5'>3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AGAGCCTCATTCCATCCCAT	Plus	20	35	54	58.17	50.00	5.00	2.00
Reverse primer	TAACTCACGGTTCATGTGGC	Minus	20	583	564	58.20	50.00	4.00	2.00
Product length	549								
KESİM ENZİMİ: BtsIMutI									

Tablo 13. GSTM3 (rs36120609) polimorfizmi için kullanılan primer dizinleri

rs36120609 (CTC/del)	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC %	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GAAAGCCTTCAGGTTTGGGA	Plus	20	494	513	58.00	50.00	6.00	0.00
Reverse primer	GCCTCAGTACTTGAAGAGC	Minus	20	762	743	57.98	55.00	6.00	2.00
Product length	269								
KESİM ENZİMİ: BciVI									

Hazırlanan "mastermix" ile PCR reaksiyonu Applied Biosystems™ ProFlex termalcycler cihazında gerçekleştirilmiş olup reaksiyon koşulları Tablo 14'te belirtilmiştir.

Tablo 14. PCR Reaksiyonu Sıcaklık Koşulları

	Temp (°C)	Time	Cycle
Initial Denaturation	95	5 min.	1
Denature (DNA zincirlerinin açılması)	95	30 sec.	30
Anneal (Primerlerin DNA zincirine yapışması)	58	30 sec.	
Extend (Primerlerin uzaması)	72	30 sec.	
Final Extension (Son zincir uzaması)	72	5 min.	1

Elde edilen PCR ürünleri RFLP aşamasına kadar -80°C sıcaklıkta dondurulmuştur.

3.4.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism) Yöntemi

PCR ürünleri elde edildikten sonra RFLP aşamasına geçilmiştir. RFLP için kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimlerinin markası, adı ve katalog numarası Tablo 15'te belirtilmiştir:

Tablo 15. RFLP İçin Kullanılan Kesim Enzimleri Bilgileri

Markası	Adı	Katalog No
New England Bioloabs	NlaIII	R0125S
New England Bioloabs	BtsIMutI	R0664S
New England Bioloabs	BciVI	R0596S

NlaIII restriksiyon endonükleaz enzimi, *SLC31A1* geni rs10981694 polimorfizmi için kullanılmıştır. BtsIMutI enzimi, *ACYP2* geni rs1872328 (G>A) polimorfizmi için, BciVI ise *GSTM3* rs36120609 tek gen polimorfizmi için kullanılmıştır.

RFLP reaksiyonu için kullanılan "Mastermix" bilgileri Tablo 16'da belirtilmiştir.

Tablo 16. RFLP için Kullanılan MasterMix Bilgileri

MasterMix Bileşenleri	Hacim
Restriction Enzyme	1 µl
DNA (PCR ürünleri)	4 µl
10X NE Buffer	5 µl
Su	40 µl
Toplam	50 µl

Her üç gen grubu için Mastermix hazırlandıktan sonra RFLP reaksiyonuna geçilmiştir. RFLP için kullanılan reaksiyon koşulları Tablo 17’de belirtilmiştir. RFLP reaksiyonu Applied Biosystems™ ProFlex termalcycler cihazında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 17. RFLP Reaksiyon Koşulları

PCR Step	Temp (°C)	Time	Cycle
Incubation 1	37	Overnight	1
Incubation 2	65	20 min.	1
Incubation 3	4	-	1

RFLP reaksiyonu tamamlandıktan sonra ürünler %2 agaroz jelde 110V, 45 dk. koşullarında jel elektroforezde yürütülmüştür.

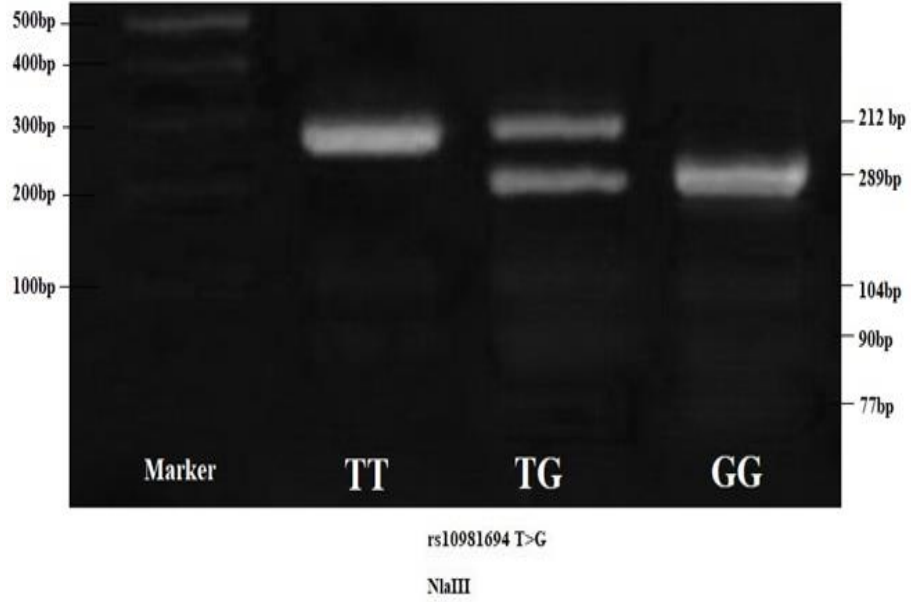
3.4.4. RFLP Sonuçlarını Yorumlama

3.4.4.1. *SLC31A1* rs10981694 (T>G) polimorfizmi için yorumlama

SLC31A1 geni için, PCR sonunda elde edilen 483bp büyüklüğündeki PCR ürününün *Nla*III enzimiyle kesim işlemi bittikten sonra 289bp/104bp/90bp bantları gözleendiğinde TT genotipi, 289bp/212bp/104bp/90bp/77bp bantları gözleendiğinde TG genotipi ve 212bp/104bp/90bp /77bp bantları gözleendiğinde GG genotipi olarak değerlendirilmiştir (Tablo 18). *SLC31A1* rs10981694 (T>G) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü Şekil 4’te verilmiştir.

Tablo 18. *SLC31A1* rs10981694 (T>G) polimorfizmi için marker bilgileri

GEN: <i>SLC31A1</i>
Forward primer: AAAGCAGACTTAGGGCCATT
Reverse primer: TGTTAGGTGTGGGAGACAAC
PCR ÜRÜNÜ: 483bp (base pair)
KESİM ENZİMİ: New England Biolabs <i>Nla</i> III
TT Genotip: 289bp/104bp/90bp
TG Genotip: 289bp/212bp/104bp/90bp/77bp
GG Genotip: 212bp/104bp/90bp /77bp



Şekil 4. *SLC31A1* rs10981694 (T>G) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü

3.4.4.2. *ACYP2* rs1872328 (G>A) polimorfizmi için yorumlama

ACYP2 geni için, PCR sonunda elde edilen 549bp büyüklüğündeki PCR ürününün BtsIMutI enzimiyle kesim işlemi bittikten sonra 182bp/157bp/137bp/41bp/32bp bantları gözleendiğinde GG genotipi, 182bp/178bp/157bp/137bp/41bp/32bp bantları gözleendiğinde GA genotipi olarak değerlendirilmiştir. AA genotipi gözlenmemiştir (Tablo 19). *ACYP2* rs1872328 (G>A) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü Şekil 5'te verilmiştir.

Tablo 19: ACYP2 rs1872328 (G>A) polimorfizmi için marker bilgileri

Gen: <i>ACYP2</i>
Forward primer: AGAGCCTCATTCCATCCCAT
Reverse primer: TAACTCACGGTTCATGTGGC
PCR Ürünü: 549bp
Kesim Enzimi: New England Biolabs BtsIMutI
GG Genotip: 182bp/157bp/137bp/41bp/32bp
GA Genotip: 182bp/178bp/157bp/137bp/41bp/32bp
AA Genotip: Gözlenmedi.



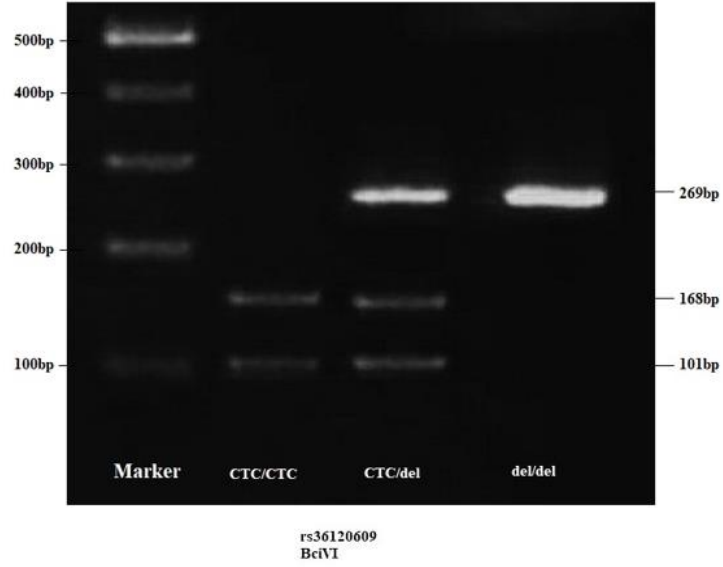
Şekil 5. ACYP2 rs1872328 (G>A) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü

3.4.4.3. *GSTM3* rs36120609 (CTC>del) polimorfizmi için yorumlama

GSTM3 geni için, PCR sonunda elde edilen 269bp büyüklüğündeki PCR ürününün BciVI enzimiyle kesim işlemi bittikten sonra 168bp/101bp bantları gözlemlendiğinde CTC/CTC genotipi, 269bp/168bp/101bp bantları gözlemlendiğinde CTC/del genotipi ve 269bp bandı gözlemlendiğinde del/del genotipi olarak değerlendirilmiştir (Tablo 20). *GSTM3* rs36120609 (CTC>del) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü Şekil 6'da verilmiştir.

Tablo 20. *GSTM3* rs36120609 (CTC>del) polimorfizmi için marker bilgileri

GEN: <i>GSTM3</i>
Forward primer: GAAAGCCTTCAGGTTTGGGA
Reverse primer: GCCTCAGTACTTGGAAGAGC
PCR ürünü: 269bp
Kesim enzimi: New England Biolabs BciVI
CTC/CTC Genotip: 168bp/101bp
CTC/del Genotip: 269bp/168bp/101bp
del/del Genotip: 269bp



Şekil 6. *GSTM3* rs36120609 (CTC>del) tek gen polimorfizmi jel görüntüsü

3.5. İstatistiksel Yöntemler

Araştırma verilerinin istatistiksel analizi için SPSS 22.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. İstatistiksel analiz olarak tanımlayıcı bulgular kısmında kategorik değişkenler sayı, yüzde verilerek, sürekli değişkenler ise normal dağılan veriler için ortalama±standart sapma ve normal dağılmayan veriler için ortanca (min, maks) ile sunulmuştur. Kategorik değişkenler için gruplar arasında sıklık bakımından fark olup olmadığı ise ki-kare testi (Fisher'ın kesin testi) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uymayan veriler non parametrik test olan Mann Whitney- U testi ile

değerlendirilmiştir. İki değişken arasındaki ilişkinin yönünü değerlendirmek için Spearman korelasyonu kullanılmıştır. Her bir değişken için %95 güven aralığı ve $p < 0,05$ düzeyi istatistiksel anlamlılık olarak kabul edilmiştir.

Genetik polimorfizmlerin değerlendirilmesinde, hastalara ve kontrol grubuna ait genotip ve alellerin frekansın hesaplanmasında Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) ile birlikte ki-kare testi kullanılmıştır. Buna ek olarak, Fisher’s exact testi uygulanarak hasta ve kontrol grubu arasındaki değişiklikleri karşılaştırılmış ve risk faktörü değerlendirmesi için odds ratio (OR) ve 95% confidence interval (CI) kullanılmıştır. Tüm p değerleri iki taraflı ve confidence interval (CI) 95% olarak alınmış ve p değeri $< 0,05$ olanlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.6. Araştırmanın Etik Yönü

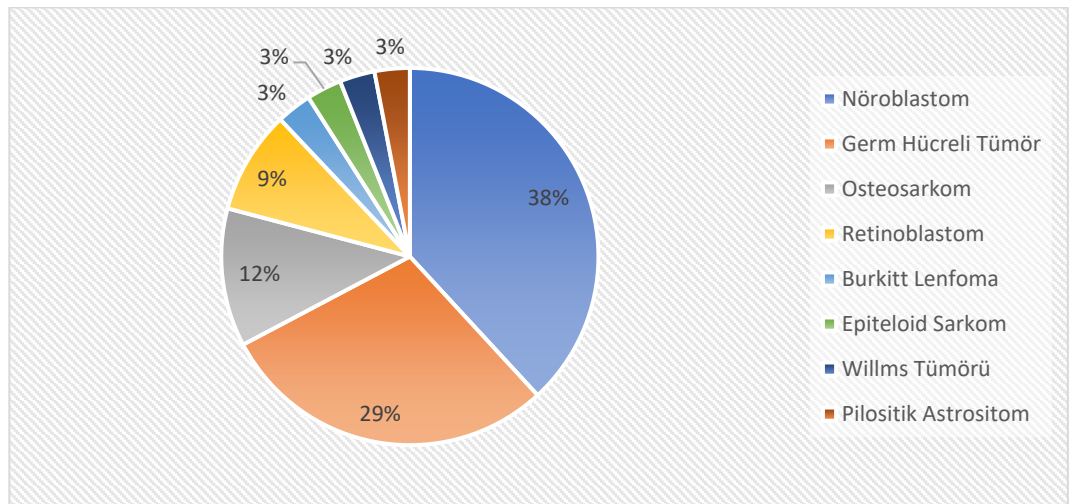
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji bilim dalında yürütülmüş olan araştırma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 07.10.2019 tarihli ve 39 no’lu çalışma izni yazılı olarak alınmıştır.

Çalışmamızın bütçesi, Myogen Laboratuar ve Sağlık Hiz. Tarafından karşılanmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya, Ocak 2019- Ekim 2019 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji bilim dalında malign tümör tanısı alarak cisplatin ve/veya karboplatin ile tedavi edilerek remisyonda ya da kür olarak değerlendirilen 34 hasta ve bilinen akut veya kronik herhangi bir hastalığı olmayan 100 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir. Baş-boyun radyoterapisi alan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya katılan hastaların, 18' i (%53) kız, 16' sı (%47) erkeklerden oluşmaktadır. Hastaların yaş ortalaması 13 ± 4.6 yaş (yıl) olarak saptanmıştır. Kontrol grubundaki bireylerin ise 50'si kız, 50'si erkeklerden oluşmaktadır. Yaş ortalaması ise $11 \pm 4,00$ yaş (yıl) olarak hesaplanmıştır.

Hastalar tanılarına göre değerlendirildiğinde; 13'ü (%38) nöroblastom, 10'u (%29) germ hücreli tümör, 4'ü (%11,8) osteosarkom, 3'ü(%8,8) retinoblastom, 1 hasta (%3) Burkitt lenfoma, 1' i (%3) epiteloid sarkom, 1'i (%3) Wilms tümörü, 1 i de (%3) pilositik astrositom tanısı ile takip edilmekteydi (Şekil 7).

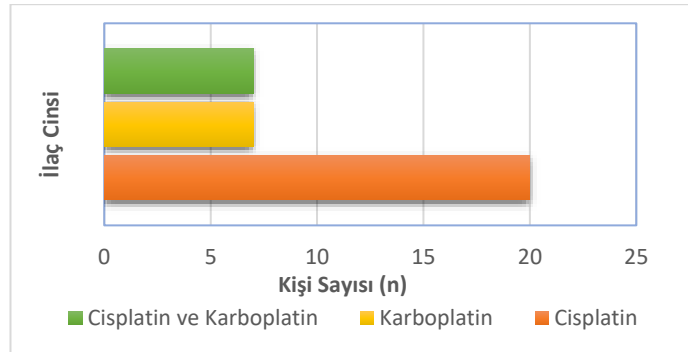


Şekil 7. Tanı Grupları Yüzdeleri

Tanı anındaki yaşlarına göre hastalar değerlendirildiğinde; ortalama yaş 5.8 ± 5.7 yıl olarak hesaplanmıştır. En küçük tanı alma yaşı 1 ay iken, en büyük hasta yaşı 17 yaş olarak görülmüştür. 5 yaş altında tanı alan 19 hasta (%56), 5 yaş üzerinde tanı alan 15 hasta (%44) vardı.

Hastaların çalışmaya dahil edilme zamanları ile platinum grubu ilacı aldıkları en son zamana göre ortalama geçen süre 75 ± 39 ay olarak hesaplandı. En az süre geçen hasta platinum grubu ilacı en son 10 ay önce almış idi. Yirmi iki hastanın (%64,7) en son ilaç aldığı süre üzerinden 5 yıl ve üzerinde süre geçmiş iken 12 hastada (%35,3) 5 yıl altında süre geçmiş idi.

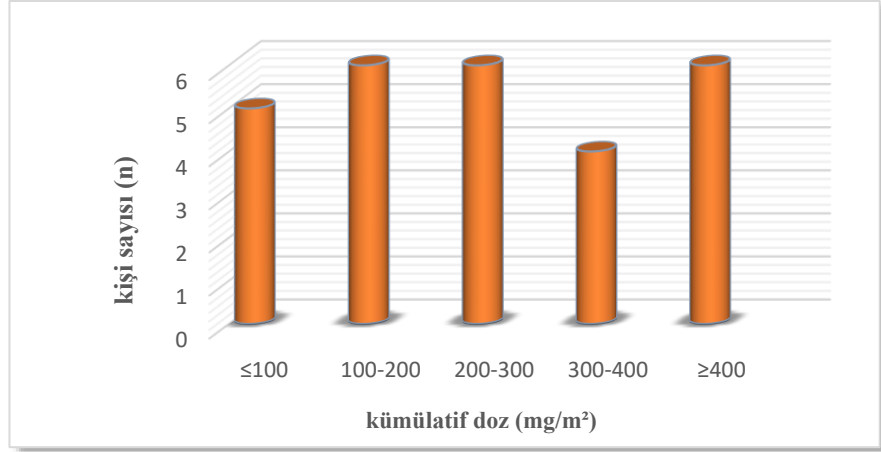
Çalışmaya dahil edilen 34 hastanın 7'sinin (%20,6) sadece karboplatin, 20'sinin (%58,8) sadece cisplatin, 7'sinin de (%20,6) hem karboplatin hem cisplatin aldığı görüldü (Şekil 8).



