

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**AMİKASİN OTOTOKSİSİTESİNDE BETAGLUKAN' IN
KORUYUCU ETKİSİNİN DENEY HAYVANLARINDA
OTOAKUSTİK EMİSYON İLE DEĞERLENDİRİLMESİ
(DeneySEL Çalışma)**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Aliye FİLİZ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Tuba BAYINDIR**

MALATYA – 2011

TEŞEKKÜR

İnönü üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm ihtisas eğitimin boyunca eğitimime katkıda bulunan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan başta Anabilim Dalı Başkanı' mız sayın Prof. Dr. Erol Selimoğlu' na, sayın Prof. Dr. Ahmet Kızılay' a, sayın Doç. Dr. Tamer Erdem' e, tezimin her aşamasında değerli vaktini ayırarak emek veren, desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. M. Tayyar Kalcıoğlu' na ve sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Akarçay' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gerek asistanlık eğitimin, gerekse de tez süresince bir abla, dost, arkadaş olarak hep yanımda olan, beni cesaretlendirip motivasyonumu sağlayan değerli tez hocam Yrd. Doç. Dr. Tuba Bayındır' a ayrıca teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam sırasında katkılarından dolayı sayın Doç. Dr. Mustafa Iraz' a ve sayın Prof. Dr. Saim Yoloğlu' na teşekkürlerimi sunarım. Asistanlık eğitimimde birlikte yol aldığım asistan arkadaşlarıma, çalışmaktan mutluluk duyduğum servis, poliklinik ve ameliyathane ekibindeki mesai arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sevgileri ve varlıkları bana hep huzur veren, desteğini her zaman esirgemeyen değerli eşime ve kızıma yürekten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
TABLO VE GRAFİK DİZİNİ.....	VI
ŞEKİL VE FOTOĞRAF DİZİNİ.....	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kulak Anatomisi.....	4
2.1.1 Dış kulak	4
2. 1. 2. Orta kulak	6
2.1. 3. İç Kulak.....	8
2.2. İşitme Fizyolojisi.....	13
2. 2. 1. Dış kulak fizyolojisi.....	13
2. 2. 2. Orta kulak fizyolojisi.....	13
2. 2. 3. İç kulak fizyolojisi.....	14
2. 3. Otoakustik Emisyonlar.....	16
2. 3. 1. Tarihçe.....	16
2. 3. 2 Spontan otoakustik emisyonlar.....	17
2. 3. 3 Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar.....	17
2. 3. 4. Geçici uyarılmış Otoakustik Emisyon (TEOAE).....	17
2. 3. 5. Stimulus frekans Otoakustik Emisyon (SFAEO).....	19
2. 3. 6. Distorsiyon Ürünleri Otoakustik Emisyon(DPOAE):	19
2. 4. Ototoksisite.....	21
2. 5. Aminoglikozid Grubu Antibiyotikler Ve Ototoksisite	24
2. 5. 1. Aminoglikozid ototoksisitesinin histopatolojisi	26

2. 5. 2. Aminoglikozidlerin toksisitesinin etki mekanizması.....	26
2. 6. Diğer ototoksik ilaçlar.....	27
2. 6. 1. Loop diüretikler (Distal diüretikler)	27
2. 6. 2. Cisplatin.....	27
2. 6. 3. Salisilatlar.....	28
2.6.4. Eritromisin.....	28
2.6.5. Kinin.....	28
2. 7. Ototoksik ilaçların kulağa etkilerinin monitörize edilmesi.....	28
2. 7. 1. Saf ses odyometrisi ya da işitsel beyin sapı odyometrisi (ABR) ile eşik tayini ve vestibüler testler.....	29
2. 7. 2. Otoakustik emisyon (OAE) takibi:	29
2. 8. Betaglukan.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. DPOAE (Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon) Testi Uygulanması..	35
3. 2. İstatistiksel analiz	35
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA.....	51
6. ÖZET.....	56
7. SUMMARY.....	58
8. KAYNAKLAR.....	60

KISALTMALAR DİZİNİ

OAE	: Otoakustik emisyon
DPOAE	: Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon
TEOAE	: Transient otoakustik emisyon
SOAE	: Spontan otoakustik emisyon
SFOAE	: Stimulus frekans otoakustik emisyon
ABR	: İşitsel beyin sapı odyometrisi
dB	: Desibel Amerika Birleşik Devletleri
SPL	: Ses basınç düzeyi
Hz	: Hertz
kHz	: Kiloherz
SSC	: Semisirküler kanal
DTH	: Dış tüylü hücre
İTH	: İç tüylü hücre
TM	: Timpanik membran
DKY	: Dış kulak yolu
SNİK	: Sensörinöral işitme kaybı
AB	: Antibiyotik
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
İM	: İntramusküler
İV	: İntravenöz
SE	: Standart Hata
KBB	: Kulak Burun Boğaz
RT	: Radyoterapi
Ark	: Arkadaşları
Mv	: Milivolt
\bar{X}	: Ortalama
°C	: Santigrat derece
pH	: Power of Hydrogene
mm	: milimetre
cm	: Santimetre
cm²	: Santimetre kare

cm³	: Santimetreküp
Na	: Sodyum
K	: Potasyum
Ms	: Milisaniye
ng	: Nanogram
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
lt	: Litre

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Ototoksik etki gösteren ilaçlar.....	24
Tablo 2: Bazı aminoglikozidlerin iç kulağa etkileri.....	25
Tablo 3: Kontrol grubu için mean±SEM (Std. Error of Mean) değerler.....	40
Tablo 4: Amikasin grubu için mean±SEM (Std. Error of Mean) değerleri.....	43
Tablo 5: Amikasin- Betaglukan için mean±SEM (Std. Error of Mean) değerler ..	46
Tablo 6: Betaglukan grubu için mean±SEM (Std. Error of Mean) değerler.....	49
Tablo 7: Amikasin grubunda kiloların başlangıç, bitiş ve ortalama değerleri.....	50
Tablo 8: Amikasin+Betaglukan grubunda kiloların başlangıç, bitiş ve ortalama değerleri.....	50
Tablo 9: Kontrol grubunda kiloların başlanç, bitiş ve ortalama değerleri.....	50
Tablo 11: Betaglukan grubunda kiloların başlanç, bitiş ve ortalama değerleri.....	51

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Kontrol grubunun istatistiksel karşılaştırılması.....	39
Grafik 2: Amikasin grubunun istatistiksel karşılaştırılması.....	42
Grafik 3: Amikasin+betaglukan grubunun istatistiksel karşılaştırılması.....	45
Grafik 4: Betaglukan grubunun istatistiksel karşılaştırılması.....	48

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Kulağın anatomik yapısı (Koronal kesit).....	5
Şekil 2: İç kulak anatomisi (Kemik ve membranöz labirent).....	8
Şekil 3: Koklea	10
Şekil 4: Korti organı.....	11
Şekil 5: Normal bir kişide tespit edilen geçici uyarılmış OAE trasesi.....	19
Şekil 6: DPOAE ölçüm prensibi	21
Şekil 7: Normal bir kişide tespit edilen DPgram trasesi.....	21
Şekil 8: Beta-glukanın moleküler yapısı.....	31

FOTOĞRAF DİZİNİ

Fotoğraf 1: Hayvanlara OAE yapılan sessiz kabin	35
--	----

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aminoglikozid grubu antibiyotikler, özellikle tüberküloz ve gram negatif bakteriyel infeksiyonlar başta olmak üzere birçok infeksiyonun tedavisinde dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu ilaçların benzerlerine göre daha ucuz olmaları da bir başka tercih nedenidir. Fakat bu ilaçların toksik etkisi kullanımını çoğunlukla kısıtlamaktadır. Toksik etkilerinden en önemlileri; nefrotoksisite ve ototoksisitedir. İlk bulunan aminoglikozid olan streptomisinden bu yana aminoglikozidlerin ototoksik olduğu iyi bilinmektedir. Etki spektrumlarına alternatif başka ilaçlar bulunmadığı sürece aminoglikozidlerin toksisitesi problem olmaya devam edecektir. Bu gruptaki ilaçlar değişik oranlarda ototoksisite yapma potansiyeline sahiptir. Ortalama ototoksisite oranları %5-10 arası bildirilmiştir (1). Gastrointestinal emilimleri iyi olmadığı için lokal ve parenteral olarak kullanılan bu ilaçlar, her iki kullanım şeklinde de ototoksisiteye neden olabilir. Aminoglikozidler, kulakta lokal olarak kullanıldığında da, yuvarlak pencere yolu ile pasif ve aktif olarak transporta uğrayarak, serum seviyesi ölçülecek kadar sistemik dolaşıma katılabilir. (2).

Aminoglikozidler polikatyonik, büyük moleküllü ve lipitte çözünmeyen moleküllerdir (3). Bu moleküller tüylü hücreler içerisine mekanoelektriksel transdüser kanallar yolu ile girerler (4). Oluşan aminoglikozid-demir kompleksi, araşidonik asit metabolizmasında oluşan serbest oksijen radikalleri gibi elektron vericileri ile reaksiyona girerler. Bundan sonra aminoglikozidler oksijen radikalleri vasıtasıyla enzim aktivasyonu yaparak hücre apoptozisine neden olur (5,6,7,8).

Aminoglikozidlerin sık görülen yan etkileri olan nefrotoksisite, tedavi süresi ve plazma düzeyi ile paralellik gösterirken, ototoksisite için aynı şey sözkonusu değildir

(7,8). Bu ilaçların toksik etkilerinin erken tespiti önemlidir. Böylece tedavi planı değiştirilebilir ve toksik etkinin devamı önlenir.

Ototoksisite, klinik olarak plazma ilaç seviyeleri ile paralellik göstermez. Ototoksisitenin ilk semptomu genellikle tinnitustur. Diğer semptomlar; dengesizlik, işitme kaybı, vertigo dur. Tinnitus ve işitme kaybı çoğunlukla bilateral ve simetriktrir. Aminoglikozid kullanımından sonra 10dB lik işitme kaybı ototoksisite olarak kabul edilir (5,6,7).

Aminoglikozid ototoksisitesine yatkınlık oluşturan bazı risk faktörleri vardır. Bu faktörler arasında; 60 yaş üzerinde olma, daha önceden bir işitme kaybı öyküsünün olması, karaciğer ve böbrek yetmezliği, diğer bir ototoksik ilaç ile beraber kullanım, kollajen vasküler hastalıklar, koklear implantlı çocuklar, aminoglikozid tedaviye 10 günden daha uzun süredir devam ediliyor olması, serum ilaç seviyeleri ve gürültüye maruziyet sayılabilir (9,10). Bu olgulara aminoglikozid grubu ilaçlar dikkatli bir biçimde verilmeli ve ototoksik etkileri monitörize edilmelidir (11).