Şekil 8. İlaç cinsine göre hasta sayıları

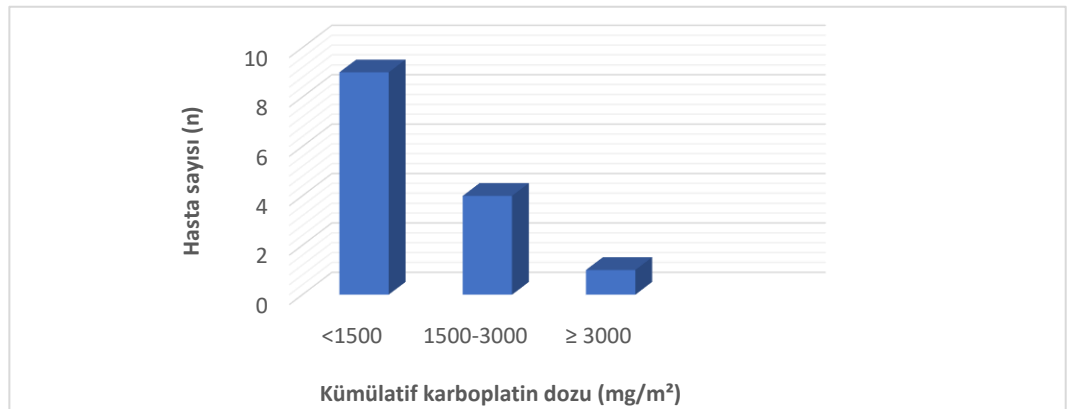
Cisplatin alan hastalarda kümülatif doz $18-595 \text{ mg/m}^2$ arasında değişmekte olup ortalama kümülatif doz $211 \pm 184 \text{ mg/m}^2$ olarak hesaplandı. Maksimum cisplatin dozu alan hasta 595 mg/m^2 kümülatif doz ile osteosarkom tanılı hasta idi.

Hastaların 21'i (%77,7) 400 mg/m² altında cisplatin almış iken, 6 hastanın da (%22,3) 400 mg/m² ve üzerinde kümülatif dozda cisplatin aldığı saptandı (Şekil 9).



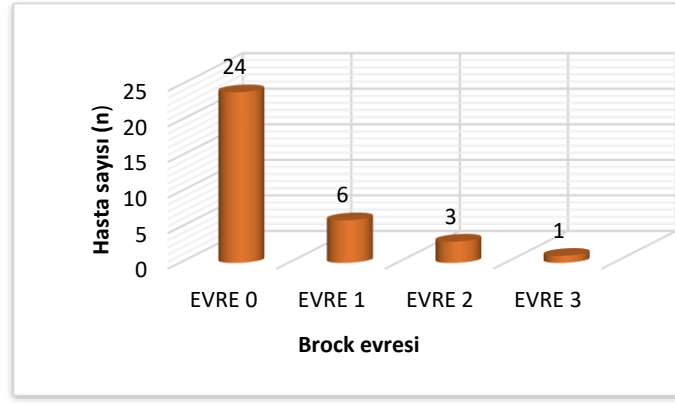
Şekil 9. Cisplatin kümülatif doza göre hasta sayıları

Karboplatin alan hastalarda kümülatif doz 388-5200 mg/ m² arasında olup, ortalama doz 602 ± 1086 mg/m² görüldü. En yüksek dozda karboplatin alan hasta ise 5200 mg/m² kümülatif doz ile pilositik astrositom tanılı hasta idi. Hastaların 9'u (%64) 1500 mg/m² altında kümülatif dozda karboplatin alırken, 5 hasta (%36) 1500 mg/m² ve üzerindeki dozlarda almıştı (Şekil 10).



Şekil 10. Karboplatin kümülatif doza göre hasta sayıları

İşitme kayıplarını saptamak amacıyla tüm hastalar otoakustik emisyon ile değerlendirildi. Saptanan işitme eşikleri Brock evreleme sistemine göre sınıflandırıldığında 34 hastanın 24'ü (%70,6) Brock evre 0; 6'sı (%17,4) Brock evre 1; 3 hasta (%9) Brock evre 2; 1 hasta (%3) Brock evre 3 olarak saptandı. Brock evre 4 olan hasta görülmedi. Hastaların işitme kayıpları evrelemesinde sağ ve sol kulak arasında işitme eşiklerinde fark olan hasta saptanmadı (Şekil 11).



Şekil 11: Brock evresine göre hasta sayıları

Brock evre 0 olan hastalar işitmesi normal; evre 1,2,3,4 ise işitme kaybı gelişen hastalar olarak değerlendirildi.

Dosya taramalarında platinum grubu ilaçları alırken eşlik eden aminoglikozid grubu ilaç alımına göre de hastalar değerlendirildiğinde 10 hastanın (%29) amikasin aldığı saptandı. Ortalama amikasin alım süresi $5 \pm 10,2$ gün idi. Bir diğer ototoksik ilaç grubundan olan furosemid alan ise 4 hasta (%11) mevcut idi.

Hastaların ilk tanı anındaki GFR (Glomeruler filtration rate) değeri ve çalışmaya alınma anındaki GFR değerleri Schwartz formülüne göre hesaplandığında tüm hastaların kreatinin klirensinin tedavi öncesi ve sonrası

normal olduğu görüldü. Yapılan wilcoxon testinde de istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmadı.

Yalnızca cisplatin alan 20 hastanın 13'ü (%65) Brock evre 0 olarak saptandı. 7 hastada (%30) ise farklı evrelerde işitme kaybı mevcuttu. Bir hastada evre 3, iki hastada evre 2, dört hastada da evre 1 işitme kaybı izlendi. Yalnızca karboplatin alan 7 hastanın 5'inde (%71,4) işitme normal (Brock evre 0) iken, iki hastada evre 1 işitme kaybı görüldü. Her iki ilacı da alan 7 hastadan 1'inde evre 2 işitme kaybı görüldü. Yalnızca cisplatin veya karboplatin alan hastalar arasında ototoksisite yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ($p= 0.59$), (Tablo 21).

Tablo 21. İlaç grubuna göre işitme kaybı evreleri

	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3
Cisplatin+Karboplatin	6	0	1	0
Karboplatin	5	2	0	0
Cisplatin	13	4	2	1

Kümülatif cisplatin dozu 400 mg/m² ve üzerinde olan 6 hastadan 2'sinde (%33) işitme kaybı mevcutken, 4 hastanın işitme eşiği 40 dB altında ve normal işitme fonksiyonuna sahip olduğu görüldü. 400 mg/m² altında kümülatif dozda cisplatin alan 21 hastanın 15'inin (%71) işitmesi normal görüldü. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise işitme kaybı açısından 400 mg/m² kümülatif doza göre sınıflandırıldığında anlamlı fark görülmedi ($p=0.116$). Kümülatif doz artışı ile işitme kaybı şiddeti arasında korelasyon değerlendirildiğinde anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.129$).

Karboplatin alan hastalarda ise 1500 mg/m² ve üzerinde alan 5 hastanın 1'inde (%20) işitme kaybı görüldü. 1500 mg/m² altında kümülatif dozu alan 9 hastanın ise

2'sinde (%22) işitme kaybı saptandı. Kümülatif dozun 1500 mg/m² değerine göre sınıflandırılarak işitme kaybı arasında ilişki değerlendirildiğinde ise fark görülmedi ($p>0.05$). Kümülatif doz artışı ile işitme kaybı şiddeti arasında korelasyon değerlendirildiğinde anlamlı ilişki saptanmadı ($p= 0.712$).

Tüm hastalarda işitme kaybı ve cinsiyet ilişkisi değerlendirildiğinde 5 kız (%28) ve 5 erkek (%31) hastada işitme kaybı görüldü ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ($p= 0.709$).

Tanı anında 5 yaş altında olan 4 hastada (%21) işitme kaybı mevcuttu ve istatistiksel olarak değerlendirme yapıldığında 5 yaş altında tanı alma ile işitme kaybı gelişmesi arasında anlamlı fark saptanmadı ($p= 0.27$).

Son platinum türevi ilacı aldıktan 5 yıldan az süre geçen 12 hastanın 3'ünde (%25) işitme kaybı mevcuttu. Beş yıldan daha uzun süre geçen 22 hastanın 6'sında (%27,3) işitme kaybı mevcuttu. Hastaların ilacı aldıktan sonra geçen süre ile ototoksisite arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi ($p= 0.6$).

Aminoglikozid grubu ilacı alan hastalarla işitme kaybı gelişimi açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p> 0.05$). Aynı değerlendirme furosemid alımı ve ototoksisite gelişen grup arasında yapıldığında da $p= 0.067$ saptanarak anlamlılık görülmedi.

Çalışmaya dahil edilen hastalar ve 100 sağlıklı çocukta *GSTM3*, *SLC31A1* ve *ACYP2* gen polimorfizmleri çalışıldı. Tüm kontrol ve hasta grubu genotiplerine göre sınıflandırılarak wild tip, heterozigot ve homozigot polimorfizm olarak değerlendirildi (Tablo 21 ve 22).

GSTM3 (CTC>del) rs36120609 polimorfizmine bakıldığında 34 hastanın 24'ünde (%70,6) CTC/CTC wild tip genotip saptandı. Dokuz hastada (%26,5) CTC/del, 1 hastada da del/del genotipi görüldü. Sağlıklı grupta yer alan 100 çocukta ise %74 oranında CTC/CTC, %25 CTC/ del, %1 ise del/del genotipi saptandı. *GSTM3* (CTC>del) (rs36120609) polimorfizmi, hasta ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (del/del) genotipi kontrol grubunda %1 görülürken hasta grubunda %2,9 görülmüştür. İki grup arasındaki fark ($p=0,578$) Fisher's exact testine göre anlamlı değildir ($p>0,05$).

GSTM3 (CTC>del) (rs36120609) polimorfizmi, işitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılaştırıldığında (del/del) genotipi frekansı işitme kaybı gelişen grupta %10 görülürken işitme kaybı gelişmeyen hasta grubunda **hiç (%0)** görülmemiştir. İki grup arasındaki fark ($p=0,262$) Fisher's exact testine göre anlamlı değildir ($p>0,05$). Hasta grubundaki sayıların az olması nedeni ile anlamlı olmadığı düşünülmektedir.

GSTM3 (CTC>del) (rs36120609) polimorfizmi, işitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılaştırıldığında (**del**) **alel frekansı** İşitme kaybı gelişen grupta %25 görülürken İşitme kaybı gelişmeyen grupta %13 görülmüştür. İki grup arasındaki fark ($p=0,279$) Fisher's exact testine göre anlamlı değildir ($p>0,05$). İki grup arasındaki fark 2 katı olmasına rağmen hasta grubundaki sayının az olması nedeni ile anlamlı olmadığı düşünülmektedir.

SLC31A1 (T>G) rs10981694 tek gen polimorfizmi değerlendirilen hastaların 25 'inde (%73,57) TT, 8'inde (%23,5) TG ve 1 hastada GG genotipi görüldü. Kontrol grubunda ise %80 TT, %19 TG ve %1 GG allelleri saptandı. *SLC31A1*

(T>G) (rs10981694) polimorfizmi, hasta ve kontrol grubu ile karşılatıldığında (G/G) genotipi kontrol grubunda %1 görülürken hasta grubunda %2,9 görülmüştür. İki grup arasındaki fark (**p=0,42**) Fisher's exact testine göre anlamlı değildir ($p>0,05$).

SLC31A1 (T>G) (rs10981694) polimorfizmi, işitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılatıldığında (**G**) alel frekansı İşitme kaybı gelişen grupta %5 görülürken İşitme kaybı gelişmeyen grupta %19 görülmüştür. İki grup arasındaki fark (**p=0,260**) Fisher's exact testine göre anlamlı değildir ($p>0,05$). Hasta grup sayısının az olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

ACYP2 geni için rs1872328 polimorfizmi değerlendirildiğinde 34 hastanın %91,2'sinde GG allelleri saptandı. GA genotipine sahip hastalar %8,8 olarak saptanırken AA genotipine sahip hasta görülmedi. Sağlıklı grupta ise %90 GG, %10 GA genotipi mevcuttu. Kontrol grubunda da AA allellerini taşıyan hasta saptanmadı. *ACYP2* (G>A) (rs1872328) polimorfizmi, hasta ve ve kontrol grubunda araştırıldığında (A/A) genotipi her iki grupta da gözlenmemiştir. Bu polimorfizme ait tüm genotiplerin alel frekanslarının karşılaştırmasındaki fark anlamsız olarak değerlendirilmiştir ($p>0,05$). *ACYP2* (G>A) (rs1872328) polimorfizmi, işitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılatırıldığında (**A**) alel frekansı İşitme kaybı gelişen grupta %10 görülürken İşitme kaybı gelişmeyen grupta %2 görülmüştür. İki grup arasındaki fark (**p=0,205**) Fisher's exact testine göre anlamlı değildir ($p>0,05$)

Tablo 22. İşitme kaybı gelişen hastaların genetik özellikleri

Hasta	Yaş (Yıl)	Tanı	Kümülatif cisplatin dozu (mg/m²)	Kümülatif karboplatin dozu (mg/m²)	Brock evresi	<i>GSTM3</i> (CTC>del) (rs36120609)	<i>SLC31A1</i> (T>G) (rs10981694)	<i>ACYP2</i> (G>A) (rs1872328)
1.	11	Osteosarkom	347	-	1	CTC/CTC	TT	GG
2.	16	Burkitt Lenfoma	-	1156	1	CTC/CTC	TT	GG
3.	9	Pilositik astrositom	-	5200	1	CTC/del	TT	GA
4.	7	Nöroblastom	337	-	3	CTC/del	TG	GG
5.	23	Osteosarkom	595	-	1	CTC/CTC	TT	GG
6.	20	Germ Hücre Tümörü	558	-	1	del/del	TT	GG
7.	9	Nöroblastom	340	-	2	CTC/CTC	TT	GG
8.	12	Germ Hücre Tümörü	202	-	1	CTC/CTC	TT	GA
9.	13	Nöroblastom	297	600	2	CTC/del	TT	GG
10.	12	Nöroblastom	238	-	2	CTC/CTC	TT	GG

Tablo 23. İşitme kaybı olmayan (Brock evre 0) hastaların özellikleri

Hasta	Yaş (yıl)	Tanı	Kümülatif cisplatin dozu (mg/m²)	Kümülatif karboplatin dozu (mg/m²)	GSTM3 (CTC>del) (rs36120609)	SLC31A1 (T>G) (rs10981694)	ACYP2 (G>A) (rs1872328)
1	22	Germ Hücre Tümörü	400	1200	CTC/CTC	TT	GG
2	10	Wilms Tümörü	-	2240	CTC/del	TG	GG
3	12	Nöroblastom	144	728	CTC/del	TT	GG
4	14	Nöroblastom	100.5	-	CTC/CTC	TT	GG
5	13	Osteosarkom	542	-	CTC/CTC	TT	GG
6	11	Osteosarkom	365	-	CTC/CTC	TT	GG
7	7	Nöroblastom	98	405	CTC/CTC	TG	GG
8	16	Germ Hücre Tümörü	145	-	CTC/CTC	TG	GG
9	9	Retinoblastom	-	2400	CTC/CTC	TG	GG
10	17	Germ Hücre Tümörü	287	-	CTC/CTC	TT	GG
11	19	Germ Hücre Tümörü	417	-	CTC/CTC	TT	GG
12	8	Nöroblastom	228	-	CTC/del	TT	GG
13	9	Nöroblastom	136	-	CTC/CTC	TG	GG

Tablo 23. İşitme kaybı olmayan (Brock evre 0) hastaların özellikleri devamı

Hasta	Yaş (yıl)	Tanı	Kümülatif cisplatin dozu (mg/m²)	Kümülatif karboplatin dozu (mg/m²)	<i>GSTM3</i> (CTC>del) (rs36120609)	<i>SLC31A1</i> (T>G) (rs10981694)	<i>ACYP2</i> (G>A) (rs1872328)
14	13	Germ Hücre Tümörü	175	-	CTC/CTC	TT	GG
15	11	Retinoblastom	-	2232	CTC/CTC	GG	GG
16	25	Germ Hücre Tümörü	554	-	CTC/del	TT	GG
17	12	Retinoblastom	-	1093	CTC/CTC	TT	GG
18	9	Nöroblastom	52	388	CTC/del	TG	GG
19	18	Germ Hücre Tümörü	294	-	CTC/CTC	TT	GA
20	9	Germ Hücre Tümörü	154	-	CTC/CTC	TT	GG
21	14	Epiletoid Sarkom	-	1500	CTC/CTC	TT	GG
22	14	Nöroblastom	58	928	CTC/CTC	TT	GG
23	11	Nöroblastom	124	-	CTC/del	TG	GG
24	10	Nöroblastom	18	400	CTC/CTC	TT	GG

Tablo 24. Hasta ve kontrol (sağlıklı) grubunda *GSTM3* (CTC>del), *SLC31A1* (T>G) ve *ACYP2* (G>A) polimorfizmlerinin genotip ve alel frekansları

Gen	Hasta (n=34)	Kontrol (Sağlıklı) (n=100)	P (<0,05)	CI (95%)
<i>GSTM3</i> (CTC>del) (rs36120609)				
Genotip				
CTC/CTC	24 (70.6%)	74 (74%)		
CTC/del	9 (26.5%)	25 (25%)		
del/del	1 (2.9%)	1 (1%)	0,578	
Alel				
CTC	57 (83.8%)	173 (86.5%)	0,554	0,809 (0,361-1,927)
del	11 (16.2%)	27 (13.5%)		
<i>SLC31A1</i> (T>G) (rs10981694)				
Genotip				
TT	25 (73.57%)	80 (80%)		
TG	8 (23.53%)	19 (19%)		
GG	1 (2.90%)	1 (1%)	0,42	
Alel				
T	58 (85.3%)	179 (89.5%)	0,381	0,681 (0,287-1,719)
G	10 (14.7%)	21 (10.5%)		
<i>ACYP2</i> (G>A) (rs1872328)				
Genotip				
GG	31 (91.2%)	90 (90%)		
GA	3 (8.8)	10 (10%)		
AA	0 (0.0%)	0 (0%)	0,1566	
Alel				
G	65 (95.6%)	190 (95%)	1	1,198 (0,282-6,64)
A	3 (4.4%)	10 (5%)		

Tablo 25. İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubunda *GSTM3* (CTC>del), *SLC31A1* (T>G) ve *ACYP2* (G>A) polimorfizmlerinin genotip ve alel frekansları

Gen	İşitme kaybı gelişen hasta (n=10)	İşitme kaybı gelişmeyen hasta (n=24)	P (<0,05)	OD (CI)
<i>GSTM3</i> (rs36120609) (CTC>del)				
Genotypes				
CTC/CTC	6 (60%)	18 (75%)		
CTC/del	3 (30%)	6 (25%)		
del/del	1 (10%)	0 (0%)	0,262	
Alleles				
CTC	15 (75%)	42 (87%)		
del	5 (25%)	6 (13%)	0,279	0,435 (0,094-2,081)
<i>SLC31A1</i> (T>G) (rs10981694)				
Genotypes				
TT	9 (90%)	16 (67%)		
TG	1 (10%)	7 (29%)		
GG	0 (0%)	1 (4%)	0,564	
Alleles				
T	19 (95%)	39 (81%)		
G	1 (5%)	9 (19%)	0,260	4,313 (0,528-201,943)
<i>ACYP2</i> (G>A) (rs1872328)				
Genotypes				
GG	8 (80%)	23 (96%)		
GA	2 (20%)	1 (4%)		
AA	0 (0%)	0 (0%)	0,200	
Alleles				
G	18 (90%)	47 (98%)		
A	2 (10%)	1 (2%)	0,205	0,197 (0,003-3,999)

5. TARTIŞMA

Ototoksisite; kohlear ve vestibuler dokularda, selüler dejenerasyona bağlı olarak ortaya çıkan fonksiyon kaybıdır. Osteosarkom, nöroblastom, hepatoblastom, germ hücreli tümörler, metastatik ovaryan ve testiküler kanserler, mesane kanserleri, küçük hücreli olmayan akciğer tümörleri ve merkezi sinir sistemi tümörleri gibi pek çok malign hastalığa yönelik kemoterapi rejimlerinin esas komponentlerini oluşturan platinum grubu ilaçlar (cisplatin, karboplatin, oksaliplatin gibi) erken ya da geç başlangıçlı ototoksisiteye neden olabilmektedir (59). Cisplatinin ototoksisitesine yönelik moleküler ve selüler düzeyde birkaç mekanizma öne sürülmüştür. Moleküler mekanizmalar; reaktif oksijen radikallerinde artış ve antioksidan enzim düzeylerinde azalma ile sonucunda hem apoptozisin indüklenmesi hem de lipid peroksidasyonunda ve proteinlerin oksidatif modifikasyonunda artış, DNA zincirlerinde ve zincirler arasında çapraz bağlar oluşturarak kaspazların aktivasyonu ile yıkılması (59,129), kohlear proteinlerin S-nitrozilasyonudur (71). Hücresel düzeyde ise cisplatin, öncelikle bazal kohleadaki tüylü hücre hasarına neden olmaktadır. Diğer etkilenen yapılar ise destek hücreleri, stria vaskülarisin marjinal hücreleri, spiral ligament ve spiral ganglion hücreleridir (130). Bazı hayvan çalışmalarında karboplatinin cisplatinden farklı olarak öncelikle iç tüylü hücrelerde hasar oluşturduğu saptanmıştır (131).

İşitmenin nöronal yapıları ve yolların maturasyonunun, infant ve erken çocukluk dönemi boyunca devam etmesi nedeni ile kanser terapisi alan çocuklar, erişkinlere göre ototoksik etkilere karşı daha yatkındır (127). İşitme kaybı çocuklarda konuşma ve dil gelişiminde gecikme, iletişim zorlukları ve düşük

akademik performans gibi sonuçlar doğurabilmektedir (132). Bu gibi sorunlar yaşayan çocuklarda stres düzeyi artmakta, agresyon ve hiperaktivite gibi davranış problemleri ortaya çıkabilmektedir (133). Bu nedenle platinum grubu ilaçlarla tedavi edilen çocuklarda işitme düzeyinin takibi ve ototoksisite açısından risk taşıyan hastaları saptamanın önemi büyüktür.

Cisplatin ve karboplatin, bilateral, simetrik ve geri dönüşümsüz sensörinöral tip işitme kaybına sebep olmaktadır. Genellikle tinnitus ve vertigo da eşlik etmektedir (59). Kohlear tüylü hücrelerin tonotopik yerleşimi nedeni ile bazal kohledaki tüylü hücrelerde hasar sonucunda işitme kaybı, öncelikle yüksek frekanslı seslerde başlamaktadır. İlaç maruziyeti devam ettiğinde ise işitme kaybı progresif olabilmekte ve düşük frekanslı seslere doğru ilerleyebilmektedir (134).

Platinum ilişkili ototoksisite değerlendirilmesinde National Cancer Institute Criteria (NCI), Brock kriterleri, the American Speech-Hearing-Language Association (ASHA) kriterleri, World Health Organization (WHO) kriterleri, Pediatric Oncology Group (POG) kriterler, Chang evrelemesi, Muenster sınıflaması gibi pek çok evreleme sistemi bulunmaktadır. Brock evreleme sistemi, özellikle platinum ilişkili işitme kaybının değerlendirilmesi için geliştirilmiş olup yaygın kullanılmakta ve uygulaması kolay ve pratiktir. Diğer kriterlerden farklı olarak evreleme için tedavi öncesi (baseline) işitme değerlendirmesine ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak bu durumda işitme kaybının kemoterapi ile ilişkili olup olmadığı değerlendirilememektedir. Ayrıca Brock evrelemesi, 8000 Hz üzerindeki frekanslardaki kayıpları değerlendirememektedir (3). Çalışmamızda hastalarımızın tedavi öncesi temel işitme değerlendirmeleri olmaması, 8000 Hz üzerindeki

frekansları teknik nedenlerle değerdendiremememiz nedeni ile sık kullanılan Brock evreleme sistemi kullanılmıştır.

Ototoksisite, öncelikle cisplatin alan hastalarda yaygın görülen yan etkilerdendir. Ancak karboplatin de myeloablatif dozlarda veya cisplatin ile kombine kullanıldığında ototoksisiteye neden olabilmektedir (135). Cisplatin alan hastalardaki işitme kaybı insidansı yapılan çalışmalarda ek risk faktörlerine göre %26-%90 arasında değişmektedir (7,8,136). Karboplatin alanlarda ise ototoksisite insidansı özellikle myeloablatif olmayan dozlarda değerdendirilmiştir. Jehanne ve ark. (137) yaptığı çalışmada retinoblastom nedeni ile karboplatin alan 175 hastanın %4,5'inde tedavi sonrası izleminde kalıcı işitme kaybı geliştiğini gösterilmiştir. Retinoblastomlu 12 hastada yapılan bir başka çalışmada ise karboplatine bağlı işitme kaybı insidansı %17 olarak görülmüştür(138). Nitz ve arkadaşlarının (139) yaptığı çalışmada da yumuşak doku tümörleri veya osteosarkom tanıları ile takip edilmiş cisplatin veya karboplatin verilen hastalar izlenmiş ve yalnızca karboplatin alan 13 hastanın %46'sında işitme kaybı saptanmıştır. Yalnızca cisplatin alan hastalarla karşılaştırıldığında da işitme kaybı insidansı açısından fark bulunmamıştır. Çalışmamızda ise sadece cisplatin alan 20 hastanın %30'unda farklı evrelerde işitme kaybı saptanmıştır. Yalnızca karboplatin alan 7 hastanın %28,6'sında işitme kaybı mevcuttur.

Erkek cinsiyeti, platinum ilişkili ototoksisitede bağımsız risk faktörü olarak tanımlayan pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda kızlarda ototoksisitenin daha az ortaya çıkması östrojenin koruyucu etkisine bağlanmıştır (79,80,140). Buna karşın cinsiyet ile ototoksisite arasında ilişkinin saptanmadığı araştırmalar da

mevcuttur (141,142). Çalışmamızda da kızların %28'i, erkek hastaların %31'inde işitme kaybı görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Platinum ilişkili ototoksisitede risk faktörlerine bakıldığında hastanın ilacı aldığı yaş pek çok araştırmada değerlendirilmiştir. Li ve ark. (4) yaptığı çalışmada, 5 yaş altında cisplatin alan hastalarda işitme kaybı insidansı 15-20 yaş arasındaki bireylere göre 15-20 kat daha fazla saptanmıştır. Ayrıca 5 yaş altı hastaların işitme kaybı açısından esas riskli grup olduğunu destekleyen ek araştırmalar da mevcuttur (8,79). Ancak yaş ile platinum ilişkili ototoksisite arasında anlamlı ilişkinin olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur (80,143,144). Çalışmamızda da 5 yaş altında tanı alan 19 kişi arasında 4 hastada (%21) işitme kaybı mevcuttu ve tanı yaşı ile işitme kaybı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Platinum ilişkili ototoksisite, progresif seyir gösterebilmektedir. Tedavisi tamamlandıktan sonra yapılan hasta takiplerinde işitme kaybı ilerleyebilmekte ya da bazı hastalarda geç başlangıçlı olarak işitme kaybı ortaya çıkabilmektedir. Bertolini ve ark.(136) yaptığı çalışmada 1987-1997 yılları arasında, cisplatin/karboplatin içeren tedavi rejimlerini alan hastalar ortalama 7 yıl süresince işitme kaybı açısından takip edilmiştir. Ototoksisite ile izlenen hastaların işitmelerinde düzelme saptanmamış olup, tedavi bitiminden 3 hafta sonra yapılan odyolojik değerlendirmelere göre işitme kaybı insidansı %11 iken 2 yıl ve üzerindeki takipleri sırasında bu oran %44 olarak saptanmıştır. Eirnasson ve ark. (145) yaptığı benzer bir çalışmada da platinum grubu ilaç alan hastaların ortalama 16 yıllık izleminde işitme kaybı olan hastaların %40'ında progresyon saptanmıştır. Çalışmamızda 22 hastanın (%64,7) en son ilaç aldığı süre üzerinden 5 yıl ve

üzerinde süre geçmiş olup %27'sinde işitme kaybı mevcuttu. Beş yıl altında süre geçmiş 12 hastanın ise %25'inde işitme kaybı mevcuttu. Hastaların ilacı aldıktan sonra geçen süre ile ototoksisite arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi ($p= 0.6$). Beş yıldan uzun süre geçen hastalarda işitme kaybının devam etmesi ototoksisitenin kalıcı olduğunu desteklese de hastalarda tekrarlayan odyolojik ölçümlerimiz olmadığından uzun dönem takipte yüksek frekanslı işitme kaybının progresyonu konusunda yorum yapılamamıştır.

Platinum ilişkili ototoksisitede risk faktörleri değerlendirildiğinde pek çok çalışmada kümülatif doz esas risk faktörleri arasında değerlendirilmiştir. Bertolini ve ark. (136) yaptığı çalışmada cisplatin 400 mg/m² üzerindeki dozlarda klinik olarak belirgin bir şekilde ototoksisitede artış saptanmıştır(136). Li ve arkadaşlarının (4) yaptığı bir diğer çalışmada ise kümülatif doz 400 mg/m² üzerine çıkmaya başladığında ototoksisite insidansı ve şiddetinin arttığı görülmüştür. Clemens ve arkadaşları (146) tarafından yapılan çalışmada da 451 hasta (platinum grubu ilaçlarla tedavi edilmiş, radyoterapi almamış) retrospektif olarak değerlendirilmiş olup 300 mg/m² üzerinde işitme kaybında artış saptanmıştır. Pek çok çalışmada da özellikle 400 mg/m² üzerinde ototoksisite insidansında artış saptandığı desteklenmiştir (79,147). Bununla birlikte, kümülatif doz ile işitme kaybı arasında anlamlı ilişkinin saptanmadığı çalışmalar da mevcuttur. Olgun ve arkadaşlarının (80) araştırmasında kümülatif doz ile ototoksisite arasında korelasyon görülmemiştir. Cisplatin ile tedavi edilmiş 55 hastada yapılan bir diğer çalışmada da kümülatif doz ile işitme kaybı arasında anlamlı ilişki görülmemiştir (148). Bizim çalışmamızda kümülatif cisplatin dozu 400 mg/m² ve üzerinde olan 6

hastadan 2'sinde (%33) işitme kaybı mevcuttu. 400 mg/m² altında alan grupta ise 21 hastanın 15'inin (%71) işitmesi normal görüldü. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise işitme kaybı açısından 400 mg/m² kümülatif doza göre sınıflandırıldığında anlamlı fark görülmedi. Ayrıca kümülatif doz artışı ile işitme kaybı arasında korelasyon görülmedi.

Karboplatin alanlarda kümülatif doz- ototoksisite ilişkisi değerlendirildiğinde ise ototoksisite riskini artıran kümülatif doz konusunda belirgin farklılıklar mevcuttur. Wibowo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, karboplatin ile tedavi edilmiş 52 hasta otoakustik emisyon ile değerlendirildiğinde kümülatif karboplatin dozu 1500 mg/m² üzerine çıktığında tek taraflı işitme kaybı insidansının arttığı, 3500 mg/m²'yi aştığında ise bilateral işitme kaybının belirginleştiği belirtilmiştir (149). Jehanne ve arkadaşları (137) ve Dean ve arkadaşlarının (85) yaptığı 2 farklı çalışmada ise 3000 mg/m² üzerindeki dozlarda ototoksik olayların arttığı saptanmıştır. Prospektif olarak cisplatin ve karboplatin alan hastalarda yapılan bir diğer araştırmada ortalama 1500 mg/m² kümülatif dozda karboplatin alan hastaların %46'sında işitme kaybı saptanmıştır (139). Ayrıca karboplatinin 1600 mg/m²'den daha az kümülatif dozlarda ototoksik olaylar ortaya çıkmadan tolere edilebildiği görülmüştür (7,86). Çalışmamızda karboplatin alan hastalarda, 1500 mg/m² ve üzerinde alan 5 hastanın 1'inde (%20) işitme kaybı görüldü. 1500 mg/m² altında kümülatif dozu olan 9 hastanın ise 2'sinde (%22) işitme kaybı saptandı. Kümülatif dozun 1500 mg/m² değerine göre sınıflandırılarak işitme kaybı arasında ilişki değerlendirildiğinde ise fark görülmemiştir (p>0.05).

Aminoglikozid grubu ilaçlar, platin türevi kemoterapotikler gibi reaktif oksijen radikallerini artırarak bazal kohleada dış saçlı hücrelerde, stria vaskulariste, marjinal hücrelerde ve spiral ganglionda apopitozisi tetiklemektedir (150). Bu nedenle platinum grubu ilaçlarla tedavi sırasında aminoglikozid kullanımı ototoksisite riskini artırabilmektedir (59,80,89). Olgun ve arkadaşlarının (80) yaptığı çalışmada eşik eden aminoglikozid kullanımı işitme kaybı riskini artırmakla birlikte ototoksisitenin orta ve ciddi evrelerde görüldüğü de saptanmıştır. Ancak Clemens ve arkadaşlarının (146) platinum grubu ilaçlarla tedavi edilen 451 hastada yaptığı çalışmada aminoglikozid kullanımı bağımsız risk faktörü olarak değerlendirildiğinde anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda da aminoglikozid kullanımı ile işitme kaybı arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ($p=0.85$).

Platinum ilişkili ototoksisitede bağımsız risk faktörü olarak değerlendirilen bir diğer ototoksik ilaç grubu da furosemid gibi loop direktikleridir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek doz furosemid infüzyonundan 1 saat sonra cisplatin verilen farelerde dış tüylü hücrelerde belirgin kayıp ve kalıcı işitme kaybı ortaya çıktığı saptanmıştır (151). Cisplatin veya karboplatin ile tedavi edilmiş hastalarda eşlik eden furosemid kullanımının işitme kaybı riskini artırdığı görülmüştür (59,146). Ancak diüretik kullanımı ile ototoksisite insidansı arasında anlamlı ilişkinin saptanmadığı çalışmalar da mevcuttur (79,80,137). Çalışmamızda da furosemid ile işitme kaybı arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ($p=0.28$).

Platinum ilişkili ototoksisitede, cinsiyet, tanı yaşı ve klinik risk faktörleri ototoksisiteye maruz kalan hastalar arasındaki belirgin bireysel farklılığı

açıklayamamaktadır. Bu durum genetik faktörlerin platinum toksisitesinde yatkınlık yaratabileceği, ciddiyetini artırabileceği hipotezini ortaya çıkarmıştır (59). Genetik varyantların belirlenmesi ile tedavi öncesi ototoksisite ciddiyetini öngörerek tedavinin bireyselleştirilmesinin sağlanması amaçlanmaktadır.