Aminoglikozidlerin kulaktaki hedefi kokleanın bazal parçasındaki duyusal epitelyum olan dış tüylü hücrelerdir. Aminoglikozidler iç kulakta dönüşümsüz tahribe neden olabilir. Bu nedenle Kulak Burun Boğaz (KBB) hekimi olarak bizlere düşen; bu ilaçları kullanan hastaların işitme açısından yakın takip edilerek, toksik etkisi başlar başlamaz ilgili klinisyene bilgi vermektir. Ototoksisite monitörizasyonu için genellikle objektif, non invaziv ve spesifik bir test olan otoakustik emisyonlar kullanılmaktadır (11,12).

Beta glukan, ekmeğın mayası hücre duvarından elde edilen bir ajandır. Beta glukan ın etki spektrumu arasında; güçlü immünomodülatör, antioksidan, antienfektif ve antineoplastik ilaçların etkisini güçlendirici etki, Radyoterapi (RT) ile combine kullanıldığı zaman onun zararlı etkilerini azaltıcı özellikleri sayılabilir (13,14).

Antioksidanlar; hücrelerde oksidanları inaktif hale getirerek, oksidatif hasarı önleyen ya da azaltan maddelerdir. Tsiapali ve arkadaşları (ark)., (2001) yapmış oldukları çalışmada, glukanların serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. Ayrıca betaglukan kemoterapi ve radyoterapi alan kanser hastalarında kullanıldığında, kemoterapötik ilacın ve radyasyonun meydana getirdiği yan etkileri engellemiştir (15).

Bu alışmamızda gcl bir antioksidan olan betaglukanın sebest radikaller üzerinden ototoksisiteye neden olan amikasinin bu yan etkisinden koruyup korumadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Anatomisi

Kulak yapısal ve fonksiyonel özellikleri göz önünde bulundurularak 3 kısma ayrılır:

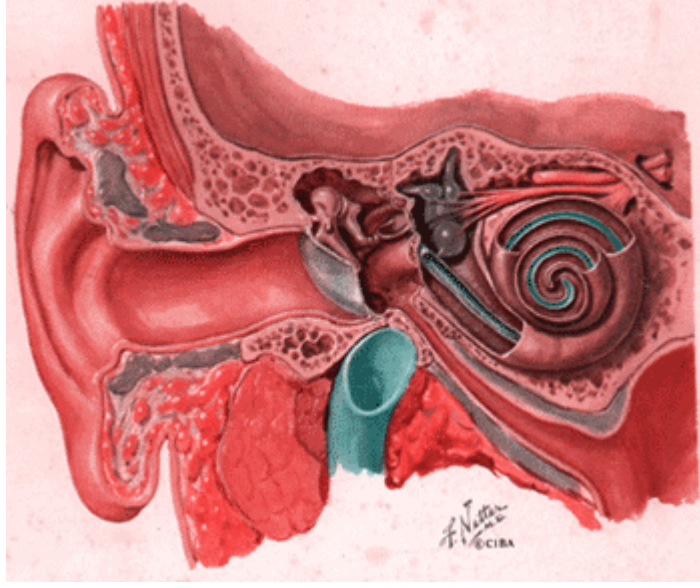
- 1-Dış kulak
- 2-orta kulak
- 3-İç kulak

2.1.1 Dış kulak:

Ses dalgalarını toplar, sesin lokalize edilmesinde rol oynar ve timpanik membranı dışarıdan gelecek zararlardan korur. Kulak kepçesi ve dış kulak yolu olmak üzere iki kısımda incelenir.

Kulak kepçesi deri ve perikondriyum ile örtülü başın her iki tarafında yaprak şeklinde çıkıntı oluşturan ince elastik bir kıkırdaktan meydana gelir. Kanlanması a.temporalis superficialis ve a.occipitalis posteriordan olur. Venöz drenajı yine aynı isimli venlerle olmaktadır. Lenfatikleri; preaurikuler, retroaurikuler ve infraaurikuler lenf nodlarına dökülür. Kulak kepçesinin ön yüzünün duyarlılığını V. kranial sinirin aurikulotemporal dalı alır. Ayrıca Rumsey Hunt bölgesi denilen konka, heliksin bir bölümü, kulak arkasının alt kısmı ve kavum konkanın duyusal innervasyonu VII. kranial sinir tarafından yapılır. (Resim 1)

Şekil 1: Kulağın anatomik yapısı (Koronal kesit)



www.hearingcarecenter.com

Dış kulak yolu; kavum konkadan tm lateraline kadar olan bölümdür. Dış kulak yolu (DKY) nun 1/3 dış kısmı fibroelastik kıkırdaktan oluşurken 2/3 iç kısmı ise kemikten oluşmuştur. Dış kulak yolu kıkırdak kısmı ter, yağ ve serümen bezlerini içeren gevşek ve kalın bir deri ile örtülüdür. Kemik kısmı örten deri oldukça ince olup hemen periostun üzerini örter ve deri ekleri burada bulunmaz (16,17,18). Hafif “s” şeklinde oblik bir yerleşim gösterir. Dış kulak yolunun arka üst uzunluğu 25 mm iken ön alt duvarı 35 mm’dir (19). Dış kulak yolunun kanlanması a.aurikularis posterior, a.temporalis superficialis ve a.aurikularis profunda tarafından sağlanır. Venöz drenajı maksiller ve eksternal juguler venler ile plexus pterogoideusa olur. Lenfatik drenajı anterior, inferior ve posterior aurikuler lenf nodlarına olur. İnférieur ve posterior bölümün duyusunu X. kranial sinirin bir dalı olan Arnold siniri alırken, anterior ve superior bölümün duyusunu ise n. mandibularisin aurikulatemporal dalı alır (20,21).

2. 1. 2. Orta kulak:

Kulak zarı ile kemik labirent arasına yerleşmiş birbirleri ile ilişkili olan boşluk ve kanallardan oluşan, müköz membranla örtülü havalı bir bölgedir. Vertikal ve anterosuperior çapları 15 mm, mediolateral derinliği üstte altı mm iken umbo seviyesinde bu mesafe iki mm'ye kadar inebilir. Orta kulak boşluğu önde tuba östaki aracılığı ile nazofarenks ile ilişkilidir. Arkada ise aditus ad antrum yolu ile mastoid antrum ve hücreleri ile devam etmektedir (16,18). Orta kulağın lateral kısmını timpanik membran (TM) mediali oluşturur. Orta kulak; kulak zarı göz önünde bulundurularak üç kısma ayrılır:

Mezotimpanium; TM ile aynı seviyede olan orta kulak bölümüdür. Oval ve yuvarlak pencereler yolu ile iç kulak ile ilişkilidir.

Epitimpanium; timpan membran seviyesinin üzerinde kalan orta kulak bölümüdür. İnkusun gövdesini ve malleusun başını içerir. Aditus ad antrum aracılığı ile mastoid hücreler ile ilişkilidir.

Hipotimpanium; timpan membran hizasının altında kalan orta kulak bölümüdür. Buradaki en önemli yapı juguler bulbustur. Üzeri genelde kemik ile örtülüdür. Fakat bazen juguler bulbusun üzeri açık olabilir ve bulbus orta kulak boşluğuna kadar uzanabilir.

Orta kulağın hacmi ortalama 0.5 cm³'tür. Bu dar ve yüksek boşluk tuba östakilerden gelen hava ile havalanmaktadır.

Orta kulaktaki oluşumlar:

- Kemikçikler: Malleus,inkus,stapes
- Kaslar: M.stapes,m.tensör timpani
- Sinirler: N.facialis,timpanik pleksus,korda timpani

Lateralde mediale doğru; malleus, inkus stapes ses iletiminin düzenlenmesinden sorumlu olan kemikçiklerdir. Malleus kısa kolu ve manibrumu ile tm bağlantılıdır. Manibrum mallei fizik muayenede kolaylıkla görülebilir. Stapes tabanı oval pencere üzerine oturur ve iç kulak ile ilişkilidir.

Timpanik membran (TM); kalınlığı 0.1 mm, genişliği 8-9 mm ve uzunluğu 10-11 mm'dir. Orta kulak boşluğunu dış kulak yolundan ayırır. Timpanal kemikteki sulcus timpanikusa oturur. Ve üç tabakadan oluşur; lateralde skuamoz epitelyum tabakası,

medialde küboid epitelyum ve arada fibröz tabaka bulunur. Kulak zarının timpanal kemiğe tutunmasını sağlayan anulus tamamlanmamış bir halkadır. Kulak zarı malleusun kısa kolundan öne ve arkaya doğru uzanan malleolar plikaların üstünde kalan ve annulusun bulunmadığı “pars flaccida”, malleolar plikanın altında kalan ve zarın büyük bir kısmını oluşturan “pars tensa” olarak ikiye ayrılır.

Orta kulak boşluğu ve içerisindeki oluşumlar ses dalgalarını kulak zarından iç kulağa iletirken sesi amplifiye ederler (16).

Orta kulak boşluğunun altı tane duvarı vardır (20,22,23).

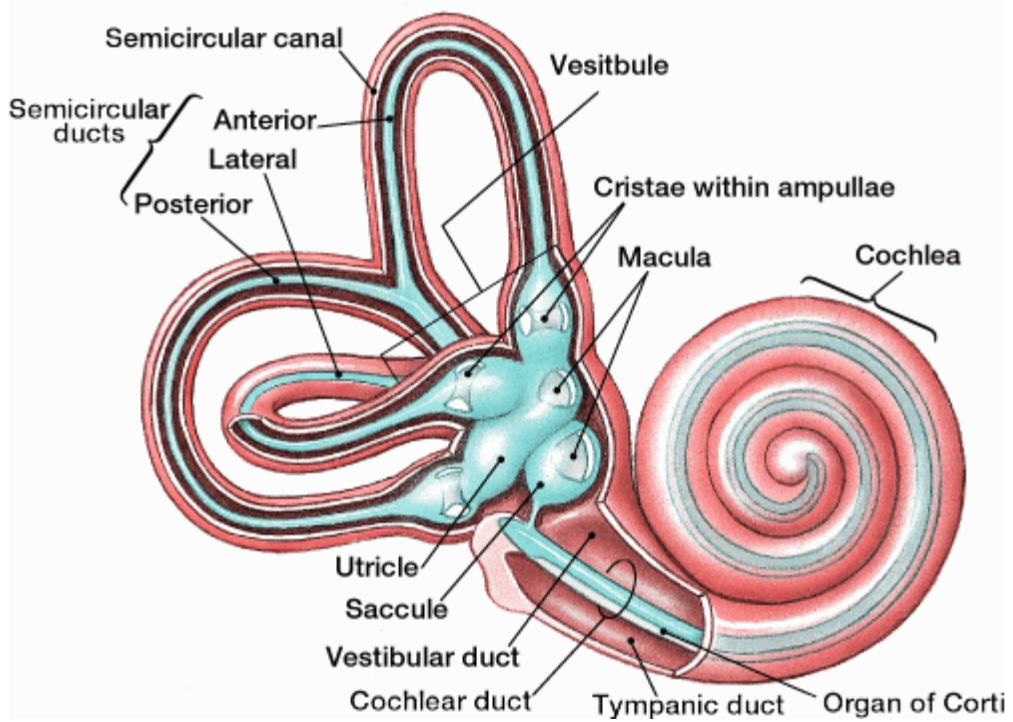
- Üst duvar: Tegmen timpani denilen bu duvar epitimpaniumun tavan kısmını oluşturur.
- Alt duvar: Hypotympaniumun alt kısmını oluşturur ve bulbus vena juguli ile komşudur.
- İç duvar: Orta kulağı iç kulaktan ayıran duvardır. Burada kokleanın birinci turuna denk gelen promontoryum, fasiyal sinirin geçtiği Fallop kanalı, timpanik pleksus, horizontal semisirküler kanal (SSC) gibi önemli oluşumlar vardır.
- Ön duvar: Posteroinferiorda kanalis caroticusun dikine parçası, üstte tensor tympani kasını içinde barındıran yarım kemik kanal, altında ise eustaki tüpünün orifisi bulunur.
- Arka duvar: Arka duvar ile havalı mastoid hücreleri arasındaki duvardır. Buradaki önemli oluşumlar arasında fasiyal sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösteren aynı zamanda m. stapediusu içinde bulunduran eminentia piramidarum bulunur. Fasiyal reses, sinüs timpani ve fossa incudis gibi önemli oluşumlar arka duvarda bulunur.
- Dış duvar: Orta kulak boşluğunun dış duvarını timpanal kemiğin bir çıkıntısı olan ve kemikçiklerin üzerini örten skutum ile kulak zarı yapar.