Genetik etiyoloji araştırılırken aday gen yaklaşımı benimsenmiştir. Bu yaklaşımla öncelikle araştırılan genler, platinumların hücre içerisine alımında (*CTR1* taşıyıcıları-*SLC31A1*), detoksifikasyonunda (*GST*), oluşturdukları DNA hasarının tamirinde (*ERCC1*, *XPA*) ya da bu ilaçların sekresyonunda görevli genlerde (*MRP2*, *ABCC2*) meydana gelen tek gen polimorfizmlerini kapsamaktadır. Ayrıca tüylü hücre gelişiminden sorumlu enzimleri kodlayan *ACYP2* geni de araştırılmaktadır. Bu gen gruplarındaki polimorfizmlerin etnik kökene göre de değerlendirilmesi ve sıklığının belirlenmesi gerekliliği de belirtilmiştir (59,152). Çalışmamızda *GSTM3* (rs36120609), *SLC31A1* (rs10981694), *ACYP2* (rs1872328) gen polimorfizmleri 34 hasta ve 100 sağlıklı kontrol grubunda belirlenerek normal Türk toplumundaki sıklıkları ve ototoksisite gelişiminde rolleri değerlendirilmiştir. Çalışmamız, ülkemizde bu gen gruplarının değerlendirildiği ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

Glutatyon-S transferaz (*GST*) enzim ailesi, glutatyon, metyonin gibi intraselüler molekülleri kullanarak platinum grubu ilaçların selüler detoksifikasyonundan sorumludurlar (152). Bu enzimleri kodlayan genlerden *GSTM3* geni ilk olarak Peters ve arkadaşları tarafından değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, cisplatin ile tedavi edilmiş, kranial radyoterapi almamış, böbrek fonksiyonları normal, ailesinde işitme kaybı öyküsü olmayan 3-22 yaş arası hastalar işitme kaybı olup olmasına

göre iki gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. *GSTM3* geni intron 6 da 3 baz delesyonu bulunmasının işitme kaybına karşı koruyucu rolü olduğu görülmüş, ancak mekanizması net olarak değerlendirilememiştir (106). Lui ve arkadaşları (107) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise cisplatin veya karboplatin ile tedavi edilen 33 hasta ve 73 kontrol grubunda *GSTM3* geni allelerinde delesyon saptanması ile işitme kaybı arasında ilişki saptanmamıştır (107). Khruni ve arkadaşları (153) ovaryan kanser tanısı alan hastalarda cisplatin toksisitesini değerlendirmek amacıyla 10 ayrı gende 20 polimorfizme bakarak yaptıkları çalışmada, *GSTM3* geni intron 6 da 3 baz delesyonunun işitme kaybı ile arasında ilişki saptamamışlardır (154).

Çalışmamızda hasta grubunda %70,6 CTC/CTC wild genotip, %20,6 CTC/del heterozigot polimorfizm, %2,9 del/del genotipi, kontrol grubunda ise %74 CTC/CTC genotipi, %25 CTC/del heterozigot polimorfizm, %1 de del/del genotipi saptanmıştır. *GSTM3* (CTC>del) (rs36120609) polimorfizmi, işitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılaştırıldığında (del/del) genotipi frekansı işitme kaybı gelişen grupta **%10** görülürken işitme kaybı gelişmeyen hasta grubunda **hiç (%0)** görülmemiştir. Del/del genotipindeki frekans farklılığına rağmen Fishers exact testine göre anlamlı fark olmaması işitme kaybı gelişen grubun sayısının az olmasına bağlanmıştır. İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubunda **(del) alel frekansı** karşılaştırıldığında ise işitme kaybı gelişen grupta **%25** görülürken işitme kaybı gelişmeyen grupta **%13** görülmüştür. Del alelindeki frekans farklılığına rağmen Fishers exact testine göre anlamlı olmaması yine işitme kaybı olan hasta grubu sayısının az olmasına bağlanmıştır. GST gen ailesinde görülen

polimorfizmlerin (delesyon ya da mutasyonların) kansere yol açtığı da bildirilmiştir. Schnakenberg ve ark. (101) yaptığı çalışmada *GSTM3* heterozigot mutasyonu olan bireylerde mesane kanseri riskinin belirgin bir şekilde arttığı saptanmıştır. Bu çalışmada wild tip *GSTM3* genotipi (*GSTM3**A/*A) kontrol grubunun %83'ünde, tümör hastalarının %67,8'inde saptanmıştır. Bu bulgular, iki allelden birinde oluşan 3 baz çiftindeki delesyon sonucunda glutatyon konjugasyonu ile detoksifikasyonda azalma sonucunda mesane kanseri gelişiminin kolaylaştığını göstermektedir (101). Mesane kanseri gelişiminde kimyasal maruziyetlerin rolü büyüktür. İlaçlar, çevresel ve mesleki maddeler detoksifikasyonun azalması sonucunda mesane kanserine eğilim yaratmaktadır. Kesarwani ve arkadaşlarının (102) yaptığı bir diğer çalışmada da *GSTM3**B alleli, prostat kanserli hastalarda %21,5, kontrol grubunda ise %13 sıklıkta görülmüştür. Ayrıca hastalar sigara, tütün ve alkol içme alışkanlıklarına göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; *GSTM3**B alleleline sahip, sigara içen hastalarda kontrol grubuna göre 4 kat artmış prostat kanser riski saptanmıştır. Benzer olarak alkol tüketen ve varyant alleli taşıyan hastalarda da 4,3 kat artmış risk görülmüştür. Bu risk artışının mekanizması incelendiğinde *GSTM3* geninde intron 6'da 3 baz delesyonu sonucunda transkripsiyon faktör YY1 (Ying Yang 1) için tanıma alanı oluştuğu düşünülmektedir. YY1 transkripsiyon faktörü vasıtasıyla IFN-c (İnterferon-c) gibi stres cevabı ilişkili genler ve sitokinler baskılanarak kanser duyarlılığının arttığı belirtilmiştir. Ayrıca *GSTM3* mutasyonu sonucunda kanserojenlere karşı detoksifikasyon etkinliğinin azalması nedeniyle kanser yatkınlığının gelişebileceğinden bahsedilmektedir (102,155). Esasen, benzer

mekanizmalar cisplatin maruziyeti sonucu gelişen ototoksisite için de geçerlidir. *GSTM3* geni intron 6'da 3 baz delesyonu bulunmasının işitme kaybına karşı koruyucu rolü olduğunu öne süren Peters ve arkadaşlarının (106) çalışmasında bu etkinin mekanizması açıklanamamıştır. Lui ve ark. (107) ile Khruni ve arkadaşlarının (154) yaptığı çalışmalarda da bu hipotez desteklenmemiştir. Çalışmamızda işitme kaybı olan hastalarda del frekansının fazla olması değerlendirildiğinde, cisplatin maruziyeti sonrasında işitme kaybı olan grupta (del) allel frekansının yüksek olması, cisplatin detoksifikasyonun bu hastalarda bozulmuş olabileceği teorisiyle tutarlı bir şekilde açıklanabilmektedir.

CTR1 ya da *SLC31A1* olarak membran bakır taşıyıcılarının da cisplatinin hücre içerisine alımından sorumlu oldukları düşünülmekte ve platinum grubu ilaçların tümör hücrelerine duyarlılığı açısından biyomarker olarak kullanılabileceğinden bahsedilmektedir (156). More ve arkadaşlarının (113) yaptığı bir çalışmada farelerde *Ctrl*'in kohleadaki ekspresyonu ve lokalizasyonu değerlendirilmiştir. *Ctrl*'in platinum ilişkili ototoksisitenin hedef bölgesi olan korti organı tüylü hücrelerinde ifadelendiği görülmüştür. *Ctrl*'in "small interfering RNA" ile susturulması da hücre içine azalmış cisplatin alımına yol açmıştır. Bu *CTR1* substratı olan bakır (II)'nin cisplatin ile birlikte kullanımının (hem *in vivo* hem *in vitro* olarak) cisplatin ile yarışması sonucunda kohleaya cisplatin girişini azalttığını ve dolayısıyla ototoksisiteye karşı koruyucu olduğunu göstermektedir (113). Bu durumda *CTR1* polimorfizmlerinin de cisplatinin hücre içine alımını bozacağından koruyucu rol oynayacağı öne sürülebilir. Buna karşın, Xu ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada, 204 küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastada cisplatin içeren

kemoterapi sonrasında gelişen toksisiteler ile *SLC31A1* (rs10981694) tek gen polimorfizmi ilişkisi değerlendirilmiştir. Sonuçta bu polimorfizmin cisplatin ilişkili ototoksisiteyi artırdığı saptanmıştır. Ancak bu toksisitenin mekanizması belirtilmemiş olup sadece bu gen polimorfizminin cisplatinin hücre içine alımını etkileyebileceği söylenmekle yetinilmiştir (114). Yetişkin hastalarda yapılan bir çalışmada, 206 baş boyun skuamöz hücreli hastalar cisplatin içeren kemoterapileri sonrasında ototoksisite ve polimorfizm ilişkisi açısından değerlendirildiğinde *CTR1* rs10981694 ile ototoksisite arasında ilişki görülmemiştir (157). Li ve arkadaşlarının (115) çalışmasında da *CTR1* rs10981694 polimorfizmi olan hastalarda karboplatin direnci saptanmıştır. Özellikle rs10981694 G alleli taşıyan hastalarda yüksek oranda karboplatin direnci görülmüştür. Ortaya çıkan bu direnç, platinin hücre içine alınmasındaki bozukluk olarak açıklanmış, ancak bu mutasyonu olan hastalarda yalnızca karboplatin direnci saptanmış olup cisplatinde direnç görülmemiştir. *SLC31A1* rs10981694 polimorfizmi ve ototoksisite ilişkisi ile ilgili çalışması sayısı azdır ve destekleyici çalışmalar gerekmektedir. Bizim çalışmamızda da *SLC31A1* (T>G) rs10981694 polimorfizmi sağlıklı grupta TT genotipi 67%, TG %29, GG ise %4 olarak saptanmıştır. *SLC31A1* (T>G) (rs10981694) polimorfizmi, hasta ve kontrol grubu ile karşılatıldığında (GG) genotipi kontrol grubunda %1 görülürken hasta grubunda %2,9 görülmüş, ancak aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. GG genotipindeki frekans farklılığına rağmen anlamlı olmaması hasta grubunun az sayıda olmasına bağlanmıştır. İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılatıldığında **(G) alel frekansı** işitme kaybı gelişen grupta %5 görülürken işitme kaybı gelişmeyen grupta %19 görülmüştür: Fark yine anlamlı değildir

($p=0,260$). G alelindeki frekans farklılığına rağmen Fishers exact testine göre anlamlı olmaması işitme kaybı olan hasta grubu sayısının az olmasına bağlanmıştır. Çalışmamızda, işitme kaybı gelişmeyen grupta G allel frekansının belirgin olması Li ve arkadaşlarının (115) çalışmasında da olduğu gibi *CTR1* fonksiyonunda bozulma sonucunda platinum grubu ilaçların kohlear alımını önleyerek ototoksisiteye karşı koruyucu olabileceği teorisini desteklemektedir.

ACYP2 geni, hem kalsiyum homeostazisi üzerinde hem de kas ve kohlear hücrelerde hücre farklılaşmasında fonksiyonu olan ve tüylü hücre gelişiminde katkısı olduğu düşünülen bir asilfosfataz 2 enzimini kodlamaktadır (158). Xu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 238 yeni tanı almış beyin tümörlü hasta ve bağımsız tekrarlayıcı grup olarak benzer tedavileri alan 68 beyin tümörlü hasta izlenmiştir. Cisplatin alan bu hastalarda *ACYP2* rs1872328 polimorfizmi varlığı oldukça güçlü bir şekilde ototoksisite gelişim riskiyle ilişkili bulunmuştur (120). Yetişkin hastalarda yapılan bir diğer çalışmada da germ hücreli testis kanseri tanısı ile cisplatin almış 229 hasta değerlendirilmiştir. *ACYP2* rs1872328 polimorfizmi saptanan hastalarda işitme kaybı insidansının arttığı saptanmıştır. Ancak toplumlara göre sınıflama yapıldığında, Doğu Asyalı bireylerde işitme kaybı olmadığı, Avrupalılarda ise *ACYP2* ve işitme kaybı ilişkisinin belirgin olduğu saptanmıştır. Çalışmada Afrikalı bireylerde bu polimorfizmin sık olduğu ve Afrikalıların bu çalışmada yer almaması nedeni ile bu polimorfizmin farklı soylardan bireylerde de değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir (118). Teft ve arkadaşlarının (157) yaptığı çalışmada da baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom nedeni ile cisplatin içeren kemoterapi ve radyoterapi ile tedavi edilen 206 hastada bu polimorfizm

değerlendirildiğinde ototoksisite ile arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Thiesen ve arkadaşlarının (159) yaptığı çalışmada ise 149 çocuk hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Cisplatin ile tedavi edilen bu hastalarda *ACYP2*, *TPMT* ve *COMT* genlerindeki polimorfizmler çalışılmış ve *ACYP2* gen polimorfizminin ototoksisiteyi artırdığı saptanmış, ancak yalnızca beyaz ırktan hastalar arasında bu değerlendirme yapıldığında bu ilişki görülmemiştir. Osteosarkom tanısı alan ve cisplatin ile tedavi edilmiş 156 hasta ile yapılan bir diğer çalışmada da *ACYP2* gen polimorfizmlerinin işitme kaybı riskini artırdığı saptanmıştır (160). Çalışmamızda *ACYP2* (G>A) (rs1872328) polimorfizmi değerlendirildiğinde sağlıklı grupta %90 GG genotipi saptanmış olup AA genotipi saptanmamıştır. İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılaştırıldığında **(A) alel frekansı** işitme kaybı gelişen grupta %10 görülürken işitme kaybı gelişmeyen grupta %2 görülmüştür. Ancak aradaki fark anlamlı bulunamamıştır. Hasta sayısının az olmasının bu konuda temel etken olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte A alel frekansının işitme kaybı gelişen hastalarda daha fazla olması, daha önce yapılmış çalışma bulgularını desteklemektedir.

Sonuç olarak çalışmamız platinum grubu ilaçların en önemli yan etkilerinden olan ototoksisitenin öngörülebilmesi ve gerekirse tedavinin bireyselleştirilmesi açısından araştırılan *GSTM3*, *SLC31A1* ve *ACYP2* genlerinin Türk toplumundaki genotipik sıklıklarının belirlendiği ve ototoksisite ile ilişkisinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmanın en önemli kısıtlayıcı özelliği hasta grubunun az sayıda olması ve retrospektif olarak gerçekleştirilmesidir. Elde edilen sonuçların geniş örneklem boyutlarındaki prospektif çalışmalarla desteklenmeye ihtiyacı vardır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada Gazi Üniveristesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji kliniğinde cisplatin veya karboplatin ile tedavi edilen ve remisyonunda ya da kür olarak değerlendirilen hastalarda işitme kaybı saptanarak bu iki grup ilacın ototoksite oranlarını belirlendi. Ayrıca işitme kaybı riskini artırdığı düşünülen demografik ve klinik faktörler ile *GSTM3* (CTC>del) (rs36120609), *SLC31A1* (T>G) (rs10981694), *ACYP2* (G>A) (rs1872328) tek gen polimorfizmleri hem sağlıklı hem hasta grupta değerlendirilerek genetik varyantların sıklığı incelendi.

- Çalışmaya remisyonunda ya da kür olan, cisplatin ve/ veya karboplatin ile tedavi edilmiş ve radyoterapi almamış 34 hasta, bilinen akut veya kronik hastalığı olmayan 100 sağlıklı çocuk dahil edildi.
- 34 hastanın 7' sinin (%20,6) sadece karboplatin, 20' sinin (%58,8) sadece cisplatin, 7'sinin de (%20,6) hem karboplatin hem cisplatin aldığı görüldü.
- Yalnızca cisplatin alan 20 hastanın 13'ü (%65) Brock evre 0 olarak saptandı. 7 hastada (%30) ise farklı evrelerde işitme kaybı mevcuttu. 1 hastada evre 3, 2 hastada evre 2, 4 hastada da evre 1 işitme kaybı izlendi. Yalnızca karboplatin alan 7 hastanın 5'inde (%71,4) işitme normal (Brock evre 0) iken 2 hastada evre 1 işitme kaybı görüldü. Her iki ilacı da alan 7 hastadan 1'inde evre 2 işitme kaybı görüldü. Yalnızca cisplatin veya karboplatin alan hastalar arasında ototoksiste yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (p= 0.59). Hastaların işitme

kayıpları evrelemesinde sağ ve sol kulak arasında işitme eşiklerinde fark olan hasta saptanmadı.

- Brock evre 0 olan hastalar işitmesi normal; evre 1,2,3,4 ise işitme kaybı gelişen hastalar olarak değerlendirildi.
- Hastaların 18' i (%53) kız, 16' sı (%47) erkeklerden, kontrol grubundaki bireylerin ise 50'si (%50) kız, 50'si erkeklerden oluştu. İşitme kaybı ve cinsiyet arasında istatistiksel fark saptanmadı.
- Hastaların yaş ortalaması 13 ± 4.6 yaş (yıl) olarak saptandı. Sağlıklı grupta ise yaş ortalaması $11 \pm 4,00$ yaş (yıl) olarak hesaplandı.
- Çalışmaya alınan hastaların 13' ünün (%38) nöroblastom, 10' unun (%29) germ hücreli tümör, 4'ünün (%11,8) osteosarkom, 3' ünün (8,8) retinoblastom, 1 hastanın (%3) Burkitt lenfoma, 1' inin (%3) epiteloid sarkom, 1' inin (%3) Wilms tümörü, 1' inin de (%3) pilositik astrositom tanısı mevcuttu.
- 5 yaş altında tanı alan 19 kişi (%56), 5 yaş üzerinde tanı alanlar ise 15 kişi (%44) olarak görüldü. Beş yaş altında olan 4 hastada (%21) işitme kaybı mevcuttu. Tanı yaşı ile işitme kaybı arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı.
- Toplam 22 hastanın (%64,7) en son ilaç aldığı süre üzerinden 5 yıl ve üzerinde süre geçmiş iken 12 hastada (%35,3) 5 yıl altında süre geçmiş idi. 5 yıldan az süre geçen 12 hastanın 3'ünde (%25) işitme kaybı mevcuttu. Beş yıldan daha uzun süre geçen 22 hastanın 6'sında (%27,3)

işitme kaybı mevcuttu. Hastaların ilacı aldıktan sonra geçen süre ile ototoksisite arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi ($p= 0.6$)

- Hastaların 21'i (%77,7) 400 mg/ m² altında sisplatin almış iken, 6 hastanın da (%22,3) 400 mg/m² ve üzerinde kümülatif dozda sisplatin aldığı saptandı. Kümülatif sisplatin dozu 400 mg/m² ve üzerinde olan hastaların %33'ünde işitme kaybı mevcutken 4 hastanın işitmesinin normal olduğu görüldü. 400 mg/m² altında alan grupta ise 15 hastanın (%71) işitmesi normal görüldü. İşitme kaybı açısından 400 mg/m² kümülatif doza göre sınıflandırıldığında anlamlı fark görülmedi. ($p= 0.116$)
- Hastaların 9' u (%64) 1500 mg/m² altında kümülatif dozda karboplatin alırken, 5 hasta (%36) 1500 mg/m² ve üzerindeki dozlarda almıştı. Karboplatin alan hastalarda ise 1500 mg/m² ve üzerinde alan 5 hastanın 1'inde (%20) işitme kaybı görüldü. 1500 mg/m² altında kümülatif dozu olan 9 hastanın ise 2'sinde (%22) işitme kaybı saptandı. Kümülatif dozun 1500 mg/m² değerine göre sınıflandırılarak işitme kaybı arasında ilişki değerlendirildiğinde ise fark görülmedi ($p>0.05$).
- Dosya taramalarında platinum grubu ilaçları alırken eşlik eden aminoglikozid grubu ilaç alımına göre de hastalar değerlendirildiğinde 10 hastanın (%29) amikasin aldığı saptandı. Bir diğer ototoksik ilaç grubundan olan furosemid alan ise 4 hasta (%11) mevcut idi. Amikasin ve furosemid alımı ile işitme kaybı arasında anlamlı fark saptanmadı.

- *GSTM3* (CTC> del) rs36120609 polimorfizmi değerlendirildiğinde 34 hastanın 24'ünde (%70,6) CTC/CTC genotipi saptandı. 9 hastada (%26,5) CTC/ del, 1 hastada da del/del genotipi görüldü.
- Sağlıklı grupta yer alan 100 çocukta ise %74 oranında CTC/CTC, % 25 CTC/ del, % 1 ise del/del genotipi saptandı.
- İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılaştırıldığında (del) alel frekansı İşitme kaybı gelişen grupta %25 görülürken işitme kaybı gelişmeyen grupta %13 görüldü. İki grup arasındaki fark ($p=0,279$) anlamlı değildi. İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılaştırıldığında (del/del) genotipi frekansı işitme kaybı gelişen grupta **%10** görülürken işitme kaybı gelişmeyen hasta grubunda **hiç (%0)** izlenmedi. İki grup arasındaki fark (**$p=0,262$**) Fisher's exact testine göre anlamlı değildi ($p>0,05$). Her iki durum da hasta sayısının az olmasına bağlandı. Del allelinin işitme kaybı gelişenler hastalarda daha sık görülmesi, *GSTM3* geninin detoksifikasyon etkinliğinde azalma sonucunda platinum maruziyeti ile ototoksisite riskini artırdığını düşündürdü.
- *SLC31A1* (T>G) rs10981694 tek gen polimorfizmi hastaların 25'inde (%73,57) TT, 8'inde (%23,5) TG ve 1 hastada GG genotipi görüldü. Kontrol grubunda ise %80 TT, %19 TG ve %1 GG allelleri saptandı. Hasta ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (G/G) genotipi kontrol grubunda %1 görülürken hasta grubunda %2,9 görülmüştür. Aradaki fark anlamlı değildi ($p>0,05$).

- İşitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılatıldığında **(G)** alel frekansı işitme kaybı gelişen grupta %5 görülürken işitme kaybı gelişmeyen grupta %19 olarak izlendi görülmüştür. Aradaki fark anlamlı değildi; bu durum hasta sayısının az olmasına bağlandı. G allelinin işitme kaybı gelişmeyen hastalarda daha sık olmasının, CTR1 fonksiyonunda bozulma sonucunda platinum grubu ilaçların kohlear alımını önleyerek ototoksisiteye karşı koruyucu olabileceğini teorisini desteklediği sonucuna varıldı.
- *ACYP2* geni için rs1872328 polimorfizmi değerlendirildiğinde 34 hastanın %91,2'sinde GG, %8,8 GA genotipine sahip saptanırken AA genotipine sahip hasta görülmedi. Sağlıklı grupta ise %90 GG, %10 GA genotipi mevcuttu.
- *ACYP2* (G>A) (rs1872328) polimorfizmi, işitme kaybı gelişen ve gelişmeyen hasta grubu karşılatıldığında **(A)** alel frekansı işitme kaybı gelişen grupta %10 görülürken işitme kaybı gelişmeyen grupta %2 olarak izlendi. İki grup arasındaki fark (**p=0,205**) anlamlı değildi ($p<0,05$). A alel frekansının işitme kaybı gelişenlerde fazla olmasının daha önceki yapılmış çalışma sonuçlarını desteklediği görüldü.

7. ÖZET

GAZİ ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK ONKOLOJİ BİLİM DALINDA CİSPLATİN VE/VEYA KARBOPLATİN TEDAVİLERİ ALMIŞ HASTALARDA OTOTOKSİSİTE ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI VE OTOTOKSİSİTE RİSKİNİ ARTIRAN GENETİK DEĞİŞİKLİKLERİN SAPTANMASI

Giriş ve Amaç: Ototoksisite, özellikle çocukluk çağında, bu ilaçların en fazla görülen yan etkilerindendir. Bu çalışmada çocuk onkoloji bilim dalımızda platin temelli kemoterapinin neden olduğu ototoksisitenin araştırılması, risk faktörlerinin değerlendirilmesi ve buna yatkınlık sağladığı düşünülen üç ayrı genin polimorfizminin anlamlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çocuk onkoloji bilim dalında cisplatin/karboplatin ile tedavi edilen 34 hasta ve 100 sağlıklı çocuk Ocak 2019- Ekim 2019 tarihleri arasında retrospektif olarak değerlendirildi. Hastaların işitmesi OAE ile değerlendirilerek Brock evrelemesine göre sınıflandırıldı. Tüm hastaların tanısı, tanı yaşları, ilaç kesildikten sonra geçen süre, kümülatif ilaç dozları, ek ototoksik ilaç alıp almadığı dosya taramaları ile kaydedildi ve bu faktörler ile işitme kaybı arasındaki ilişki değerlendirildi. Tüm hasta ve sağlıklı çocukların tam kan örneklerinden DNA'ları izole edilmiş ve *GSTM3* (CTC/del) rs36120609), *SLC31A1* (T>G) rs10981694, *ACYP2* (G>A) rs1872328 polimorfizmleri çalışılarak ototoksisite gelişmesinde yatkınlık değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda bu

polimorfizmlerin sıklıkları belirlenerek ototoksisite riski için anlamlı olup olmadığına bakıldı.

Bulgular: Çalışmadaki 24 hasta (%70) evre 0; 6 hasta (%17,4) evre 1, 3 hasta (%9) hasta evre 2, 1 hasta (%3) evre 3 işitme kaybına sahipti. Kümülatif doz sisplatin alımı ≥ 400 mg/m² ve kümülatif karboplatin dozunun ≥ 1500 mg/m² olmasının, yaştan, tanı yaşının ve ilaç aldıktan sonra geçen sürenin işitme kaybı riskini artırmada anlamlı saptanmadı. Sağlıklı Türk çocuklarında *GSTM3* del allel sıklığı %13,5, *SLC31A1* G alleli %10,5, *ACYP2* geni A allel taşıyıcılığı ise %5 olarak belirlendi. *GSTM3* del allel sıklığı işitme kaybı olanlarda, *SLC31A1* G allel sıklığı ise işitmesi normal olan hastalarda yüksek bulunmamasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sonuç: Cinsiyet, ≥ 400 mg/m² cisplatin ve ≥ 1500 mg/m² karboplatin kümülatif doz, 5 yaş altı tanı almış olmak ve ilacı aldıktan geçen süre ototoksisite arasında anlamlı ilişki saptanmadı. *GSTM3*, *SLC31A1* ve *ACYP2* genlerinin ototoksisitede istatistiksel anlamlı rolü görülmedi ancak *GSTM3* geni “del” allel sıklığının işitme kaybı olan hastalarda arttığı izlendi. Del allelinin varlığının *GSTM3* geninin detoksifikasyon etkinliğinde azalma sonucunda platinum maruziyeti ile ototoksisite riskini artırabileceği düşünüldü. Ayrıca *SLC31A1* geninde “G” allel sıklığı işitmesi normal saptanan hastalarda yüksek bulundu ve rs10981694 polimorfizminin, *CTR1* fonksiyonunda bozulma sonucunda platinum grubu ilaçların kohlear alımını önleyerek, ototoksisiteye karşı koruyucu olabileceğini düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Ototoksisite, cisplatin, karboplatin, polimorfizm

8. ABSTRACT

COMPARISON OF OTOTOXICITY RATES AND DETECTION OF GENETIC CHANGES THAT INCREASE THE RISK OF OTOTOXICITY IN PATIENTS RECEIVING CISPLATIN AND / OR CARBOPLATIN TREATMENTS IN GAZI UNIVERSITY PEDIATRIC ONCOLOGY DEPARTMENT

Introduction: Ototoxicity, especially in childhood, is one of the most common side effects of these drugs. In our study, it was aimed to investigate the ototoxicity caused by platinum-based chemotherapy in our pediatric oncology discipline, to evaluate the risk factors and to determine the significance of polymorphism susceptibility to ototoxicity.

Materials and Method: In this study, 34 patients and 100 healthy children treated with cisplatin / carboplatin in the pediatric oncology were retrospectively evaluated between October 2019 and January 2019. Hearing function of the patients was evaluated according to Brock grading scale by evaluating with OAE. The diagnosis of all patients, their age at diagnosis, the time after discontinuation of the drug, cumulative drug doses, additional ototoxic drugs were recorded and the relationship between these factors and hearing loss was evaluated. The DNAs of all patients and healthy children were isolated from whole blood samples and the susceptibility to develop ototoxicity was evaluated by studying *GSTM3* (CTC/del) rs36120609, *SLC31A1* (T>G) rs10981694, *ACYP2* (G>A) rs1872328. In the control group, the frequency of these polymorphisms in the Turkish population was determined and its significant for the risk of ototoxicity was evaluated.

Results: Hearing in 24 patients (70%) in the study was normal (stage 0). Hearing loss was observed in 6 patients (17.4%) in grade 1, in 3 patients (9%) in patient grade 2, in 1 patient (3%) in grade 3. The cumulative dose of cisplatin was ≥ 400 mg/m² and the cumulative carboplatin dose was ≥ 1500 mg/m². The age, the age of diagnosis, and the time elapsed after taking medication were not significant in increasing the risk of hearing loss. In healthy Turkish children, the frequency of *GSTM3* del allele was 13.5%, *SLC31A1* G allele was 10.5%, and the *ACYP2* gene A allele carrier was 5%. The frequency of *GSTM3* del allele and *SLC31A1* G allele were found to be higher in patients with hearing loss and in patients with normal hearing, respectively. However, these difference were not statistically significant.

Conclusion: There was no significant relationship between gender, ≥ 400 mg / m² cisplatin and ≥ 1500 mg / m² carboplatin cumulative dose, being diagnosed under the age of 5, and the time after taking the drug. *GSTM3*, *SLC31A1* and *ACYP2* genes had no statistically role in ototoxicity. However, the frequency of *GSTM3* del allele was found to be higher in patients with hearing loss. The del allele was thought to increase the risk of ototoxicity after exposure to platinum, as a result of decreased detoxification efficiency of the *GSTM3* gene. Also, the frequency of *SLC31A1* G allele was increased in patients with normal hearing. It was thought that rs10981694 polymorphism might be preventive against ototoxicity by preventing cochlear uptake of platinum group drugs by disrupting *CTR1* function.

Key Words: Ototoxicity, cisplatin, carboplatin, polymorphisms

9. KAYNAKLAR

1. Castel V, Berlanga P. Ototoxicity: a worrying problem for survivors of high-risk neuroblastoma. *Transl Cancer Res* 2014 Dec;3(6):521-524.
2. Blakley BW, Myers SF. Patterns of Hearing Loss Resulting from cis-Platinum Therapy. *Otolaryngol Neck Surg*. 1993 Sep 1;109(3):385–91.
3. Brock PR, Bellman SC, Yeomans EC, Pinkerton CR, Pritchard J. Cisplatin ototoxicity in children: a practical grading system. *Med Pediatr Oncol*. 1991;19(4):295–300.
4. Li Y, Womer RB, Silber JH. Predicting cisplatin ototoxicity in children: The influence of age and the cumulative dose. *Eur J Cancer*. 2004;40(16):2445–51.
5. Jw VA, H VDB, Ec VD. Platinum-induced hearing loss after treatment for childhood cancer (Review). *Cochrane Database Syst Rev*.2016;(8).
6. Brooks B, Knight K. Ototoxicity monitoring in children treated with platinum chemotherapy chemotherapy. *Int J Audiol*. 2018;00(00):1–7.
7. Brock PR, Knight KR, Freyer DR, Campbell KCM, Steyger PS, Blakley BW, et al. Platinum-induced ototoxicity in children: a consensus review on mechanisms, predisposition, and protection, including a new International Society of Pediatric Oncology Boston ototoxicity scale. *J Clin Oncol*. 2012 Jul;30(19):2408–17.

8. Knight KRG, Kraemer DF, Neuwelt EA. Ototoxicity in children receiving platinum chemotherapy: Underestimating a commonly occurring toxicity that may influence academic and social development. *J Clin Oncol.* 2005;23(34):8588–96.
9. Waissbluth S, Peleva E, Daniel SJ. Platinum-induced ototoxicity : a review of prevailing ototoxicity criteria. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2017;274(3):1187–96.
10. Ilveskoski I, Saarinen UM, Wiklund T, Perkkio M, Salmi TT, Lanning M, et al. Ototoxicity in children with malignant brain tumors treated with the “8 in 1” chemotherapy protocol. *Med Pediatr Oncol.* 1996 Jul;27(1):26–31.
11. Skinner R, Pearson ADJ, Amineddine HA, Mathias DB, Craft AW. Ototoxicity of cisplatin in children and adolescents. *Br J Cancer* 1990;61(6):927–31.
12. Parsons SK, Neault MW, Lehmann LE, Brennan LL, Eickhoff CE, Kretschmar CS, et al. Severe ototoxicity following carboplatin-containing conditioning regimen for autologous marrow transplantation for neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant.* 1998 Oct;22(7):669–74.
13. Weissenstein A, Deuster D, Knief A, Zehnhoff-Dinnesen AA, Schmidt C-M. Progressive hearing loss after completion of cisplatin chemotherapy is common and more pronounced in children without spontaneous otoacoustic emissions before chemotherapy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2012

Jan;76(1):131–6.

14. Oldenburg J, Kraggerud SM, Cvancarova M, Lothe RA, Fossa SD. Cisplatin-induced long-term hearing impairment is associated with specific glutathione S-transferase genotypes in testicular cancer survivors. *J Clin Oncol*. 2007;25(6):708–14.
15. Ross CJD, Katzov-eckert H, Dubé M, Brooks B, Rassekh SR, Barhdadi A, et al. Genetic variants in TPMT and COMT are associated with hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *Nat Genet* 2009 Dec;41(12):1345-1349.
16. Ries L, Melbert D, Krapcho M, Mariotto A, Miller B, Feuer E, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2003, National Cancer Institute. Bethesda, MD. URL: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2003/. May 18, 2020.
17. Kutluk MT, Yeşilipek MA. Pediatric Cancer Registry in Turkey (Turkish Pediatric Oncology Group & Turkish Pediatric Hematology Association). *J Glob Oncol* 2018 Sep 28;4(Supplement 2):67-67.
18. O'Dwyer PJ, Stevenson JP, Johnson SW. Clinical pharmacokinetics and administration of established platinum drugs. *Drugs*. 2000;59(Suppl 4):19–27.
19. Musiek FE, Baran JA. The Auditory System: Anatomy, Physiology, and Clinical Correlates. 2nd ed. Canada. Plural Publishing; 2020.

20. Arıncı K, Elhan A. Anatomi, Cilt 1. 2nd ed. Ankara. Güneş Kitabevi Limited şirketi; 2006.
21. Akyıldız A. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi, Cilt 1. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998. 35–57 p.
22. Aslan A, Belgin E. Kulak anatomisi ve işitme fizyolojisi. In: Koç C, editor. Kulak Burun Bogaz Hastalıkları ve Bas-Boyun Cerrahisi. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2004. p. 45–71.
23. Austin D. Kulak anatomisi. In: Ballenger J, Snow J, editors. Otolaringoloji -Bas ve Boyun Cerrahisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. p. 838–57.
24. Wu X, Zuo J. Cellular and Molecular Mechanisms of Mechanical Amplification in the Mammalian Cochlea. In: Lajtha A, Johnson DA, editors. Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Sensory Neurochemistry [Internet]. Boston, MA: Springer US; 2007. p. 93–108.
25. Barret K, Barman S, Boitano S, Brooks H. Ganong's Review of Medical Physiology. 24th ed. New York, McGraw-Hill Medical; 2012.
26. Flint PW, Haughey BH, Niparko JK, Richardson MA, Lund VJ, Robbins KT, et al. Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery E-Book: Head and Neck Surgery, 3-Volume Set [Internet]. Elsevier Health Sciences; 2010.

27. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external and middle ear. In: cummings charles w., editor. Otolaryngology-Head and Neck Surgery Vol 4, StLuis Missouri: Mosby Year Book. 1993. p. 2483–96.
28. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Çelik O, editor. Asya Tıp Kitabevi; 2007. 1–35, 63–76, 269–282 p.
29. Schratzenstaller B, Janssen T, Alexiou C, Arnold W. Confirmation of G. von Bekesy’s theory of paradoxical wave propagation along the cochlear partition by means of bone-conducted auditory brainstem responses. J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2000;62(1):1–8.
30. John Edward Hall. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12th ed. USA: Elsevier, 2011.
31. Russell IJ. Origin of the receptor potential in inner hair cells of the mammalian cochlea- Evidence for Davis’ theory. Nature 1983;301(5898):334–6.
32. Dobie RA, Van Hemel SB, on Disability Determination for Individuals with Hearing Impairments C. Hearing Loss: Determining Eligibility for Social Security Benefits. National Academies Press; 2005.
33. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi II. Cilt. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi; 2002.