Orta kulağın kanlanması; eksternal ve internal karotis arterlerden sağlanır. Venöz drenajı superior petrozal sinüs ve pytergoid pleksus ile sağlanır. Duyusal ve sempatik innervasyonu ise IX. kranial sinirin timpanik dalı ve karotikotimpanik dalı tarafından sağlanır (20,22).

2.1.3. İç Kulak:

Temporal kemiğin petröz bölümünün derinlerinde yerleşen iç kulak işitme ve denge ile ilgili yapıların bulunduğu kısımdır (18,22). İç kulak oval pencere ve yuvarlak pencere yolu ile orta kulak ile bağlantılı iken aynı zamanda akuaduktus koklearis ve akuaduktus vestibularis yolları ile de kafa içi ile bağlantılıdır (16,18,22).

Şekil 2: İç kulak anatomisi (Kemik ve membranöz labirent)



www.ohsu.edu.tr

İç kulak membranöz labirent ve kemik labirent olarak iki kısımda incelenir (16,18,22).

Kemik labirent; vestibül, semisirküler kanal (SSC) lar ve kokleadan ibarettir. Vestibül timpan kavitenin medialinde yer alan 4mm çapında düzensiz oval bir boşluktur. Timpanik kavite ile fossula fenestra vestibüli ve fossula fenestra koklia ile bağlantı kurar (20,24)

Superior, horizontal ve posterior SSC lar vestibülün arka yukarısında yerleşmiş olup her biri 2/3 lük bir daire oluşturmaktadır. Bu kanalların her birinin ucunda vestibüler duyu epiteli içeren genişlemeler ampulla olarak adlandırılır (24).

Vestibülün anteroinferiorunda koklea bulunur. Taban çapı dört mm, yüksekliği beş mm olan kokleaya koniye benzer. Modiolus olarak adlandırılan santral bir aks etrafında 2.5 tur dönüş yapar (24). Modiolusun içerisinde kokleaya giden damarlar ile n. vestibülokoklearisin koklear dalı mevcuttur.

Skala timpani ve skala vestibüli kemik spiral laminanın koklear kanalı bölmesi ile oluşur (20,24).

Skala vestibüli oval pencerenin membranından başlayıp kokleanın apeksine kadar devam eder. Skala timpani ise bazalden başlayarak yuvarlak pencere membranında sonlanır. Skala vestibüli ve scala timpani beraber seyrederek kokleanın apeksinde helikotrema aracılığı ile birleşir ve perilenf denilen ve sodyumdan zengin bir sıvı içerirler (22,24,25).

Membranöz Labirent: Pars superior (vestibüler labirent) ve pars inferior (koklea) dan oluşur (22,26). Kemik labirente oranla daha küçük olan zar labirent şekil bakımından kemik labirenti taklit eder (22,23,26). Zar labirent kemik labirentin 1/3 kısmını işgal eder. Kemik ve zar labirent arasında perilenf mevcuttur (22,23).

Pars superior (vestibüler labirent): Denge organları olan semisirküler kanallar, sacculus ve utrikulustan oluşur. Utrikul ve sakkül kemik labirentin vestibül kısmında bulunur ve içerisinde nöroepitelyal plaklar olan makulalar bulunur. Makulalar üzerlerindeki otolitik membrana gömülmüş olup utrikul içerisinde yatay olarak sakkül içerisinde ise dikey olarak yerleşmiştir. Bu durumda utrikul yatay, sakkul ise dikey hareketleri algılar ve her ikisi de statik dengede görevlidir (23,26).

Duktus utrikulus ve duktus sakkularis utrikul ve sakkülden çıkan kanallardır ve birbirleri ile birleşip duktus endolenfatikusta sonlanırlar. Duktus endolenfatikus ise sakkus endolenfatikusa açılır (26,27).

Koklea (Pars inferior): Duktus koklearis adı verilen ve üçgene benzeyen bir boşluktur. Kemik kokleanın transvers kesitinde yukarıdan aşağı doğru üç tane kompartman vardır. Bunlar; skala vestibüli, skala media, skala timpani dir. Reissner membranı; içte spiral limbusun modiolar tarafına, dışta ise stria vaskularisin üst köşesindeki spiral ligamana bağlanır, skala media ile skala vestibüliyi birbirinden ayırır. Baziller membran ise skala media ile skala timpaniyi birbirinden ayırır. Baziller membran yaklaşık 31.5 mm uzunluğunda olup genişliği bazal turdan başlayıp apikale doğru artar. Baziller membranda; Cladius, Boettcher hücreleri, Hensen, Deiters, Pillar hücreleri, iç sınır hücreleri, dış tüylü hücreler, iç tüylü hücreler, iç sulcus, spiral

limbustaki interdental hücreler ve tektorial membran vardır. Duktus koklearis, kokleanın spiral kanalını tüm uzunluğunca takip eder. Duktus koklearisin tabanını baziller membran, lateral duvarını spiral ligament üzerinde bulunan stria vaskularis, üst duvarını ise Reissner membranı oluşturur (16,26).

Şekil 3: Koklea



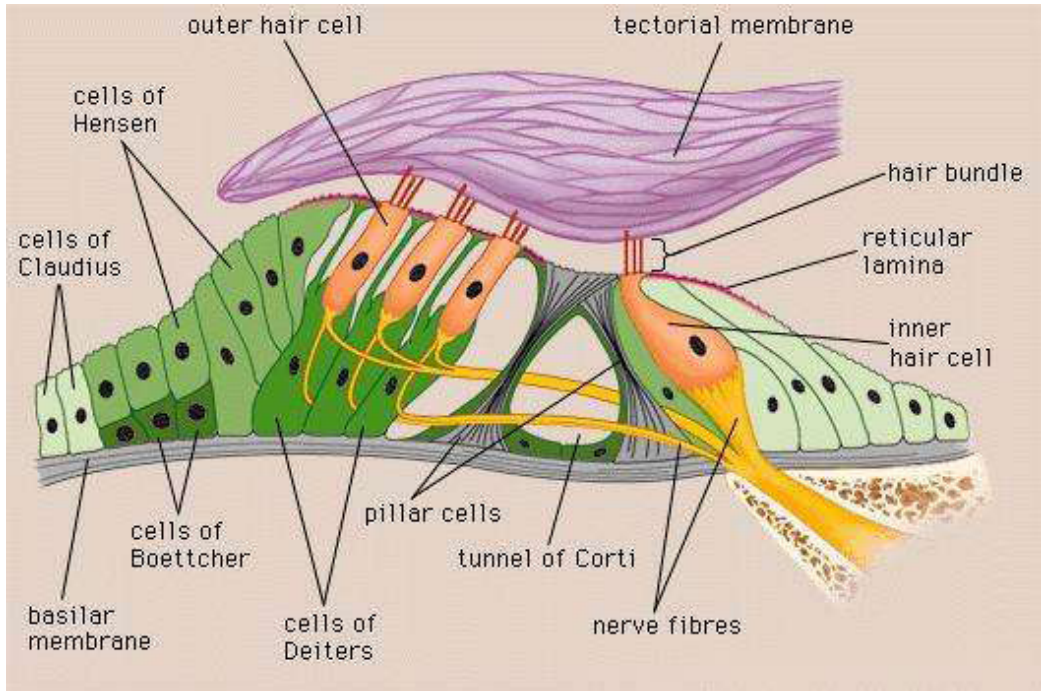
www.ci-centrum.de

Korti organı:

Korti organı baziller membran üzerinde yerleşmiş ses enerjisine hassas olan duyu reseptörler ve destek hücreleri tarafından oluşturulmuş bir yapıdır. Korti organı içten dışa doğru şu hücrelerden oluşur: Hensen hücreleri, dış korti tüneli, dış saçlı hücre dizisi, deiters hücreleri, nuel aralıkları, pillar hücreleri, iç saçlı hücreler, iç parmaklı hücreler, iç sınır hücreleri. Korti organının destek hücrelerinin apikal uzantıları ve duyu hücreleri sert bir tabaka olan retiküler laminayı oluşturur (23,25,27). Hensen hücreleri, Deiters hücreleri ve Pillar hücreleri Korti organının destek hücreleridir. Korti organının duyu hücreleri ise tek sıra halinde iç saçlı hücreler ve üç ila beş sıra halindeki dış saçlı hücrelerdir. Kokleada yaklaşık 3500 iç tüylü hücre ve 12500 dış tüylü hücre vardır (28). Dış saçlı ve iç saçlı hücrelerin apikal kısmında aktinden yapılmış borucuk halinde olan stereosilyalar bulunur. Bazal turdan apikal tura doğru gidildikçe stereosilyaların

uzunlukları artmaktadır. Dış saçlı hücrelerin her birisinde altı veya yedi dizi sterosilya bulunur. Bu sterosilyalardan en uzununu tektoriyal membranın alt ucuna bağlanır. İç saçlı hücrelerde ise üç ya da dört adet sterosilyalar demet yaparak hafifçe eğilmiş şekilde bulunur ve tektorial membran ile bağlantıları yoktur (23,24,25). Dış tüylü hücrelerin (DTH) innervasyonu ağırlıklı olarak efferent yolla, iç tüylü hücrelerin (İTH) innervasyonu ise afferent yolladır. İç tüylü hücrelerin afferent lifleri, Tip 1 sinir liflerinden, efferent lifleri ise lateral superior oliver kompleksten gelir. Dış tüylü hücrelerin afferent lifleri, Tip 2 sinir liflerinden, efferent lifleri ise medial superior oliver komplekslerden gelir (29).