34. Arslan E, Orzan E, Santarelli R. Global problem of drug-induced hearing loss. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Nov;884:1–14.
35. Cianfrone G, Pentangelo D, Cianfrone F, Mazzei F, Turchetta R, Orlando MP, et al. Pharmacological drugs inducing ototoxicity, vestibular symptoms and tinnitus: a reasoned and updated guide. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011 Jun;15(6):601–36.
36. 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.
37. Fausti SA, Larson VD, Noffsinger D, Wilson RH, Phillips DS, Fowler CG. High-frequency audiometric monitoring strategies for early detection of ototoxicity. *Ear Hear.* 1994 Jun;15(3):232–9.
38. Durrant JD, Campbell K, Fausti S, Guthrie OW, Jacobson G, Lonsbury-Martin BL, et al. American academy of audiology position statement and clinical practice guidelines: ototoxicity monitoring. *Am Acad Audiol.* 2009;(October):1–25.
39. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2007 Aug;7(8):573–84.
40. Dasari S, Bernard Tchounwou P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014;740:364–78.

41. Boulikas T, Pantos A, Bellis E, Christofis P. Designing platinum compounds in cancer: structures and mechanisms. *Cancer Ther.* 2007;5:537–83.
42. Siddik ZH. Cisplatin: Mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene.* 2003;22(47 Rev. Iss. 6):7265–79.
43. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2005 Apr;4(4):307–20.
44. Peng B, English MW, Boddy A V, Price L, Wyllie R, Pearson AD, et al. Cisplatin pharmacokinetics in children with cancer. *Eur J Cancer.* 1997 Oct;33(11):1823–8.
45. Ruggiero A, Trombatore G, Triarico S, Arena R, Ferrara P, Scalzone M, et al. Platinum Compounds in Children with Cancer : Toxicity and Clinical Management. *Anticancer Drugs.* 2013;(Table 1):1007–19.
46. Van der Vijgh WJF. Clinical Pharmacokinetics of Carboplatin. *Clin Pharmacokinet.* 1991;21(4):242–61.
47. Louvet C, Lorange A, Letendre F, Beaulieu R, Pretty HM, Courchesne Y, et al. Acute and delayed emesis after cisplatin-based regimen: description and prevention. *Oncology.* 1991;48(5):392–6.
48. Gietema JA, Meinardi MT, Messerschmidt J, Gelevert T, Alt F, Uges DR, et al. Circulating plasma platinum more than 10 years after cisplatin

treatment for testicular cancer. *Lancet* 2000 Mar; 355(9209):1075–6.

49. Thomas Dickey D, Muldoon LL, Kraemer DF, Neuwelt EA. Protection against cisplatin-induced ototoxicity by N-acetylcysteine in a rat model. *Hear Res.* 2004 Jul;193(1–2):25–30.
50. Altundag O, Celik I, Kars A. Recurrent asymptomatic bradycardia episodes after cisplatin infusion. *The Annals of Pharmacotherapy* 2001 May; 35(5):641-2.
51. Hashimi LA, Khalyl MF, Salem PA. Supraventricular tachycardia. A probable complication of platinum treatment. *Oncology.* 1984;41(3):174–5.
52. Ta LE, Espeset L, Podratz J, Windebank AJ. Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology.* 2006 Dec;27(6):992–1002.
53. Amptoulach S, Tsavaris N. Neurotoxicity caused by the treatment with platinum analogues. *Chemother Res Pract.* 2011;2011:843019.
54. McKeage MJ. Comparative Adverse Effect Profiles of Platinum Drugs. *Drug Saf.* 1995;13(4):228–44.
55. Hartmann JT, Lipp H-P. Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin Pharmacother.* 2003 Jun;4(6):889–901.
56. Launay-Vacher V, Rey J-B, Isnard-Bagnis C, Deray G, Daouphars M. Prevention of cisplatin nephrotoxicity: state of the art and

recommendations from the European Society of Clinical Pharmacy Special Interest Group on Cancer Care. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008 May;61(6):903–9.

57. English MW, Skinner R, Pearson ADJ, Price L, Wyllie R, Craft AW. Dose-related nephrotoxicity of carboplatin in children. *Br J Cancer* 1999;81(2):336–41.
58. Lambert MP, Shields C, Meadows AT. A retrospective review of hearing in children with retinoblastoma treated with carboplatin-based chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer*. 2008 Feb;50(2):223–6.
59. Langer T, Zehnhoff-dinnesen A, Radtke S, Meitert J, Zolk O. Understanding platinum-induced ototoxicity. *Trends Pharmacol Sci* 2013;34(8):458–69.
60. Grewal S, Merchant T, Reymond R, McInerney M, Hodge C, Shearer P. Auditory late effects of childhood cancer therapy: a report from the Children’s Oncology Group. *Pediatrics*. 2010 Apr;125(4):938-50.
61. Schweitzer VG. Cisplatin-induced ototoxicity: the effect of pigmentation and inhibitory agents. *Laryngoscope* 1993 Apr;103(4 Pt 2):1–52.
62. Hinojosa R, Riggs LC, Strauss M, Matz GJ. Temporal bone histopathology of cisplatin ototoxicity. *Am J Otol*. 1995 Nov;16(6):731–40.
63. Hyppolito MA, De Oliveira JAA. Ototoxycity, otoprotection and self

- defense of the cochlear outer hair cells. *Medicina (B Aires)*. 2005;38(3):279-289.
64. Lee JE, Nakagawa T, Kita T, Kim TS, Iguchi F, Endo T, et al. Mechanisms of apoptosis induced by cisplatin in marginal cells in mouse stria vascularis. *J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2004;66(3):111–8.
 65. Dalian D, Haiyan J, Yong F, Salvı R, Someya S, Tanokura M. Ototoxic effects of carboplatin in organotypic cultures in chinchillas and rats. *J Otol*. 2012;7(2):92–102.
 66. Neuwelt EA, Brummett RE, Remsen LG, Kroll RA, Pagel MA, McCormick CI, et al. In vitro and animal studies of sodium thiosulfate as a potential chemoprotectant against carboplatin-induced ototoxicity. *Cancer Res*. 1996 Feb;56(4):706–9.
 67. Gonçalves MS, Silveira AF, Teixeira AR, Hyppolito MA. Mechanisms of cisplatin ototoxicity: theoretical review. *J Laryngol Otol* 2013;127(6):536–41.
 68. Olgun Y. Cisplatin ototoxicity: Where we are? *J Int Adv Otol*. 2013 Jul 1;9:403–16.
 69. Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V. Cisplatin ototoxicity and protection: clinical and experimental studies. *Tohoku J Exp Med*. 2009 Nov;219(3):177–86.

70. Mukherjea D, Jajoo S, Whitworth C, Bunch JR, Turner JG, Rybak LP, et al. Short interfering RNA against transient receptor potential vanilloid 1 attenuates cisplatin-induced hearing loss in the rat. *J Neurosci*. 2008 Dec;28(49):13056–65.
71. Jamesdaniel S, Manohar S, Hinduja S. Is S-nitrosylation of cochlear proteins a critical factor in cisplatin-induced ototoxicity? *Antioxid Redox Signal* 2012 Oct 1;17(7):929–33.
72. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 1982 Nov;47(5):412–26.
73. Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar;393(4):561–4.
74. Campbell KCM, Kalkanis J, Glatz FR. Ototoxicity: mechanisms, protective agents, and monitoring. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000;8(5):436–40.
75. Bánfi B, Malgrange B, Knisz J, Steger K, Dubois-Dauphin M, Krause K-H. NOX3, a superoxide-generating NADPH oxidase of the inner ear. *J Biol Chem*. 2004 Oct;279(44):46065–72.
76. Ikeda K, Sunose H, Takasaka T. Effects of free radicals on the intracellular calcium concentration in the isolated outer hair cell of the guinea pig cochlea. *Acta Otolaryngol*. 1993 Mar;113(2):137–41.

77. Zheng J, Dai C, Steyger PS, Kim Y, Vass Z, Ren T, et al. Vanilloid receptors in hearing: altered cochlear sensitivity by vanilloids and expression of TRPV1 in the organ of corti. *J Neurophysiol.* 2003 Jul;90(1):444–55.
78. Rybak LP, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Prevention. *Semin Hear.* 2019;40(2):197–204.
79. Yancey A, Harris MS, Egbelakin A, Gilbert J, Pisoni DB, Renbarger J. Risk factors for cisplatin-associated ototoxicity in pediatric oncology patients. *Pediatr Blood Cancer.* 2012 Jul;59(1):144–8.
80. Olgun Y, Aktaş S, Altun Z, Kırkım G, Kızmazoğlu DÇ, Erçetin AP, et al. Analysis of genetic and non genetic risk factors for cisplatin ototoxicity in pediatric patients. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol [Internet].* 2016;90:64–9.
81. Kilicdag EB, Yavuz H, Bagis T, Tarim E, Erkan AN, Kazanci F. Effects of estrogen therapy on hearing in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(1):77–82.
82. Paken J, Govender CD, Pillay M, Sewram V. Cisplatin-Associated Ototoxicity: A Review for the Health Professional. *J Toxicol.* 2016;2016.
83. Kırkım G, Aktas S, Kolatan EH, Altun Z. Is there a gender-related susceptibility for cisplatin ototoxicity? *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2015 Oct;272(10):2755-63.

84. Murakami T, Inoue S, Sasaki K, Fujimoto T. Studies on age-dependent plasma platinum pharmacokinetics and ototoxicity of cisplatin. *Sel Cancer Ther.* 1990;6(3):145–51.
85. Dean JB, Hayashi SS, Albert CM, King AA, Karzon R, Hayashi RJ. Hearing loss in pediatric oncology patients receiving carboplatin-containing regimens. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2008;30(2):130–4.
86. Gratton MA, Smyth BJ. Ototoxicity of platinum compounds. *Ototoxicity.* Hamilton, BC Decker Inc. 2004;60–75.
87. Schacht J, Talaska AE, Rybak LP. Cisplatin and aminoglycoside antibiotics: hearing loss and its prevention. *Anat Rec (Hoboken)* 2012 Nov;295(11):1837–50.
88. Rybak LP, Ramkumar V. Ototoxicity. *Kidney International* 2007 Oct;72(8):931–5.
89. Kros CJ, Steyger PS. Aminoglycoside- and Cisplatin-Induced Ototoxicity: Mechanisms and Otoprotective Strategies. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2019 Nov 1;9(11).
90. Ding D, Liu H, Qi W, Jiang H, Li Y, Wu X, et al. Ototoxic effects and mechanisms of loop diuretics. *J Otol* 2016;11(4):145–56.
91. Bohne BA, Marks JE, Glasgow GP. Delayed effects of ionizing radiation on the ear. *Laryngoscope.* 1985 Jul;95(7 Pt 1):818–28.

92. Lanvers-Kaminsky C, Krefeld B, Dinnesen AG, Deuster D, Seifert E, Würthwein G, et al. Continuous or repeated prolonged cisplatin infusions in children: A prospective study on ototoxicity, platinum concentrations, and standard serum parameters. *Pediatr Blood Cancer* 2006;47(2):183–93.
93. Jain M, Kumar S, Lal P, Tiwari A, Ghoshal UC, Mittal B. Role of GSTM3 polymorphism in the risk of developing esophageal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(1):178–81.
94. Mukherjee D, Rybak LP. Pharmacogenomics of cisplatin-induced ototoxicity. *Pharmacogenomics* 2011 Jul;12(7):1039–50.
95. Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J.* 2001 Nov;360(Pt 1):1–16.
96. Barbary A, Altschuler RA, Schacht J. Glutathione S-transferases in the organ of Corti of the rat: enzymatic activity, subunit composition and immunohistochemical localization. *Hear Res.* 1993 Dec;71(1–2):80–90.
97. Hao XY, Widersten M, Ridderström M, Hellman U, Mannervik B. Co-variation of glutathione transferase expression and cytostatic drug resistance in HeLa cells: establishment of class Mu glutathione transferase M3-3 as the dominating isoenzyme. *Biochem J.* 1994 Jan;297 (Pt 1):59–67.

98. Yengi L, Inskip A, Gilford J, Alldersea J, Bailey L, Smith A, et al. Polymorphism at the glutathione S-transferase locus GSTM3: interactions with cytochrome P450 and glutathione S-transferase genotypes as risk factors for multiple cutaneous basal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1996 May;56(9):1974–7.
99. Mann CLA, Davies MB, Boggild MD, Alldersea J, Fryer AA, Jones PW, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms in MS. *Neurology* 2000 Feb 8;54(3):552– 552.
100. Checa-Rojas A, Delgadillo-Silva LF, Velasco-Herrera MDC, Andrade-Domínguez A, Gil J, Santillán O, et al. GSTM3 and GSTP1: novel players driving tumor progression in cervical cancer. *Oncotarget.* 2018 Apr;9(31):21696–714.
101. Schnakenberg E, Breuer R, Werdin R, Dreikorn K, Schloot W. Susceptibility genes: GSTM1 and GSTM3 as genetic risk factors in bladder cancer. *Cytogenet Cell Genet.* 2000;91(1–4):234–8.
102. Kesarwani P, Singh R, Mittal RD. Association of GSTM3 intron 6 variant with cigarette smoking, tobacco chewing and alcohol as modifier factors for prostate cancer risk. *Arch Toxicol.* 2009;83(4):351–6.
103. Jourenkova-Mironova N, Voho A, Bouchardy C, Wikman H, Dayer P, Benhamou S, et al. Glutathione S-transferase GSTM3 and GSTP1 genotypes and larynx cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999

Feb;8(2):185–8.

104. Loktionov A, Watson MA, Gunter M, Stebbings WSL, Speakman CTM, Bingham SA. Glutathione-S-transferase gene polymorphisms in colorectal cancer patients: interaction between GSTM1 and GSTM3 allele variants as a risk-modulating factor. *Carcinogenesis* 2001 Jul 1;22(7):1053–60.
105. Mitrunen K, Jourenkova N, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Benhamou S, et al. Glutathione S-transferase M1, M3, P1, and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001 Mar;10(3):229–36.
106. Peters U, Preisler-Adams S, Hebeisen A, Hahn M, Seifert E, Lanvers C, et al. Glutathione S-transferase genetic polymorphisms and individual sensitivity to the ototoxic effect of cisplatin. *Anticancer Drugs*. 2000;11(8):639–43.
107. Lui G, Bouazza N, Denoyelle F, Moine M, Brugières L, Chastagner P, et al. Association between genetic polymorphisms and platinum-induced ototoxicity in children. *Oncotarget*. 2018;9(56):30883–93.
108. Ishida S, Lee J, Thiele DJ, Herskowitz I. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Oct;99(22):14298–302.
109. Holzer AK, Katano K, Klomp LWJ, Howell SB. Cisplatin rapidly down-regulates its own influx transporter hCTR1 in cultured human ovarian

carcinoma cells. Clin cancer Res 2004 Oct;10(19):6744–9.

110. Öhrvik H, Thiele DJ. The role of Ctr1 and Ctr2 in mammalian copper homeostasis and platinum-based chemotherapy. J Trace Elem Med Biol 2015;31:178–82.
111. Lee J, Petris MJ, Thiele DJ. Characterization of mouse embryonic cells deficient in the ctr1 high affinity copper transporter. Identification of a Ctr1-independent copper transport system. J Biol Chem. 2002 Oct;277(43):40253–9.
112. Holzer AK, Samimi G, Katano K, Naerdemann W, Lin X, Safaei R, et al. The copper influx transporter human copper transport protein 1 regulates the uptake of cisplatin in human ovarian carcinoma cells. Mol Pharmacol. 2004 Oct;66(4):817–23.
113. More SS, Akil O, Ianculescu AG, Geier EG, Lustig LR, Giacomini KM. Role of the Copper Transporter, CTR1, in Platinum-Induced Ototoxicity. J Neurosci 2010;30(28):9500–9.
114. Xu X, Duan L, Zhou B, Ma R, Zhou H, Liu Z. Genetic polymorphism of copper transporter protein 1 is related to platinum resistance in Chinese non-small cell lung carcinoma patients. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2012 Sep;39(9):786–92.
115. Li T, Peng J, Zeng F, Zhang K, Liu J, Li X, et al. Association between polymorphisms in CTR1, CTR2, ATP7A, and ATP7B and platinum

resistance in epithelial ovarian cancer. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2017;55(10):774–80.

116. Wu J, Wang S, Liu F, Li S. Single Nucleotide Polymorphisms in the Acylphosphatase 2 Gene and The SNP-SNP Interactions on the Risk of Breast Cancer in Chinese Han Women. *Clin Breast Cancer* 2018;18(3):329–33.
117. Degl’Innocenti D, Marzocchi R, Rosati F, Cellini E, Raugei G, Ramponi G. Acylphosphatase expression during macrophage differentiation and activation of U-937 cell line. *Biochimie.* 1999 Nov;81(11):1031–5.
118. Drogemoller BI, Brooks B, Critchley C, Monzon JG, Wright GEB, Liu G, et al. Further investigation of the role of ACYP2 and WFS1 pharmacogenomic variants in the development of cisplatin-induced ototoxicity in testicular cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2018;24(8):1866–71.
119. Giannoni E, Cirri P, Paoli P, Fiaschi T, Camici G, Manao G, et al. Acylphosphatase is a strong apoptosis inducer in HeLa cell line. *Mol Cell Biol Res Commun.* 2000 May;3(5):264–70.
120. Xu H, Robinson GW, Huang J, Lim JYS, Zhang H, Bass JK, et al. Common variants in ACYP2 influence susceptibility to cisplatin-induced hearing loss. *Nat Genet.* 2015;47(3):263–6.
121. Chen N, Yang X, Guo W, You J, Wu Q, Zhang G, et al. Association of

- polymorphisms in the telomere-related gene ACYP2 with lung cancer risk in the Chinese Han population. *Oncotarget*. 2016;7(52):87473–8.
122. Liu F, Zhang Z, Zhang Y, Chen Y, Yang X, Li J, et al. Genetic polymorphisms in the telomere length-related gene ACYP2 are associated with the risk of colorectal cancer in a Chinese Han population. *Oncotarget*. 2017;8(6):9849–57.
 123. Oguri T, Mitsuma A, Inada-Inoue M, Morita S, Shibata T, Shimokata T, et al. Genetic polymorphisms associated with oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity in Japanese patients with colorectal cancer. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2013;51(6):475—481.
 124. Liang Y, Zhang R, Zhang S, Ji G, Shi P, Yang T, et al. Association of ACYP2 and TSPYL6 Genetic Polymorphisms with Risk of Ischemic Stroke in Han Chinese Population. *Mol Neurobiol*. 2017;54(8):5988-5995.
 125. Codd V, Nelson CP, Albrecht E, Mangino M, Deelen J, Buxton JL, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet*. 2013 Apr;45(4):422–7, 427e1-2.
 126. Smith-Olinde L. Clinical Audiology: An Introduction. *Ear and Hearing*. 1998;19(6):485.
 127. Landier W. Ototoxicity and Cancer Therapy. *Cancer*. 2016 Jun 1 ;122(11):1647–58.