Şekil 4: Korti organı



ourworld.compuserve.com

Dış Tüylü Hücreler: Korti organı içerisinde apikal ya da bazal uçlarından Deiters hücrelerine ve bunların parmaklı çıkıntılarına bağlıdır. Morfolojik olarak silindirik ya da testi biçimindedirler. Dış tüylü hücreler içten dışa doğru üç sıra halinde dizilirler ve retiküler lamina içerisinde bulunurlar. Apeksine doğru gidildikçe boyları artmaktadır. İç plazma membranı boyunca kutikuler tabakadan çekirdeğe doğru uzanan birkaç tabaka halinde yüzeyaltı sisternalar vardır. Hensen cisimcikleri bu sisternalarda yer alır (16). Deiters hücreleri uzantıları DTH lerin dış ve yan taraflarına bağlanır. Dış

tüylü hücrelerin tabanları geniş veziküller içeren sinir lifleri ile işgal edilir. Efferent sinir ucuna komşu sitoplazma, tek bir kat yüzeyaltı sisterna şeklindedir (16).

İç Tüylü Hücreler: Bazı özellikleri sayesinde DTH lerden ayrılırlar. Vestibüler hücrelere benzerler. Destek hücreleri ile çevrili olup tek katlı hücre dizileri biçiminde yerleşirler (28). Organelleri sitoplazma içerisinde dağılmış olarak bulunur, çekirdekleri ise yuvarlak ve hücrenin ortasındadır. Hücrelerin taban kısımlarında birçok sinir sonlanmaları bulunur. Her hücrede afferent uca komşu sitoplazma içerisinde bir presinaptik kalıp vardır. Efferent uçlar az miktarda tüylü hücre ile sinaps yapmakla birlikte daha çok afferent uçlar ile sinaps yapar, daha geniştir ve veziküller içerir (16).

İç ve dış tüylü hücreler hem afferent hem de efferent sinir lifleri alırlar. Afferent liflerin neredeyse %90-95 iç saçlı hücreler ile sinaps yapar. Bunlar Tip 1 nöronlardır. Her bir iç tüylü hücre yaklaşık 15-20 adet Tip 1 nöron tarafından innerve edilir. DTH ler ise Tip 2 nöronlar tarafından innerve edilir. Her bir Tip 2 nöron 10 tane dış tüylü hücreyi innerve eder. Tip 2 nöronlar miyelinsiz iken Tip 1 nöronlar ise miyelinlidir. Tip 1 nöronlar bipolardır ve spiral gangliondaki hücrelerden çıkan dendritleri iç tüylü hücrelere giderken aksonlar superior olivary komplekse ulaşırlar. Tip 2 nöronlar ise monopolardır (20,23,25,30). İç ve dış saçlı hücreleri innerve eden sinir lifleri spiral ganglionda yerleşmiştir. Myelinli afferent ve efferent sinir lifleri lamina spiralis ossea yı radyal biçimde geçerler ve spiral laminayı terk ederken myelin kılıflarını kaybederler. Kemikteki habenula perforata denilen deliklerden çıkarak Korti organına giderler (20,23,25).

İç kulağın kanlanması anterior inferior serebellar arterin bir dalı olan labirentin arter tarafından sağlanır. Labirentin arter bazen direk olarak ya da vertebral arterden kaynaklanabilir (22,24,26,29). Labirentin arter iç kulağa girince anterior vestibüler arter ve ana koklear arter dallarına ayrılır. Ana koklear arter ise cochlear arter ve vestibülokoklear arter dallarına ayrılır. Anterior vestibüler arter ; vestibüler sinir, utrikul ve SSC ların bir kısmını besler. Vestibülokoklear arter; saccul, SSC ların büyük bir kısmı ve kokleanın bazal kıvrımını besler. Koklear arter ise kokleanın kalan kısmını besler (24).

2.2. İşitme Fizyolojisi

İşitme; akustik enerjinin, dış ve orta kulakta iletdikten sonra, iç kulakta değişikliğe uğratarak, aksiyon potansiyelleri halini alıp, işitme yolları aracılığı ile beyine gönderilmesi ve burada ses halinde algılanmasıdır. Ses ise; maddeden oluşan bir ortamda yayılan mekanik bir titreşim dalgasıdır.

Normal bir işitme için;

- İleti sistemi; Ses dalgalarının atmosferden Korti organına iletilmesi (conduction) (22).
- Periferik analiz ve enerji dönüşümü; Ses enerjisi korti organındaki tüylü hücrelerde biyokimyasal olaylar ile sinir enerjisi haline dönüştürülür (transdüksiyon) (22).
- Elektriksel enerjinin taşınması; İç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektrik akımı kendisiile ilgili sinir liflerini uyarır. Böylelikle oluşan enerji frekans ve şiddetine göre Korti organında kodlanır (neural coding). Oluşan elektrik potansiyeller yukarı merkezlere sinir lifleri boyunca iletilir (22,29).
- Kortikal analiz; Koklear çekirdeklerden işitme merkezlerine gelen bu uyarılar birleştirilerek analiz edilir (cognition) (22,29).

2. 2. 1. Dış kulak fizyolojisi

Kulak kepçesi çevredeki sesleri toplayarak dış kulak yoluna iletir. Konka ise adeta bir megafon görevi görerek ses dalgalarını dky da yoğunlaştırır. Bu durumda kulak kepçesi ses dalgalarının şiddetini altı desibel(dB) artırır. Dış kulak kanalı gelen seslerin basıncını artırır. Dış kulak yolu sesin şiddetini 15-20 dB arttırmakta aynı zamanda kanala gelen havayı ısıtmaktadır (29, 31, 32, 33).

2. 2. 2. Orta kulak fizyolojisi

Orta kulak; DKY daki seslerin kokleadaki sıvı ortama iletilmesinde görev alır. DKY daki hava ortamından iç kulaktaki sıvı ortama ses iletilirken 30dB lik bir kayba

uğrar. Orta kulak ise bu kaybı telafi edecek şekilde sesin şiddetini 30 dB arttırır. Orta kulak bu artışı şu üç mekanizma ile sağlar;

- 1)Kulak zarının kaldıraç yükseltici etkisi
- 2)Kemikçik sisteminin yükseltici etkisi
- 3)TM ve stapes tabanı arasındaki büyüklük farkı

Dış kulak yolundan timpanik membrana gelen ses enerjisi kemikçik sistemine amplifiye edilerek ulaştırılır. Buradan yaklaşık altı dB’lik bir kazanç sağlanır (31). Kemikçik zincirin yükseltici (manivela) etkisi malleus başı ve lentiküler proçes arasındadır. Bu etki umbo ve prosesus brevis arasındaki doğru ile inkusun uzun kolunun birbirine oranından ortaya çıkmaktadır. Böylelikle kemikçik sistemi 1.3/3 oranında yükseltici etkiye sahiptir. Bu oran ise yaklaşık olarak 2.5 dB’lik bir artışa neden olur (1, 29 ,31). Kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki yüzey farklılığından kaynaklanan hidrolik lever orta kulağın ses siddetinin arttırmadaki en önemli kısmını oluşturur. Kulak zarının titreşime katılan alanı 5.5 mm² iken oval pencere membranının alanı ise 3.2-3.5 mm² dir. Bu durumda 22.1dB’lik bir kazanç sağlanmış olmaktadır (1,31). Böylelikle havalı bir ortamdan sıvı ortama geçerken kaybedilen 30 dB, kulak kepçesi ve orta kulak tarafından telafi edilmektedir.

2. 2. 3. İç kulak fizyolojisi

Dış kulak yoludaki hava orta kulağa 2 şekilde iletilir;

- Birinci olarak DKY daki hava TM’ni titreştirdikten sonra kemikçik zincir yolu ile oval pencereye iletilir.
- İkinci olarak da dış kulak kanalındaki hava kulak zarını titreştirir ve bu titreşimler direk yuvarlak pencereye ulaşır. Kemikçik zincir ile oval pencereye iletilen ses hem hızlıdır hem de yukarıda bahsedilen orta kulağın yükseltici etkisi nedeni ile basıncı fazladır. Bu iki iletimin aynı anda olmaması nedeni ile perilenfe iletilen titreşimlerden bir faz farkı doğar. Oluşan bu faz farkından dolayı perilenfte bazal turdan apikal tura kadar uzanan bir hareketlilik ve baziller mambranda titreşim meydana getirir (31). Bu hareket Bekeys tarafından “gezinen dalga” olarak isimlendirilmiştir (31).

Baziller membran bazal turda daha gergin iken apikal tura doğru baziller membran genişleyeceğinden gerginliği de azalmaktadır. Bu fark nedeni ile bazal turdan apikal tura kadar ses dalgaları gezinen dalga ile iletilir. Bekeys' e göre baziller membranın amplitüdüleri her yerde aynı değildir. Yüksek frekanslı seslerde genel olarak baziller membran salınımları bazal turda en yüksek seviyede iken düşük frekanslı seslerde baziller membran salınımı apikal turda en yüksektir (27, 29, 31). Bu sebeple yüksek frekanslı seslerde gezinen dalga bazal turda kalırken düşük frekanslı seslerde ise bazal turdan başlayarak, apikal tura kadar devam eder (29, 31).

İç ve dış tüylü hücreler mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüşümünde majör rol oynamaktadır. Yine iç kulaktaki sterosilyaların da bu dönüşümde önemli görevleri vardır. Sterosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Bu kanallar sterosilyaların hareketleri ile açılıp kapanmaktadır. Baziller membran hareketleri ile sterosilyalar hareket eder ve iyon kanalları, hareketin yönüne göre açılıp kapanır (29,32).

Normalde endolenfde +80 mV (milivolt) luk bir endolenfatik potansiyel vardır. Endolenfteki pozitif elektrik yüküne karşılık iç tüylü hücrelerde -45 mV, dış tüylü hücrelerde ise -70 mV negatif elektrik yükü vardır. Oluşan bu fark hücre içine doğru potasyum iyonlarının akımına sebep olur. Böylelikle oluşan elektriksel potansiyeller bir takım kimyasal transmitterlerin salgılanmasına neden olur. Oluşan bu transmitterler baziller membranda oluşan elektrik akımların kendileri ile ilgili afferent liflerine taşınmasını sağlarlar. Bu nörotransmitterin glutamat olduğu düşünülmektedir (27). Sinir lifleri, ilgili oldukları tüylü hücrelerin özelliklerini aynen yansıtırlar. Tüylü hücrelerin karakteristik frekansları ve non lineer özellikleri aynen sinir liflerinde de görülür. Böylelikle sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre korti organında kodlanır (29, 32). Oluşan bu enerji sinir impulsları doğurarak, sesi VIII. sinir lifleri ile merkeze iletir. Uyarıyı taşıyan lifler, ses frekanslarına göre beyinde değişik yerlerde sonlanırlar. Yüksek tonlarda uyarılan lifler temporal lobtaki sylvian yarığında yerleşmiş olan işitme merkezinin derinliklerinde, düşük tonlarda uyarılanlar ise yüzeyde sonlanırlar.

2. 3. Otoakustik Emisyonlar

2. 3. 1. Tarihçe

1948 yılında Gold iç kulakta baziller membranının hareketlerinin otoakustik emisyonlara yol açtığı ve bunların dış kulak yolundan kayıt edilebileceğini öne sürmüştür.