128. Kamişli G, Mengü G, Bayramoğlu İ, Kemaloğlu Y. Konuşma Odyometrisi ve Çocuklar İçin Konuşma Listeleri Gelişmesi Üzerine Bir Derleme. Türkiye Klin. 2015;8:13–25.
129. Marshak T, Steiner M, Kaminer M, Levy L, Shupak A. Prevention of Cisplatin-Induced Hearing Loss by Intratympanic Dexamethasone: A Randomized Controlled Study. Otolaryngol Head Neck Surg 2014 Jun;150(6):983–90.
130. Kuduban O, Kucur C, Sener E, Suleyman H, Akcay F. The Role of Thiamine Pyrophosphate in Prevention of Cisplatin Ototoxicity in an Animal Model. Oghan F, Cingi C, editors. Sci World J. 2013 Sep 16;2013:182694.
131. Hofstetter P, Ding D, Powers N, Salvi RJ. Quantitative relationship of carboplatin dose to magnitude of inner and outer hair cell loss and the reduction in distortion product otoacoustic emission amplitude in chinchillas. Hear Res. 1997 Oct;112(1–2):199–215.
132. Khairi Md Daud M, Noor RM, Rahman NA, Sidek DS, Mohamad A. The effect of mild hearing loss on academic performance in primary school children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2010 Jan;74(1):67–70.
133. Bess FH, Dodd-Murphy J, Parker RA. Children with minimal sensorineural hearing loss: prevalence, educational performance, and functional status. Ear Hear. 1998 Oct;19(5):339–54.

134. Arora R, Thakur J, Azad R, Mohindroo N, Sharma D, Seam R. Cisplatin-based chemotherapy: Add high-frequency audiometry in the regimen. *Indian J Cancer*. 2009 Oct 1;46(4):311–7.
135. Clemens E, Brooks B, De Vries ACH, van Grotel M, van den Heuvel-Eibrink MM, Carleton B. A comparison of the Muenster, SIOP Boston, Brock, Chang and CTCAEv4.03 ototoxicity grading scales applied to 3,799 audiograms of childhood cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *PLoS One*. 2019;14(2):1–15.
136. Bertolini P, Lassalle M, Mercier G, Raquin MA, Izzi G, Corradini N, et al. Platinum compound-related ototoxicity in children: long-term follow-up reveals continuous worsening of hearing loss. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004 Oct;26(10):649–55.
137. Jehanne M, Lumbroso-Le Rouic L, Savignoni A, Aerts I, Mercier G, Bours D, et al. Analysis of ototoxicity in young children receiving carboplatin in the context of conservative management of unilateral or bilateral retinoblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2009 May;52(5):637–43.
138. Qaddoumi I, Bass JK, Wu J, Billups CA, Wozniak AW, Merchant TE, et al. Carboplatin-associated ototoxicity in children with retinoblastoma. *J Clin Oncol* 2012 Apr;30(10):1034–41.
139. Nitz A, Kontopantelis E, Bielack S, Koscielniak E, Klingebiel T, Langer T, et al. Prospective evaluation of cisplatin- and carboplatin-mediated

ototoxicity in paediatric and adult soft tissue and osteosarcoma patients.

Oncol Lett. 2013 Jan;5(1):311–5.

140. Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT, Kollmannsberger C, Schmoll HJ, Kuczyk MA, et al. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. Br J Cancer. 1998 Apr;77(8):1355–62.
141. Coradini PP, Cigana L, Selistre SGA, Rosito LS, Brunetto AL. Ototoxicity from cisplatin therapy in childhood cancer. J Pediatr Hematol Oncol. 2007 Jun;29(6):355–60.
142. Waissbluth S, Del Valle Á, Chuang A, Becker A. Incidence and associated risk factors for platinum-induced ototoxicity in pediatric patients. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2018 Aug;111:174–9.
143. Simon T, Hero B, Dupuis W, Selle B, Berthold F. The incidence of hearing impairment after successful treatment of neuroblastoma. Klin Padiatr. 2002;214(4):149–52.
144. Nitz A, Kontopantelis E, Bielack S, Koscielniak E, Klingebiel T, Langer T, et al. Prospective evaluation of cisplatin- and carboplatin-mediated ototoxicity in paediatric and adult soft tissue and osteosarcoma patients. Oncol Lett. 2012;5(1):311–5.
145. Einarsson EJ, Petersen H, Wiebe T, Fransson PA, Grenner J, Magnusson M, et al. Long term hearing degeneration after platinum-based chemotherapy in childhood. Int J Audiol. 2010 Oct;49(10):765–71.

146. Clemens E, de Vries AC, Pluijm SF, Am Zehnhoff-Dinnesen A, Tissing WJ, Loonen JJ, et al. Determinants of ototoxicity in 451 platinum-treated Dutch survivors of childhood cancer: A DCOG late-effects study. *Eur J Cancer*. 2016 Dec;69:77–85.
147. Lewis MJ, DuBois SG, Fligor B, Li X, Goorin A, Grier HE. Ototoxicity in children treated for osteosarcoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2009 Mar;52(3):387–91.
148. Yasui N, Adachi N, Kato M, Koh K, Asanuma S, Sakata H, et al. Cisplatin-induced hearing loss: the need for a long-term evaluating system. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2014 May;36(4):e241-5.
149. Wibowo JK, Zizlavsky S, Suwento R, Sjakti HA, Prihartono J. The incidence of ototoxicity in child malignancy cases that received carboplatin therapy with otoacoustic emission ({OAE}) examination. *J Phys Conf Ser*. 2017;884:12126.
150. Lanvers-Kaminsky C, Ciarimboli G. Pharmacogenetics of drug-induced ototoxicity caused by aminoglycosides and cisplatin. *Pharmacogenomics*. 2017;18(18):1683–95.
151. Li Y, Ding D, Jiang H, Fu Y, Salvi R. Co-administration of cisplatin and furosemide causes rapid and massive loss of cochlear hair cells in mice. *Neurotox Res*. 2011 Nov;20(4):307–19.
152. Oldenburg J, Fosså SD, Ikdahl T. Genetic variants associated with

cisplatin-induced ototoxicity. *Pharmacogenomics*. 2008;9(10):1521–30.

153. Khrunin A V, Moisseev A. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J*. 2010;(July 2009):54–61.
154. Khrunin A V, Moisseev A, Gorbunova V, Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J*. 2010 Feb;10(1):54–61.
155. Nakajima T, Elovaara E, Anttila S, Hirvonen A, Camus AM, Hayes JD, et al. Expression and polymorphism of glutathione s-transferase in human lungs: Risk factors in smoking-related lung cancer. *Carcinogenesis*. 1995;16(4):707–11.
156. Kilari D, Guancial E, Kim ES. Role of copper transporters in platinum resistance. *World J Clin Oncol*. 2016;7(1):106–13.
157. Teft WA, Winkquist E, Nichols AC, Kuruvilla S, Richter S, Parker C, et al. Predictors of cisplatin-induced ototoxicity and survival in chemoradiation treated head and neck cancer patients. *Oral Oncol*. 2019 Sep ;89:72–8.
158. Wang N, Qiao Q, Bao G, Wu T, Li Y, Li J, et al. Genetic polymorphisms are associated with the risk of gastric and colorectal cancers in a Han Chinese population. *Oncotarget*. 2017;8(17):28805–11.

159. Thiesen S, Yin P, Jorgensen AL, Zhang JE, Manzo V, Mcevoy L, et al. TPMT , COMT and ACYP2 genetic variants in paediatric cancer patients with cisplatin-induced ototoxicity. *Pharmacogenet Genomics* 2017 Jun;27(6):213-222.
160. Vos HI, Guchelaar HJ, Gelderblom H, De Bont ESJM, Kremer LCM, Naber AM, et al. Replication of a genetic variant in ACYP2 associated with cisplatin-induced hearing loss in patients with osteosarcoma. *Pharmacogenet Genomics*. 2016;26(5):243–7.

10. EKLER

EK-1: Çocuk hasta için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

**GAZİ ÜNİVERSİTESİNDE
18 YAŞ ALTI HASTALARDA YAPILACAK
“GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR” DA
YER ALACAK “ÇOCUK HASTALAR” İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ**

Araştırma Projesinin Adı: Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI
Diğer Araştırmacıların Adı : Araştırma Görevlisi Dr. Betül KARGI

Destekleyici (varsa): Prof.Dr. Ceyda KARADENİZ, Prof. Dr. Metin YILMAZ , Doç. Dr.Arzu OKUR, Uzm.Dr. Ferda PINARLI

Sevgili.....

Benim adım Betül KARGI. Senin şu andaki hastalığının tedavisinde kullanılan cisplatin veya karboplatin isimli ilaçlarla ilgili araştırma yapıyoruz.. Amacımız, araştırdığımız 2 ilacın iştihâ üzerinde yan etkisi olup olmadığını saptamak ve bu ilaçların iştihâyı etkilemesinde yatkınlık yaratan genetik değişiklikler olup olmadığını saptamaktır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçla senin gibi bu ilaçları alacak olan çocukların iştihâlerinin bozulmasını önlemek için önceden hangi önlemleri alabiliriz belirlemek istiyoruz.

Araştırmaya ben ve bazı başka doktorlar katılacaklar. Eğer sen de bu araştırmaya katılmayı istersen, sana ilk olarak iştihâ testi yapılacak ve senin kulağındaki duymayı sağlayan hücrelerde hasar olup olmadığını saptanacaktır. Ayrıca rutin tedavin sırasında zaten senden alınacak olan kanda bu çalışma yürütülecektir.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak senin adın ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Bu araştırma hakkında anne ve babana bilgi vereceğiz ve senin de bu çalışmaya katılıp katılmaman için onlardan izin alacağız. Sen de bu konuyu anne ve/veya baban ile konuşabilirsin. Eğer katılmak istemezsen hiç kimse sana kızmaz veya küsmez. Doktorlar sana önceden olduğu gibi iyi davranacak, tedavini aynen sürdürecektir.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim aşağıda yazıyor.

Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanı at. Daha sonra bu formun bir kopyası sana ve ailene verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı :

Adres:

Tel:

İmza:

EK-2: Çocuk hastaların ebeveynleri için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

**GAZİ ÜNİVERSİTESİNDE
ÇOCUK HASTALARDA YAPILACAK OLAN
“GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR”
İÇİN “EBEVEYN” BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMUÖRNEĞİ**

Araştırma Projesinin Adı: Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI

Diğer Araştırmacıların Adı: Araştırma Görevlisi Betül KARGI

Destekleyici (varsa): Prof. Dr. Ceyda KARADENİZ , Prof. Dr. Metin YILMAZ, Doç.Dr. Arzu OKUR ,Uzm. Dr Ferda PINARLI

Değerli anne ve babalar;

Çocuğunuzun, kliniğimizde yapılması planlanan ‘Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması’ isimli çalışmada yer alabilmesi için sizden izin istiyoruz. Çocuğunuzun bu çalışmaya davet edilmesinin nedeni hastalığı gereği cisplatin veya karboplatin isimli ilaçlardan biriyle tedavi edilmiş olmasıdır.

Bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır ve katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Çocuğunuzun çalışmaya katılması konusunda karar vermeden önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer çocuğunuzun katılmasını isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir. Bu araştırma hakkında çocuğunuza da bilgi vereceğiz ve ondan da bu çalışmaya katılması için izin alacağız.

Çalışmanın amaçları ve dayanağı nelerdir, çocuğumdan başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Bu çalışma ile mevcut hastalığı nedeni ile cisplatin veya karboplatin isimli iki ilactan birini almış olan çocukların işitmelerini değerlendirmek istiyoruz. Bu araştırma sonuçları ile bu iki ilacı alan hastalarda hangi grupta daha çok işitmede bozulma görüldüğünü , hangi durumlarda işitmenin daha çok etkilendiğini ve işitme üzerinde ortaya çıkabilecek yan etkileri kolaylaştıran genetik değişiklikleri saptayamayı amaçlıyoruz. Çalışmaya Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji bölümünde tedavi almış en az 25 kişinin katılması planlanmaktadır.

Çocuğum bu çalışmaya katılmalı mı? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çocuğunuzun bu çalışmada yer alıp alması tamamen size bağlıdır. Eğer katılmasına izin verirseniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalasanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda çocuğunuzu çalışmadan çekebilirsiniz. Eğer katılmasını istemezseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, doktorunuz tarafından çocuğunuz için en uygun tedavi planı uygulanacaktır. Aynı şekilde çalışmayı yürüten doktor çocuğunuzun çalışmaya devam etmesinin yararlı olmayacağına karar verebilir ve onu çalışma dışı bırakabilir.

Çocuğum bu çalışmaya katılırsa onu neler bekliyor?

(Aşağıdaki paragraf korunarak ilgili açıklamalar yapılmalıdır)

Bu araştırma kapsamında çocuğunuza, tedavisi için yapılan rutin işlemlerin dışında herhangi bir girişim yapılmayacaktır. Çalışma yalnızca, tedavisi veya izlemi sırasında zaten istenecek olan işitme testleri ve kan tetkikleri yapılacaktır.İşitme testi olarak hangi yöntemin kullanılacağı çocuğunuzun yaşına göre belirlenecektir.Pure-tone odyometri ve distorsiyon otoakustik emisyon adı verilen yöntemlerle çocuğunuz

EK-2: (devam) Çocuk hastaların ebeveynleri için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu devamı

ağrı veya acı hissi duymadan ses sinyalleri ile işitme fonksiyonu verilen ses şiddetine göre değerlendirilecektir. Tedavi sırasında alınmış kan tetkikleri ile de DNA analizi yapılarak GSTP1, GSTT1, GSTM3, SOD2 gibi genlerde mutasyon adı verilen değişiklikler olup olmadığı saptanacaktır. Çocuğunuzun bu çalışmada kalma süresi yaklaşık 1 yıl olarak düşünülmüştür.

Çalışmanın riskleri ve rahatsızlıkları nelerdir, çocuğumun görebileceği olası bir zarar durumunda ne yapılacaktır?

Hastada kan alındıktan sonra yalnızca kan alınan bölgede ağrı hissi , uzun süren kanama olabilir. İşitme testi girişimsel bir işlem olmadığı için çocuğunuz için risk taşımamaktadır. Yapılacak olan tüm tetkikler için gerekli işlemler de tarafımızca yürütülecektir.

Çocuğumun bu çalışmada yer almasının yararları nelerdir?

Bu çalışmanın amacı mevcut iki ilaçtan hangisinin işitme üzerinde daha çok etki bıraktığını , hangi faktörlerin işitmede bozulma riskini artırdığını saptayarak hastanın işitmesini korumak için tedaviye başlamadan önce gerekli önlemlerin alınmasını ve yüksek riskli olarak değerlendirilen hastalarda işitmenin yakından takip edilmesini sağlamaktır.

Çocuğumun bu çalışmaya katılmasının maliyeti nedir? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

Çocuğumun kişisel bilgileri nasıl kullanılacak? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışma doktorunuz çocuğunuz ile ilgili kişisel bilgileri, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak çocuğunuzun kimlik bilgileri gizli tutulacaktır. Yalnızca gereği halinde, çocuğunuz ile ilgili bilgileri etik kurullar ya da resmi makamlar inceleyebilir. Çalışmanın sonunda, sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız vardır. Çalışma sonuçları tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak çocuğunuzun kimliği açıklanmayacaktır.

Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim?

Çalışma ilacı ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksiniminiz olduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI	Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI
GÖREVİ	Çocuk Onkoloji Bilim Dalı – Öğretim Üyesi – Araştırma sorumlusu
TELEFON	312 202 60 21

(Katılımcı çocuğun ebeveyninin beyanı)

GÜTF Çocuk Onkoloji Bilim dalında, Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum.

Çocuğumun araştırmaya katılması konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer çocuğumun çalışmaya katılmasını reddedersem, bu durumun çocuğumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Çalışmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden çocuğumu araştırmadan çekebilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

EK-2: (devam) Çocuk hastaların ebeveynleri için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımızda; herhangi bir saatte, Dr. Betül KARGI ‘yı 312 202 60 40 telefondan ve Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalı’ndan arayabileceğimi biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla, çocuğumun söz konusu klinik araştırmaya katılmasını gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih :

AYDINLATMA ve KATILIMCININ BEYANI KESİNLİKLE BİRBİRLERİNİN DEVAMI ŞEKLİNDE OLACAKTIR. AYRI AYRI SAYFALARDA YER ALMAYACAKTIR.

EK-3: Sağlıklı çocuk bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

**GAZİ ÜNİVERSİTESİNDE
ÇOCUK HASTALARDA YAPILACAK
“GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR” DA YER ALACAK
“SAĞLIKLILAR” İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

Araştırma Projesinin Adı: Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI

Diğer Araştırmacıların Adı: Araştırma Görevlisi Dr. Betül KARGI

Destekleyici (varsa): Prof.Dr. Ceyda KARADENİZ, Prof. Dr. Metin YILMAZ , Doç. Dr..Arzu OKUR, Uzm. Dr. Ferda PINARLI

Sevgili.....

Benim adım Dr. Betül KARGI. Senin yaşlarında olup da hastalığı nedeni ile cisplatin ve karboplatin adı verilen ilaçları almış hastalarda bir araştırma yapıyoruz. Bu ilaçları alan çocukların işitmeleri etkilenebilmektedir. Amacımız , araştırdığımız bu ilaçların işitmeyi etkilemesinde yatkınlık yaratan genetik değişiklikler olup olmadığını saptamaktır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçla bu ilaçları alması gereken çocukların işitmelerinin bozulmasını önlemek için önceden hangi önlemleri alabiliriz belirlemek istiyoruz.

Bu araştırmayı sürdürebilmek için hasta çocukların yanı sıra onların yaşlarına yakın olan sağlıklı çocukları da araştırmaya katmamız gerekiyor. Araştırmaya ben, Dr.Betül KARGI ve bazı başka doktorlar katılacaklar. Eğer sen de bu araştırmaya katılmayı istersen senden kan alınacağı sırada ek olarak 1 tüpe daha kan alınması planlanmaktadır.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak senin adını ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Eğer bu çalışmaya katılırsan hasta çocukların daha güvenilir ve başarılı bir şekilde tanı almasına ve tedavi edilmesine katkı sağlamış olacaksın.

Bu araştırma hakkında anne ve babana bilgi vereceğiz ve senin de bu çalışmaya katılıp katılmaman için onlardan izin alacağız. Sen de bu konuyu anne ve/veya baban ile konuşabilirsin. Eğer katılmak istemezsen hiç kimse sana kızmaz veya küsmez.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim aşağıda yazıyor.

Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanı at. Daha sonra bu formun bir kopyası sana ve ailine verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı

Adres:

Tel:

İmza:

EK-4: Sağlıklı çocuk ebeveyni gönüllü olur formu

**GAZİ ÜNİVERSİTESİNDE
ÇOCUKLARDA YAPILACAK OLAN
“GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR” DA YER ALACAK
“SAĞLIKLI ÇOCUĞUN EBEVEYNİNE” YÖNELİK
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ**

Araştırma Projesinin Adı: Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI

Diğer Araştırmacıların Adı: Araştırma Görevlisi Dr. Betül KARGI

Destekleyici (varsa): Prof. Dr. Ceyda KARADENİZ , Prof. Dr. Metin YILMAZ, Doç.Dr. Arzu OKUR
Uzm.Dr Ferda PINARLI

Değerli anne ve babalar;

Benim adım Dr Betül KARGI. Sizin çocuğunuzun yaşlarında olup da çocuk onkoloji bölümünde hastalığı nedeni ile cisplatin ve karboplatin isimli iki kemoterapi ilacını alan çocuklarda bir araştırma yapıyoruz. Bu iki ilaç çocuklarda iştahı etkilemektedir. Amacımız, araştırdığımız bu ilaçların iştahı etkilemesinde yatkınlık yaratan genetik değişiklikler olup olmadığını saptamaktır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçla bu ilaçları alması gereken çocukların iştahlarının bozulmasını önlemek için önceden hangi önlemleri alabiliriz belirlemek istiyoruz.

Bu araştırmayı sürdürebilmek ve sonuçları doğru değerlendirilebilmek için aynı yaş gruplarında sağlıklı çocuklar ile karşılaştırılmalarına gereksinim vardır.

Araştırmaya ben, Dr.Betül KARGI ve bazı başka doktorlar katılacaklar. Eğer sizin çocuğunuzun da bu araştırmaya katılmasını isterseniz çocuğunuzdan istenen tek şey çocuğunuzdan kan alınacağı sırada ek olarak 1 tüpe daha kan alınması planlanmaktadır.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak sizin çocuğunuzun adını ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Eğer çocuğunuzun bu çalışmaya dahil edilmesine izin vererseniz kanser hastalığı nedeni ile cisplatin ve karboplatin ilaçlarını alan çocukların duyma fonksiyonları etkilenmeden önlem alınmasına veya erkenden iştah kaybının tedavisinin yapılmasına katkı sağlamış olacaksınız.

Bu araştırma hakkında çocuğunuza da bilgi vereceğiz ve ondan da bu çalışmaya katılması için izin alacağız. Aklınıza şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsiniz. Telefon numaram ve adresim aşağıda bulunmaktadır.

Çocuğunuzun bu araştırmaya katılmasını kabul ediyorsanız lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanızı atınız. Daha sonra bu formun bir kopyası size verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı

Adres:

Tel:

İmza:

EK-5: Genetik materyal araştırması için hasta bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

GENETİK MATERYAL ÜZERİNDE YAPILACAK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı:Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI

Diğer Araştırmacıların Adı: Araştırma Görevlisi Dr.Betül KARGI

Destekleyici (varsa): Prof. Dr. Ceyda KARADENİZ , Prof. Dr. Metin YILMAZ, Uzm. Dr. Ferda PINARLI , Doç.Dr. Arzu OKUR

“Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması ” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amacı ile yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

1. Genetik çalışmanın amacı ve dayanağı nelerdir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Bu çalışmaya davet edilmenizin nedeni sizin /çocuğunuzun hastalığı nedeni ile cisplatin veya karboplatin isimli ilaçlardan biriyle tedavi edilmiş olmasıdır. Bu ilaçların iştmei bozucu etkileri mevcuttur. Katılımınız ile bu ilaçların, iştmei etkileme riskini artıran etmenleri ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir.

Genler, DNA olarak isimlendirilen genetik materyalden oluşurlar. DNA hücrenin bir bölümüdür ve kalıtsal özelliklerin (göz rengi gibi) oluşmasından sorumludur. Bu ilaçların iştmei etkileme riskini artırması ile ilişkilendirilen çeşitli genler bulunmuştur. Bu araştırma ile sizin DNA'nızı çalışmak ve genlerinizde herhangi bir anormallik olup olmadığını ya da bu soruna neden olabilecek yeni genler olup olmadığını bulmak istiyoruz.

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji bölümünde tedavi almış en az 25 kişinin katılımı planlanmaktadır.

2. Bu genetik çalışmaya katılmamalı mıyım? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalasanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Böyle bir karar vermeniz durumunda tıbbi bakımınız bu durumdan etkilenmeyecektir.

3. Genetik araştırma nasıl yapılacak?

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz rutin kontrolleriniz sırasında alınan kanlara ek olarak kolunuzdan 1 tüp (5ml) kan alınacaktır.. Genellikle bir tek örnekleme yeterlidir ancak bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir

Alınan kan örneği “Myogen Laboratuvar ve Sağlık Hizmetleri ” isimli laboratuvar da tetkik edilecektir

Alınan kan örneğinden DNA'nız izole edilerek iştmenin etkilenmesinden sorumlu olduğu düşünülen genler çalışılacaktır

Genetik örnek çalışmanın tamamlanmasından sonra tıbbi atık usulüne uygun olarak imha edilecektir.

4.Tarafımdan alınan örnekler gelecekte de kullanılabilir mi?

(Bu bölümde katılımcıdan “Tabakalandırılmış olur” olarak isimlendirilen bir onay alınmalıdır. Aşağıda yazılı olan bölüm aynen korunarak katılımcının aşağıdaki 4 seçenekten birini işaretlemesi istenmelidir.)

EK-5: (devam) Genetik materyal araştırması için hasta bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

- 1- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.
- 2- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.
- 3- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.
- 4- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum, ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

5. Çalışmanın riskleri nelerdir?

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz ve kolda morarma olabilir. Düşük bir olasılık da olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, veya enfeksiyon riski vardır.

Yapılacak genetik teste bağlı oluşabilecek riskler: Yapılan testler sizin veya ailenizin ferdinin bu iki ilahtan birini alması nedeni ile ileriki bir zamanda bu genetik değişikliğe bağlı olarak işitmesinin etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötüye kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir risk taşıdığınızı öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de olumsuz etkileyebilir.

6. Çalışmanın yararları nelerdir?

Bu çalışmanın amacı mevcut iki ilahtan hangisinin işitme üzerinde daha çok etki bıraktığını , hangi genlerde ortaya çıkan polimorfizm adı verilen farklılıkların işitmede bozulma riskini artırdığını saptayarak bu konuda yüksek risk taşıyan hastaların işitmesini korumak için tedaviye başlamadan önce alınabilecek önlemleri saptamak ve hastanın işitme fonksiyonunu yakından izleyerek bozulmanın erken dönemlerde saptanmasını sağlamaktır.

7. Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışma doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır. Çalışmanın sonunda, size ait tüm sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız olduğu gibi böyle bir bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da vardır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

- ☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum
- ☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum.

Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Sağlık Bakanlığı ve diğer ilgili sağlık otoriteleri orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişebilir. Bu yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayarak yalnızca adı geçen kişi ve kurumlara erişim izni vermiş olacaksınız. Ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

8. Bu çalışmaya katılmamın maliyeti nedir?

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

9. Çalışmanın ticari bir yönü var mıdır?

(Bu bölüm aynen korunacaktır)

EK-5: (devam) Genetik materyal araştırması için hasta bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Gönüllülerden elde edilen bilgilerden, tıbbi testler ya da tedaviler geliştirilebilmesi gibi ticari bir fayda sağlanabilir. Böyle bir durum olursa, gönüllüler herhangi bir şekilde ticari gelir temin etmeyeceklerdir.

10. Göreceğim olası bir zarar durumunda ne yapılacak?

- Araştırmadan dolayı göreceğiniz olası bir zararda bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacaktır ; bu konudaki tüm harcamalar tarafımızca üstlenilecektir.

11. Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim ?

Araştırma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksinim duyduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI
GÖREVİ : Çocuk Onkoloji Bilim Dalı – Öğretim Üyesi – Araştırma Sorumlusu
TELEFON : 202 6021

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalında, Prof.Dr. Faruk Güçlü PINARLI tarafından genetik bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim)*. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim. İster doğrudan ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi girişimin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi girişimlerle ilgili olarak parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr.Betül KARGI'yı 312 202 6040 nolu telefondan veya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalından arayabileceğimi biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu genetik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:
Adres:
Tel:
İmza:
Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:
Adres:
Tel:
İmza:
Tarih:

AYDINLATMA ve KATILIMCININ BEYANI KESİNLİKLE BİRBİRLERİNİN DEVAMI ŞEKLİNDE OLACAKTIR. AYRI AYRI SAYFALARDA YER ALMAYACAKTIR.

EK-6: Genetik materyal araştırması için sağlıklı çocuk ebeveyni bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

GENETİK MATERYAL ÜZERİNDE YAPILACAK ÇALIŞMALARDA SAĞLIKLI ÇOCUK EBEVEYNİNE YÖNELİK BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavileri almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI

Diğer Araştırmacıların Adı: Araştırma Görevlisi Dr.Betül KARGI

Destekleyici (varsa): Prof. Dr. Ceyda KARADENİZ , Prof. Dr. Metin YILMAZ, Dr. Ferda PINARLI , Doç.Dr. Arzu OKUR

“Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalında, cisplatin ve/veya karboplatin tedavisi almış hastalarda ototoksisite oranlarının karşılaştırılması ve ototoksisite riskini artıran genetik değişikliklerin saptanması” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amacı ile yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

1. Genetik çalışmanın amacı ve dayanağı nelerdir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Kanser hastalığı nedeni ile cisplatin veya karboplatin isimli ilaçlardan biriyle tedavi edilmiş çocuklarda bu ilaçların yan etkisi olarak duyma fonksiyonları bozulabilmekte ve işitme kaybı ortaya çıkabilmektedir. Bu ilaçların işitmeyi etkileme riskini artırması ile ilişkilendirilen çeşitli genler bulunmuştur. Genler, DNA olarak isimlendirilen genetik materyalden oluşurlar. DNA hücrenin bir bölümüdür ve kalıtsal özelliklerin (göz rengi gibi) oluşmasından sorumludur. Bu çalışmaya davet edilmeniz nedeni bu genetik değişikliklerin sağlıklı çocuklardaki sıklığını da belirlemektir.

Bu çalışmayla birlikte bu genetik farklılıklara sahip çocukları önceden belirleyerek işitme kaybı yaşamadan yakından izlemek ve hayat kalitelerinin bozulmasını önlenmesi planlanmaktadır.

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Çocuk Onkoloji bölümünde tedavi almış en az 25 hasta çocuk ve 100 altta yatan kronik hastalığı bulunmayan sağlıklı çocuğun katılması planlanmaktadır.

2. Bu genetik çalışmaya katılmalı mıyım? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalasanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Böyle bir karar vermeniz durumunda tıbbi bakımınız bu durumdan etkilenmeyecektir.

3.Genetik araştırma nasıl yapılacak?

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz tetkikleriniz sırasında alınan kanlara ek olarak kolunuzdan 1 tüp (5ml) kan alınacaktır.. Genellikle bir tek örnekleme yeterlidir ancak bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir

Alınan kan örneği “Myogen Laboratuvarı” isimli laboratuvarında tetkik edilecektir

Alınan kan örneğinden DNA’nız izole edilerek işitmenin etkileneceğinden sorumlu olduğu düşünülen genler çalışılacaktır

Genetik örnek çalışmanın tamamlanmasından sonraimha edilecektir.

4.Tarafımdan alınan örnekler gelecekte de kullanılabilecek mi?

(Bu bölümde katılımcıdan “Tabakalandırılmış olur” olarak isimlendirilen bir onay alınmalıdır. Aşağıda yazılı olan bölüm aynen korunarak katılımcının aşağıdaki 4 seçenekten birini işaretlemesi istenmelidir.)

EK-6: (devam) Genetik materyal araştırması için sağlıklı çocuk ebeveyni bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

- 1- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.
- 2- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.
- 3- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.
- 4- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum, ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

5. Çalışmanın riskleri nelerdir?

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz ve kolda morarma olabilir. Düşük bir olasılık da olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, veya enfeksiyon riski vardır.

Yapılacak genetik teste bağlı oluşabilecek riskler: Yapılan testler sizin veya ailenizin ferdinin bu iki ilaçtan birini alması gerektiğinde ileriki bir zamanda bu genetik değişikliğe bağlı olarak işitmesinin etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötüye kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir risk taşıdığınızı öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de olumsuz etkileyebilir.

6. Çalışmanın yararları nelerdir?

Bu çalışmanın amacı mevcut iki ilaçtan hangisinin işitme üzerinde daha çok etki bıraktığını , hangi genlerde ortaya çıkan farklılıkların işitmede bozulma riskini artırdığını saptayarak bu konuda yüksek risk taşıyan hastaların işitmesini korumak için tedaviye başlamadan önce alınabilecek önlemleri saptamak ve hastanın işitme fonksiyonunu yakından izleyerek bozulmanın erken dönemlerde saptanmasını sağlamaktır.

Katılımcı için ve / veya toplum için beklenen yararlar açıklanmalıdır.

7. Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışma doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır. Çalışmanın sonunda, size ait tüm sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız olduğu gibi böyle bir bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da vardır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

- ☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum
☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum.

Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Sağlık Bakanlığı ve diğer ilgili sağlık otoriteleri orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişebilir. Bu yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayarak yalnızca adı geçen kişi ve kurumlara erişim izni vermiş olacaksınız. Ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

(Çalışma için eğer gerekiyorsa aşağıdaki standart durumlar açıklanmalıdır)

- *Örnek: Kanınız genetik faktörler açısından test edilecek ve elde edilen bilgi sizin hakkınızda bize genetik bilgi verecektir. Genetik testler, bu araştırma ile ilgisi olmayan size ait çok özel başka bilgiler de verebilir. Böyle bir durumda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacak ve bilgiler üçüncü şahıslara sizin onayınız olmaksızın açıklanmayacaktır.)*

8. Bu çalışmaya katılmamın maliyeti nedir?

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

9. Çalışmanın ticari bir yönü var mıdır? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

EK-6: (devam) Genetik materyal araştırması için sağlıklı çocuk ebeveyni bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Gönüllülerden elde edilen bilgilerden, tıbbi testler ya da tedaviler geliştirilebilmesi gibi ticari bir fayda sağlanabilir. Böyle bir durum olursa, gönüllüler herhangi bir şekilde ticari gelir temin etmeyeceklerdir.

10. Göreceğim olası bir zarar durumunda ne yapılacak?

Araştırmadan dolayı göreceğiniz olası bir zararda bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağı ; bu konudaki tüm harcamalar tarafımızca üstlenilecektir.

11. Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim ?

Araştırma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksinim duyduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Prof.Dr.Faruk Güçlü PINARLI
GÖREVİ : Çocuk Onkoloji Bilim Dalı – Öğretim Üyesi – Araştırma Sorumlusu
TELEFON : 202 6021

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalında, Prof.Dr. Faruk Güçlü PINARLI tarafından genetik bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi girişimin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi girişimlerle ilgili olarak parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr.Betül KARGI’ yı, 312 202 6040 nolu telefondan veya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalından(telefon ve adres) ‘ten arayabileceğimi biliyorum. (Doktor ismi, telefon ve adres bilgileri mutlaka belirtilmelidir)

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu genetik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:
Adres:
Tel:
İmza:
Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:
Adres:
Tel:
İmza:
Tarih:

AYDINLATMA ve KATILIMCININ BEYANI KESİNLİKLE BİRBİRLERİNİN DEVAMI ŞEKLİNDE OLACAKTIR. AYRI AYRI SAYFALARDA YER ALMAYACAKTIR.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Betül

Soyadı : KARGI ÖZTURAN

Doğum Yeri ve Tarihi : Kocasinan/ Kayseri, 10.08.1990

Eğitimi : - Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi/ Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlık Eğitimi (2016- 2020)
- Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi (2008-2014)
- Hacı Ahmet Arısoy Lisesi (2004-2007)
- Süleyman Tarman İlköğretim Okulu (1996-2004)

Yabancı Dili : İngilizce

Bilimsel Etkinlikleri : - Çocuklarda İleri Yaşam Desteği kursu
Mart 2018, Ankara/TÜRKİYE
- Neonatal Resusitasyon Programı Kursu, Kasım
2018, Ankara/TÜRKİYE
- 54. Türk Pediatri Kongresi, Mayıs 2018
Girne/K.K.T.C
- ‘Çocuk Hekiminin Bir Günü’ Toplantısı, Nisan
2019, Girne/K.K.T.C
- 63. Türkiye Milli Pediatri Kongresi, Kasım 2019,
Girne/ K.K.T.C
- Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi, Şubat
2020, Ankara/ TÜRKİYE

İletişim : krgetulmail.com/ tel: (+90 507) 440 92 64