Otuz yıl sonra David Kemp bu buluşu geliştirerek kokleanın pasif bir transdüktör olmadığı, skala vestibüli, reissner membranı, baziller membran ve skala timpani sisteminin osilasyonunun sadece uyarın enerjisine bağılı olduğı yönündeki öne sürdüğü teori ile otoakustik emisyonları keşfetmiştir (28).

Kokleanın ince ayarlarının ve üstün hassasiyetinin sağlanabilmesi için dış tüylü hücrelere ihtiyaç vardır. Koklea içerisinde dış saçlı hücre hareketi mekanik bir enerji ortaya çıkarır. Oluşan bu mekanik enerji oval pencere ile orta kulağı, timpanik zara ve dış kulak kanalına doğru iletilir. Böylece timpanik membranın titreşmesi ile otoakustik emisyon denilen akustik bir sinyal oluşur ve oluşan bu sinyaller dış kulak yoluna yerleştirilen hassas bir mikrofon ile ölçülebilir (34,35).

Otoakustik emisyonlar dış tüylü hücreleri etkileyen ototoksitede işitme kaybı gelişmeden erken koklear değışiklikleri saptamada çok önemlidir. Konvansiyonel odyometriye göre ototoksik etkiyi daha önceden saptayabilmektedir (32,36).

Ancak doğru tanı için orta kulak fonksiyonlarının önceden değerlendirilmesi ve orta kulağın ve dış kulak kanalının sağlam olduğunun anlaşılması gerekmektedir (32, 36).

Sınıflandırma

Otoakustik emisyonlar genel olarak iki'ye ayrılır:

1)Spontan otoakustik emisyonlar

2)Uyarılmış otoakustik emisyonlar

- Geçici uyarılmış otoakustik emisyon(TEOAE)
- Stimulus frekans otoakustik emisyon(SFOAE)
- Distorsiyon ürünleri otoakustik emisyon(DPOAE)

2. 3. 2 Spontan otoakustik emisyonlar:

Herhangi bir uyarı olmadan oluşur. Düşük şiddetteki dar band sinyaller olup, sağlıklı kulakların %72' sinde var olduğunu gösteren çalışmalar vardır (37).

İnsanda 1-3 kilohertz (kHz) aralığında yoğunlaşmaktadır. Amplitüdüleri 20-25 dB arasında yer almaktadır.

Otuz dB'i aşan sensörinöral işitme kayıplarında genelde alınmaz. Yenidoğanlarda çoğunlukla 2500-5000 Hz arasında gözlemlenirken erişkinde 2000 Hertz (Hz) frekans bölgesinde ortaya çıkar. Spontan otoakustik emisyonların (SOAE) yaş ilerledikçe hem amplitüdü hem de görülme sıklığı düşer ve aynı zamanda ototoksik ilaçlardan ve gürültüden etkilenir.

Spontan otoakustik emisyonlar, dış kulak kanalına yerleştirilen bir mikrofon ile elde edilebilmektedir. Ölçüm yapılan kişinin bir ya da her iki kulağında saptanabilir. Her iki kulakta saptandığı zaman aynı frekansta olmak zorunda değildir. Sağ kulakta daha sık saptanmakla birlikte kadınlarda erkeklere oranla ik kat daha sık gözlenir (34).

Spontan otoakustik emisyonların frekansları birçok faktörden etkilenebilir. Bu faktörler; vücut ısısı, hormonal değişiklikler, menstruasyon dönemi, beyin omurilik sıvısı (BOS) basıncı (yatar pozisyonda yüksek olan bos basıncı nedeni ile oturur pozisyona göre SOAE lar daha yüksek frekansta saptanmıştır) olarak sayılabilir (38).

2. 3. 3 Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar:

Eksternal bir uyarı sırasında ya da sonrasında ortaya çıkarlar.3 tane alt gruba ayrılır:

Geçici uyarılmış Otoakustik Emisyon (Stimulus Frekans Otoakustik Emisyon (SFOAE)

- Distorsiyon Ürünleri Otoakustik Emisyon (DPOAE)

2. 3. 4. Geçici uyarılmış Otoakustik Emisyon (TEOAE):

Geçici uyarılmış otoakustik emisyonlar, 0.5-6 kHz frekans arasında orta yoğunlukta geniş band klik ses kullanılarak elde edilir. Hassas bir mikrofon ve 80 dB şiddetinde bir ses kaynağı bir kulak probu içinde bir araya getirilerek dış kulak kanalına

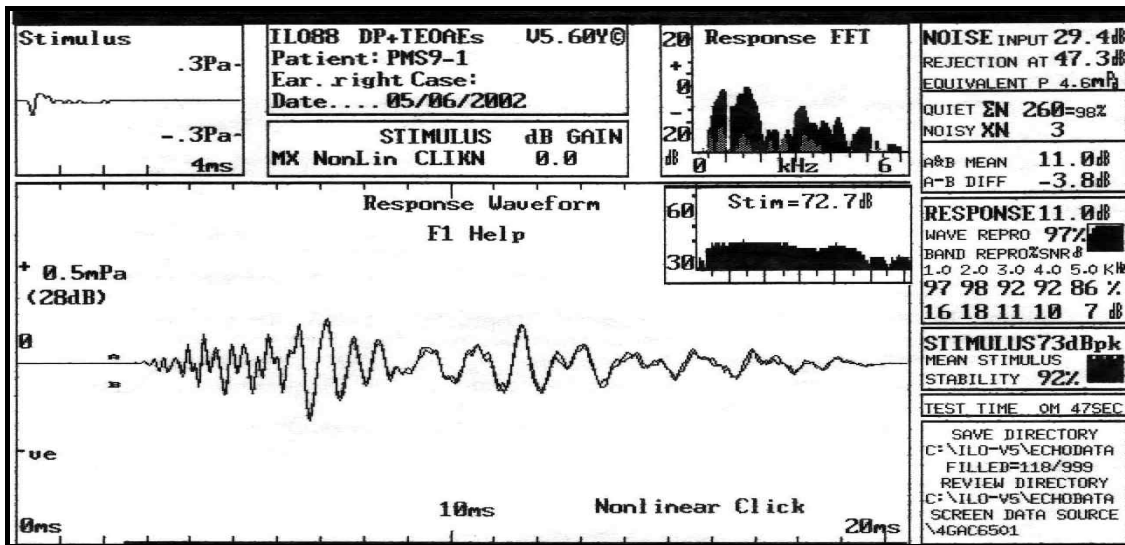
yerleştirilir. Uyarı verildikten belirli bir latans süresi sonrasında ortaya çıktığı için, 20 milisaniyelik (ms) kayıt aralığının ilk iki ms'si sıfırlanarak çizdirilir (38). Test yapılırken nonlinear stimulus yöntemi kullanılmakta, DKY'na verilen kliklerden sonra elde edilen yanıtlar averajlanmaktadır. Toplam 260 averajlamadan sonra test biter. Emisyonlar 0.5-6 kHz frekansta elde edilir. Alınan TOAE lar genellikle zayıftır (30 dB in altında).

Transient otoakustik emisyonlar 25-30 dB'i geçen işitme kayıplarında saptanamamakla birlikte normal işiten vakaların %98 inde vardır. Erişkin ve infantların TOAE ları farklılık gösterir. Amplitüd ve frekans dağılımları farklıdır. İnfant emisyonları erişkinlerden yaklaşık 10 dB daha şiddetlidir (28,39). 5000 Hz'de stimulusun yeterince güçlü olmamasına bağlı olarak çoğunlukla bu frekansta yanıt alınamaz (20).

Sesin katettiği yol yüksek frekanslarda daha kısa olduğu için pes frekanslara göre latanslar daha kısadır. TEOAE latansları 5000 Hz'de dört ms, 500 Hz de 20 ms dir (39).

Bazen işitmesi normal olan kulaklarda dış kulak kanalı ve orta kulağın anatomik özellikleri, gürültü ve ekipman ile ilgili sorunlar nedeni ile TEOAE ların tespiti mümkün olmaz (33).

Şekil 5: Normal bir kişide tespit edilen geçici uyarılmış OAE trasesi



2. 3. 5. Stimulus frekans Otoakustik Emisyon (SFAEO):

Frekans spesifik olarak uzun süreli tonal stimuluslarla elde edilir. Akustik uyararı cevaplardan ayırmada güçlük vardır (40). TEOAE lara göre klinik kullanımı kısıtlıdır. Çünkü hem TEOAE ile ortak koklear orjini taşır ve hem de teknik olarak daha zordur (38).

2. 3. 6. Distorsiyon Ürünleri Otoakustik Emisyon(DPOAE):

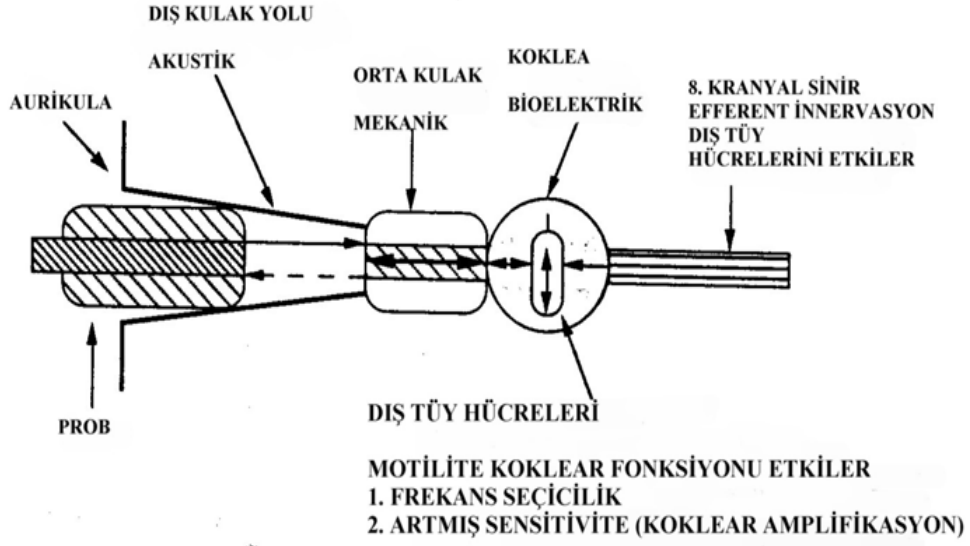
İki akustik stimulusun farklı seviyede ve farklı frekansta simultane olarak verilmesi ile ortaya çıkan emisyon cevaplarıdır. En kuvvetli DPOAE cevapları insanlarda $2f_1-f_2$ frekanslarında elde edilmiştir.

DPOAE ların klinikte iki şekilde ölçüm yöntemi vardır: Birincisinde; farklı f_1 ve f_2 frekanslarında ses seviyeleri sabit iken uyarıların verilmesi ve bu frekansların $2f_1-f_2$ formülüne göre ortalamalarının farklı frekanslarda lokalizasyonları ile 0.5-8 kHz gibi geniş aralıkta tipik DPOAE ları elde edilmektedir. İkinci yöntemde ise stimulus şiddeti frekans sabit tutularak artırılır (38,40).

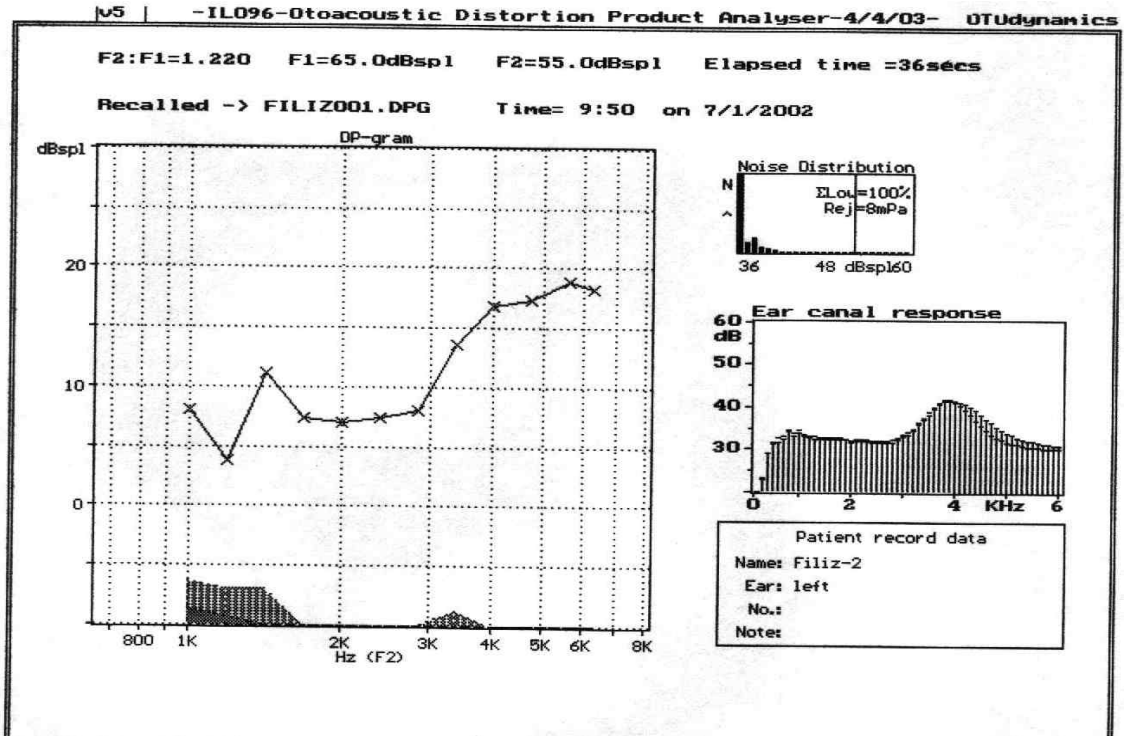
Teknik prosedür ve ölçüm için kullanılan enstrumantasyonlar DPOAE da TEOAE dan daha karmaşıktır. Dış kulak kanalına iki tane minyatür hoparlör iki ayrı frekans ve ses vermek için ve ayrıca bir tane minyatür mikrofona da konması gerekir. DPOAE da uyarıların frekans ve şiddet oranları ölçüm sonuçlarını etkilemektedir (35,42). Ölçümlerin zorluklarına rağmen DPOAE lar periferik işitme sistemi ile ilgili detaylı bilgiler verir. İşitme eşiğinin 15 dB SPL den daha düşük olduğu durumlarda DPOAE lar ölçülebilir fakat işitme eşiğinin 50 dB SPL nin üzerinde olduğu zamanlar kaydedilemez (38).

Nedeni henüz saptanamamakla birlikte sağlıklı erişkinlerde yapılan DPOAE taramalarında 1500 ve 5500 Hz de amplitüd piklerinin tespit edildiği fakat 2000-4000 Hz de amplitüdlere daha düşük gözlemlendiği belirlenmiştir (35,40).

Şekil 6: DPOAE ölçüm prensibi (41)



Şekil 7: Normal bir kişide tespit edilen DPgram trasesi



Klinik olarak en çok TEOAE ve DPOAE lar kullanılmaktadır. Kullanım alanları arasında;

1-Tanı amaçlı kullanım: Ototoksisite, gürültüye bağlı işitme kaybı, presbiakuzi, konjenital-ailesel işitme kayıpları, meniere hastalığı, ani işitme kayıpları, akustik nörinom tanılarında,

2-Tarama amaçlı kullanım: Yenidoğan işitme taraması, oyun çocuğu işitme taraması, mesleki işitme kaybı riski olanlarda taraması için,

3-Monitörizasyon amaçlı kullanım: Ototoksik ilaç kullanımı, gürültüye bağlı işitme kaybı, progresif işitme kayıpları, intraoperatif monitörizasyon (akustik nörinomda) için kullanılır.

2. 4. Ototoksisite

Ototoksisite iç kulağın; ilaçlar, kimyasal maddeler, gürültü, infeksiyon gibi eksternal uyarılar sonucunda zarar görerek, işitme kaybı, denge bozukluğu, tinnitus gibi semptomların ortaya çıktığı tablodur (42). İç kulağa zarar veren ajanların etkileri kalıcı ya da geçici olabilir (9).

Bilateral olarak 250 ile 8000 Hz frekansları arasında en az 10 dB kayıba neden olan herhangi bir madde ototoksik olarak kabul edilir (43).

Ototoksisitede meydana gelen en sık yakınmalar; tinnitus başta olmak üzere işitme kaybı, dengesizlik ve vertigodur. Tinnitus ve işitme kaybı genellikle bilateral ve simetriktr.

Ototoksisite konusunda dikkat edilecek husus; ototoksik ilaç kullanılan hastaların yakından takip edilerek, ilacın toksik etkisinin başladığını saptamak ve ilgili kliniğe bilgi vermektir (43). Böylelikle geriye kalan ototoksik etkinin rehabilitasyonu sağlanmış olmaktadır.

Antibiyotiklere bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları; tinnitus, işitme kaybı ve vertigodur. Tinnitus sonradan oluşacak iç kulak hasarının habercisidir. Tinnitus sıklıkla işitme kaybından önce ortaya çıkar, yüksek perdelidir ve 4-6 kHz arasında değişen frekanslarda görülür. Salisilatlar ve kinin”de işitme kaybı ve tinnitus geri dönüşümlüdür. Loop diüretikler de akut işitme kaybı yapar fakat tedavinin kesilmesi ile işitme normale döner. Antibiyotik kullanımına bağlı işitme kayıpları genellikle üçüncü-dördüncü günlerde olur. Fakat bu bir kural değildir. Bazen tedavinin

ilk dozunda ototoksisite gelişirken bazen de tedavinin bitiminden günler, haftalar, aylar sonra oluşabilir (43).

Ototoksisitedeki işitme kaybı sensörinöral tipte olup çoğunlukla bilateraldir. Bazı hastalar ototoksisite açısından potansiyel risk taşır. Bunlar arasında; karaciğer yetmezliği, böbrek yetmezliği olanlar, immün sistemi zayıf olanlar, ileri yaş, bilinen ototoksik birkaç ajanın aynı anda kullanılması, gürültüye maruz kalma, önceden sensörinöral işitme kaybı (SNİK) olması ve kollagen vasküler hastalıklar sayılabilir (42,44).

Tablo 1: Ototoksik etki gösteren ilaçlar (43);

	Kokleotoksik	Vestibülotoksik
Antibiyotikler		
Aminoglikozidler	+	+
Streptomisin	-	+
Neomisin	+	-
Kanamisin	+	-
Gentamisin	+	++
Netilmisin	+	-
Tobramisin	++	+
Amikasin	+	
Makrolidler		
Eritromisin	+	
Azitromisin		
Klaritromisin		
Vankomisin	+	-
Diüretikler		
Etakrinik asit	++	+
Frusemid	++	+
Bunetanid	+	
Antineoplastik ilaçlar		
Platinum bileşikleri	+	+
Sisplatin	++	+
Karboplatin	+	-
Nitrojen Mustard	+	-
6 aminonikotinamid	+	-
Vinkristin ve Vinblastin	+	-
Misonidazol	+	
Diklorometotreksat	+	+
Lonidamin	+	-
Şelasyon sağlayan ilaçlar		
Defroksamin	+	-
Antiinflamatuvar ilaçlar		
Salisilat	+	-
NSAİİ	+	-
Kinin	++	+
Topikal kulak ilaçları		
Propilen glikol	+	-
Alkol	+	
Benzalkonyum klorid	+	-
İyodoklorohidroksikinolon	+	-
Klorheksidin	+	+
Cresylate	+	-
Poviodin-iodin	+	-
Asetik asit	+	
Polimiksin B	+	-
Polimiksin E	+	-
Kloramfenikol	+	-
Tikarsilin	+	-
Seftazidim	+	-
Diğerleri		
Karbon disülfid	+	-
Toluen	+	-

2. 5. Aminoglikozid Grubu Antibiyotikler Ve Ototoksisite

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden Streptomisin ilk olarak 1944 yılında kullanılmıştır. Aminoglikozid antibiyotiklerin hepsi değişik oranlarda ototoksik etkiye sahiptir (9). Ortalama ototoksisite oranı % 5-10 arasında değişmektedir. Netilmisin en az ototoksik olanıdır (45). Kahlmeter ve Dahlager (1892) 10.000 hasta üzerinde aminoglikozid antibiyotiklerin kokleaya yaptığı etkiyi araştırmışlar ve gentamisinin %8.6, tobramisin %6.1, Amikasinin %13.9 ve netilmisinin %2.4 toksik olduğu tespit edilmiştir (27). Bu çalışmada bazı aminoglikozidlerin hem vestibülotoksik, hem kokleatoksik olduğu, bazılarının da sadece kokleatoksik ya da vestibülotoksik olduğu anlaşılmıştır (tablo 2).

Tablo 2: Bazı aminoglikozidlerin iç kulağa etkileri (43)

	Kokleotoksik	Vestibülotoksik
Streptomisin	-	+
Neomisin	+	-
Kanamisin	+	-
Gentamisin	+	++
Netilmisin	+	-
Tobramisin	++	+
Amikasin	+	

Bütün aminoglikozid antibiyotikler farmakolojik ve biyolojik özellikleri ile birbirine benzemektedir. Aminoglikozidler, bir glikozid zinciri ile aminosiklitol halkasına bağlanmış aminoşekerlerdir. Güçlü bazik ve polar özellikleri vardır. Bu nedenle gastrointestinal sitemden az miktarda emilirler (46, 47). Oral dozun sadece %3'' ü emilebilir (48, 49). Aminoglikozidler dar spektrumlu antibiyotiklerdir. Genellikle aerobik gram negatif infeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (46, 50). Bunun yanında etki spektrumları arasında; Enterobakterler (E.coli, Klebsiella, Proteus, Shigella, Salmonella), Psödomonas aeroginoza, Fransiella tularensis, Yersinya pestis bulunmaktadır. Birçok ilaç ile kombine kullanılabilirler, özellikler penisinler ile kullanıldıkları zaman sinerjik etki oluşturular. En az lipofilik olan antibiyotiklerdir. Doku konsantrasyonları tipik olarak serum düzeylerinin üçte biri oranındadır. Ph, ısı, elektrolit konsantrasyonu, oksijen basıncı ve hematokrit gibi birçok faktörden etkilenir.

Yenidoğan dönemi hariç kan beyin bariyerini geçmeleri önemsizdir (49). Tamamıyla glomerüler filtrasyon ile atılırlar (48,49). Aminoglikozidlerin tek doz enjeksiyonu ile birinci saatte serum piki elde edilirken, altıncı saatte serum seviyesi önemli oranlarda düşer. Perilenfteki pik düzeyine üç-altı saatte yavaşça ulaşır ve 24-36 saatlerde minimal seviyelere iner. Postantibiyotik etkileri nedeni ile etkileri uzundur ve bu nedenle günde tek doz kullanılabilirler (49).

Aminoglikozid antibiyotiklerin etki spektrumları ve ototoksisiteleri farklılık gösterir. (49). Streptomisin klinikte ilk olarak kullanılan aminoglikoziddir ve ilk olarak gram negatif infeksiyonların tedavisi için kullanılmıştır. Günümüzde bu amaçla streptomisinin yerini yeni kuşak aminoglikozidler almıştır fakat tüberküloz tedavisinde halen kullanılmaktadır (51). Streptomisin esas olarak vestibülotoksik bir ilaçtır (49, 51). Yapılan çalışmalarda vestibülün genelde kokleadan önce etkilendiği anlaşılmıştır. Streptomisin ototoksisitesinin tedavi bitiminden iki-altı ay sonra bile ortaya çıkabildiği bildirilmiştir (49). Neomisin parenteral ve oral kullanıldığı zaman ciddi ototoksisite ve nefrotoksisiteye neden olduğu için artık sadece lokal olarak kullanılmaktadır (49, 51,52). Kanamisin ototoksik etkisi neomisine benzer özelliktedir. Gentamisin koklear ve vestibüler duyu hücrelerini etkiler. Vestibüler bozukluk ilk önce oluşur ve kokleotoksik etkiye göre klinik olarak daha sık görülür. Tobramisin hem koklear hem de vestibüler hasara neden olur. Neomisin ve sisomisin yeni aminoglikozidlerden olup ototoksik etkileri gentamisine göre daha azdır (2,28,31)

Kanamisinin sentetik bir derivativesi olan Amikasinin ototoksisite insidansı Gentamisinden daha düşüktür. İlk yarı sentetik aminoglikozid türevidir ve en geniş spektrumlu aminoglikoziddir. Ayrıca aminoglikozidler içerisinde en az direnç gelişen antibiyotiktir. Özellikle Gentamisin tedavisinin başarısız kaldığı gram negatif-aerob hastane patojenlerinin infeksiyonlarında önerilmektedir. Böbrek yetmezliği olmayan hastalarda günlük dozu 15mg/kg/gün dür. Total doz 8-12 saat aralarla intravenöz (İV) ya da intramuskuler (İM) verilir. Maksimum konsantrasyon 15-40 mg/kg'dır. Primer olarak kokleotoksiktir (46). Netilmisin ve sisomisin yeni aminoglikozidlerden olup ototoksik etkisi gentamisine göre daha azdır (49, 52).

Yapılan çalışmalarda otoksisite insidansının semptomatik olarak %2, asemptomatik olarak ise %10 oranında olduğu tahmin edilmektedir (47).

2. 5. 1. Aminoglikozid ototoksitesinin histopatolojisi:

İlk kullanılan aminoglikozid olan streptomisin hayvan ve insanlarda kullanımı sonrası yapılan çalışmalarda başlangıçta sadece beyin sapı ve serebellar alanda ototoksik etki gösterdiği düşünülmüş fakat daha sonraları yapılan daha kapsamlı çalışmalar streptomisin koklear ve vestibüler nörepitelyum yıkımına yol açarak ototoksisiteye yol açtığı tespit edilmiştir (49). Oluşan bu periferik toksisiteyi zamanla yapılan diğer çalışmalarda aminoglikozid grubu tüm antibiyotiklerin yapabileceği gösterilmiştir (49).

Aminoglikozidler esas olarak utrikul ve sakkul makulası ile krista ampullarisin saçlı hücrelerine toksik etki göstermektedir. Hem tip 1 hem de tip 2 duyu hücrelerini etkiler fakat tip 1 hücreler daha çok zarar görür (49).

Aminoglikozidlerin kokleadaki toksik etkileri ilk önce bazal kıvrımın dış tüylü hücrelerinde görülür. Dış tüylü hücrelerin de öncelikle içteki sırası hasar görür (49). Toksik etki arttıkça üst koklear kıvrımlar, dış tüylü hücrelerin dış sırası da hasardan etkilenir. Böylelikle başlangıçta yüksek frekansları tutan işitme kaybı zamanla alçak frekansları da tutar. İç tüylü hücreler genelde etrafındaki tüm dış tüylü hücreler kaybolana kadar canlılıklarını korur (53). Hatta hafif toksisite durumunda iç tüylü hücrelerde sadece minör sitoplazmik değişiklikler görülebilir. Stria vaskülariste atrofiler meydana gelebilir. Çok ciddi toksisite durumunda korti organı kollabe olur ve kaybolur. Nöroepitelyum yıkımı sonrası spiral ganglion atrofiye uğrar ve kemik spiral laminadaki sinir lifleri dejenere olur. Toksik etkinin az olduğu olgularda korti organının destek hücreleri sağlam kalır fakat çok sayıda tüylü hücre kaybı olur (49).

2. 5. 2. Aminoglikozidlerin toksisitesinin etki mekanizması: Yapılan çalışmalarda aminoglikozid ototoksitesinin periferde olduğu bildirilmiştir (47). Aminoglikozid antibiyotiklerin iç kulak sıvılarına penertasyonunun yavaş olduğu ve eliminasyonunun plazmadakinden daha düşük olduğu ve perilenfteki yarı ömürlerinin plazmadakine göre daha büyük olduğu gözlemlenmiştir (47,54). Bu çalışmalardan yola çıkılarak, birçok aminoglikozidin perilenfatik yarı ömür uzunluğunun internsek ototoksik özelliğini yansıttığı düşünülmüştür. İç kulaktaki aminoglikozid konsantrasyonu hiçbir zaman serum düzeyinin üzerine çıkmamaktadır (55).

Aminoglikozid ototoksitesini açıklamaya yönelik en kapsamlı hipotez; hücre membranında yer alan eksi yüklü (aminoglikozidler artı yüklüdür) fosfotidilinositol ile reaksiyona giren aminoglikozidlerin membran permeabilitesini arttırmasıdır. Bu durumda hücre, magnezyum kaybetmeye başlamaktadır. Normalde titrekt tüylü hücrelerde özellikle mitekondride yüksek konsantrasyonda magnezyum vardır. Magnezyum ise oksidatif enzimatik reaksiyonlarda rol almakta ve hücre içerisinde azalması bu reaksiyonları durdurmakta ve sonuçta hücre ölümü ortaya çıkmaktadır (43). Aynı şekilde aminoglikozidler loop diüretikler ile beraber kullanıldıkları zaman hücre permeabilitesini arttırarak hücre içine daha yüksek konsantrasyonda diüretik girmesine neden olup, ototoksitate açısından sinerjik etki göstermektedir (43).

2. 6. Diğer ototoksik ilaçlar

2. 6. 1. Loop diüretikler (Distal diüretikler):

Etakrinik asit, frusemid ve bumetanid, güçlü natriüretik olup, Henle kulpunun çıkan kolunda su ve elektrolitlerin geri emilimini inhibe etmektedirler (56, 57). Özellikle renal yetmezlikli hastalara İV (intravenöz) verildiğinde ototoksik etkileri ortaya çıkar. Frusemid ve etakrinik asid daha çok geçici işitme kaybına neden olur. Nadiren kalıcı işitme yaptığına dair de çalışmalar vardır (56, 57). Bumetanid daha yeni bir loop diüretik olup ototoksik etkileri etakrinik asit ve frusemide göre daha azdır.

Loop diüretikler; histopatolojik olarak saçlı hücre değişikliklerini takiben hasarı esas olarak stria vaskülariste gösterir (57). Strial hasar da kendini çoğunlukla flat tipte bir SNİK şeklinde gösterir (57).

2. 6. 2. Cisplatin:

Subjektif işitme kaybı, tinnitus ve otalji, cisplatin ototoksitesinin semptomlarındandır. Nadir olarak vestibüler semptomlar da görülebilir (56, 57). Cisplatin ototoksitesinin ilk habercisi kalıcı ya da geçici olabilen tinnitustur (57). İşitme kaybı tipik olarak bilateraldir. Başlangıçta 6-8kHz frekansları tutarken, zamanla düşük frekansları da tutacak şekilde ilerleme gösterir (57). Cisplatine bağlı işitme kaybı insidansı %11 ile %91 arasında değişmektedir (62, 57).

Cisplatin, progresif saçlı hücre hasarına neden olan, oldukça ototoksik ve aynı zamanda nefrotoksik bir ajandır. İlaç dozu arttıkça toksik etki de artar (56). Kokleadaki yaptığı hasar, aminoglikozidlerin ototoksik etkilerine benzer. Öncelikle bazal kıvrımdaki dış saçlı hücreler etkilenir. (56,57). Yine de Cisplatin ototoksitesinin mekanizma aminoglikozidler kadar net olarak bilinmemektedir (56).

2. 6. 3. Salisilatlar:

İlk defa 1877 de Muler tarafından tarif edilmiştir (56). Salisilatlara bağlı temel ototoksik etkiler, işitme kaybı ve tinnitus olup, geri dönüşümlüdür. Nadiren vestibüler etkiler de görülebilir. Hafif ve orta düzeylerde, yüksek frekansları tutan, düz bir SNİK görülür. İlacın kesilmesinden 48-72 saat sonra semptomlarda düzelme görülür. Salisilatlar toksik etkilerini daha çok koklear kan akımı üzerine gösterirler. Dış saçlı hücreleri etkileyerek, otoakustik emüsyonları geçici olarak süprese ederler (56).

2.6.4. Eritromisin:

Makrolid grubu antibiyotiktir. Ototoksik etkileri çoğunlukla geri dönüşümlüdür (56).

2.6.5. Kinin:

Romatoid artrit ve Malarya tedavisinde uzun zamandır kullanılmaktadır. Ototoksik etkileri salisilatlara benzer. Başlıca semptomları revrsible işitme kaybı ve tinnitustur (56).

2. 7. Ototoksik ilaçların kulağa etkilerinin monitörize edilmesi:

İlk kez 1991 yılında monitörizasyonun gerekli olduğu yüksek risk grubundaki hastaları belirtmiştir;

Ototoksisite için yüksek riskli hastalar (53)

- Renal yetmezliği olanlar
- Yüksek pik ve pikler arası serum seviyesi bulunanlar
- Daha önceden SNİK olanlar

- Birden fazla ototoksik ilacı bir arada alanlar
- Daha önceden ototoksik ilaç kullanım öyküsü bulunanlar
- Ondört günden daha uzun sürede tedavi görenler
- Koklear ve vestibüler semptomları ortaya çıkanlar
- Altmışbeş yaşın üzerindeki olgular
- Aminoglikozid ve loop diüretiklerini birlikte kullananlar

Ototoksik ilaçların kulağa olan etkileri iki ayrı şekilde monitörize edilebilir:

2. 7. 1. Saf ses odyometrisi ya da işitsel beyin sapı odyometrisi (ABR) ile eşik tayini ve vestibüler testler:

Hiçbir zaman kokleotoksik ilaç kullanan hastalarda monitörizasyon için hastanın işitme kaybı şikayeti beklenmemelidir. Çünkü işitme kaybı geliştiğinde zaten hastanın en az 30 dB'lik bir kaybı oluşmuştur. Bu hastaların belirli aralıklarla saf ses odyometrisi, konuşmayı ayırt etme eşikleri ya da ABR ile takipleri yapılmalıdır. Bazı görüşler 10 dB'lik, bazıları da 20 dB'lik bir düşüşü anlamlı kabul ederek ilacın kesilmesini önerirler. Ne yazık ki çoğunlukla az da olsa işitme kaybı saptandığı anda kokleada kalıcı değişiklikler başlamıştır ve ilacın kesilmesi bile işitme kaybının progresyonunu engelleyemez. Yüksek frekans odyometri ototoksisitenin erken saptanmasında daha güvenlidir (9, 43).

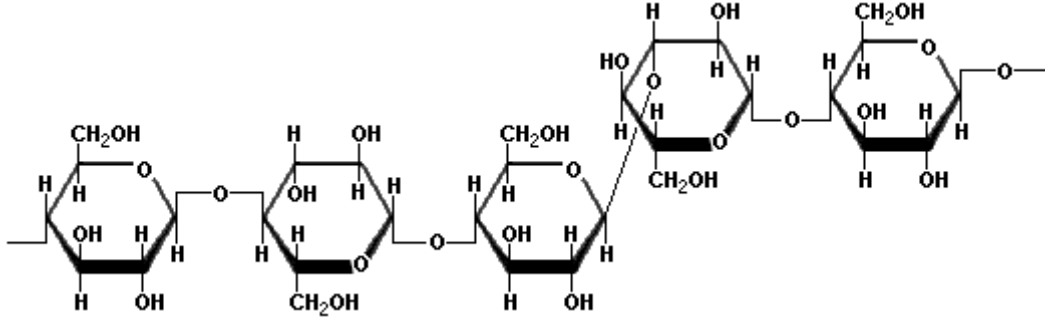
2. 7. 2. Otoakustik emisyon (OAE) takibi:

Saf ses odyogram ve ABR ye ile karşılaştırıldığında kokleotoksisitenin en erken ve kalıcı hale gelmeden belirlenmesinde daha etkindir.

2. 8. Beta glukan

Beta glukanlar, bakteri, maya, mantar, yosun, yulaf ve arpa gibi bazı tahıl bitkilerin hücre duvarlarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. En çok araştırma ise ekmek mayası olan *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen beta glukan tipinden yapılmıştır. Kimyasal olarak Beta 1-3 glukan diye bilinen saflaştırılmış maya, farklı ticari isimlerle kullanılmaktadır (58, 59). Beta glukan içerisindeki beta 1,3 glukan bağı genel

olarak emniyetli bilinir ve bilinen hiçbir yan etkisi ya da toksik etkisi bulunmamaktadır (60). Yapılan birçok çalışma, beta glukanın faydalı etkilerini ortaya koymuştur.



Şekil 8: Beta-glukanın moleküler yapısı

(<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>)

Beta Glukanlar, güçlü immünstimulan ajanlardır. Beta-glukanın en önemli biyolojik aktivitesi, immün sistemi düzenleme yeteneğidir. Çünkü diğer etkileri de bu aktivitesine bağlıdır. Beta-glukanın immüno-regülasyon aktivitesi immün sistem kontrolünde veya makrofaj fagositozunu ayarlama rol oynayan sitokinlerin makrofajlardan salınımını uyarma veya engelleme yeteneğiyle ilişkilidir (60, 61, 62).

Beta-glukanların temel immüno-farmakolojik aktiviteleri; konakçının viral, bakteriyel, fungal ve parazitik enfeksiyonlara karşı direncinin artırılması, antitümör etkisi ve karsinogenezden korunma, zararlı ısınların etkilerinden korunma ve immün sistemi güçlendirme, retikuloendotelial sistemin fagositik ve proliferatif aktivitesinin artırılmasını kapsamaktadır. (60,62)

Beta-glukan; immünostimulan olduğu kadar, immün sistemin potent bir düzenleyicisi olarak da aktivite gösterir. Beta-glukanın immünostimülasyon aktiviteleri arasında kanser hücre büyümesini engellemesi, antimetastatik etki göstermesi, bakteriyel enfeksiyonun azaltılması ya da önlenmesi sayılabilir. Beta-glukanın immün sistem aktiviteleri, helikal konformasyonuna bağlıdır ve moleküler büyüklüğü de biyolojik aktivitesini artırmak için gereklidir (63).

Bununla birlikte bütün glukanlar immün sistemi destekleme anlamında aynı etkinliğe sahip değildir. Ekmek mayasından izole edilen beta-glukan, yulaftan, arpandan, çeşitli mantarlardan ve alglerden elde edilen glukanlara göre daha kuvvetli bir immün sistem düzenleyicisidir (64).

Son yıllarda glukanların faydalı etkileri immün fonksiyonların modülasyonu, antioksidant etkileri ve diğer nonspesifik etkilerine bağlanmaktadır.

Yapılan çok merkezli ve kapsamlı çalışmalarda, beta glukan uygulanan hastalarda, infeksiyon oranlarının anlamlı derecede düştüğü tespit edilmiştir (65, 66, 67, 66).

Oral olarak verilen beta glukan immünomodülatör etkisinin, kolon kanseri modelinde tümör büyümesinde yavaşlamayı sağladığı gösterilmiştir (66, 68, 69).

Ayrıca infeksiyon şiddetini azalttığını göstermek için yapılan bir çalışmada; şiddetli travma hastalarına bir gruba tek başına antibiyotik, diğer bir gruba ise antibiyotik ile birlikte beta glukan verilmiş ve bu hastalardaki infeksiyöz komplikasyonlar ve dolayısıyla oluşacak mortalite insidansı değerlendirilmiştir. Sonuçta antibiyotik ile birlikte betaglukan verilen grupta infeksiyöz komplikasyonlar ve mortalite insidansı, sadece antibiyotik verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğu gösterilmiştir (70).

Beta glukanın önemli etkilerinden birisi de serbest radikal azaltıcı etkisidir. Bilindiği gibi serbest radikaller; yaşlanmayı hızlandırma, kanser gelişiminde rol oynama ve diğer dejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasında sorumlu tutulan ajanlardır.

Patchen ve ark. beta-1,3-glukanın bir serbest radikal süpürücü (antioksidan) olarak iş görebileceğini ve hatta makrofajları radyasyon, toksinler, ağır metallere ve serbest radikallerin oluşturmaya başladığı hasarlardan koruyabileceğini savunmaktadır (71, 72).

Ayrıca deneysel veriler glukanların etkin bir serbest radikal süpürücü olarak görev yapabileceğini ortaya koymuştur (66). Beta-1,3-glukanın antioksidan etkisinin saptandığı 'serbest radikal süpürücü etkisi' deneyleri farklı organizmalarda tekrarlanmıştır (63). Örneğin; Zülfi ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada glukan'ın insan deri hücrelerini oksidatif strese karşı koruma etkisi incelenmiştir. (73)

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda ise sıçanlara ölümcül dozda radyasyon verilmiş, aynı zamanda destek olarak oral yoldan 1 doz beta glukan uygulanmış ve sonuçta sıçanların %70'inin radyasyonun zararlı etkilerinden korunduğu ortaya çıkmıştır (13, 14).

Özetle; beta glukan, infeksiyon, tümör, tümör metastazı ve radyasyon hasarı gibi olumsuz olaylara karşı savunma araçlarından biri olup, antioksidanlar, lipid düşürücüler, antibiyotikler ve diğer terapötiklerin olumlu etkilerine katkı sağladığı ve herhangi bir toksisite ya da yan etkisinin olmadığı bilinmektedir (63). Yanı sıra günümüzde yaslanmayı hızlandıran, kansere neden olduğu bilinen ve farklı dejeneratif hastalıkların etiolojisinde suçlanan serbest oksijen radikalleri ile mücadelede güçlü bir serbest oksijen süpürücü (antioksidan) olan beta-1,3-glukan önemli bir rol oynamaktadır (63).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandıktan sonra (Araştırma Etik Kurul Protokol No: 2009/20), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Bu çalışma için İnönü üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Labaratuarında üretilen, üç aylık ve ağırlıkları 200-280 gr arasında değişen, Wistar albino cinsi dişi rat kullanıldı. Ratlar 12 saat aydınlık,12 saat karanlık, 21°C sıcaklıkta, ad-libitum beslenebildikleri bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara 40 mg/kg Ketamin ve 5 mg/kg Xylazine intramusküler (IM) yolla verilerek anestezi sağlandıktan sonra oluşturulan izocam kullanılarak yaptırılan sessiz kabin içerisinde işitme fonksiyonları değerlendirildi

Resim 1: Hayvanlara OAE yapılan sessiz kabin



Tüm hayvanların işitme fonksiyonlarını değerlendirmek için otoakustik emisyon ölçümleri kullanıldı. Otoakustik emisyon ölçümlerinde distorsiyon ürünü otoakustik emisyonu (DP Gram) değerleri kullanıldı. Çalışmaya işitmesi normal olan toplam 36 hayvan dahil edildi. Hayvanlar dört gruba ayrıldı:

1.grup (Kontrol Grubu): Bu gruba dahil edilen 8 hayvana ilaç verilmeden; sıfırncı, 1., 5., 10., ve 15. günlerde DPOAE ölçümleri yapıldı.

2.grup (Amikasin Grubu): Bu grupta toplam 12 hayvanın her birine 600mg/kg dozda Amikasin (Amikozit, Eczacıbaşı firması) IM yolla, her gün günde bir kez uygulandı. Daha sonra sıfırncı, 1., 5., 10., ve 15. günlerde DP Gram ölçümleri yapıldı.

3.grup (Amikasin-Beta Glukan Grubu): Bu grupta toplam 10 adet hayvanın her birine 600 mg/kg dozda Amikasin IM yolla günde bir kez ve 1 mg/kg dozda Betaglukan (sigma firması) gavajla günde bir kez verildi. Daha sonra sıfırncı, 1. , 5. , 10. , ve 15. günlerde DP Gram ölçümleri yapıldı.

4.grup (Beta Glukan Grubu): Bu grupta sekiz adet hayvanın her birine 1 mg/kg/gün dozda betaglukan gavaj ile her gün günde bir kez verildi. Sıfırncı, 1., 5., 10., ve 15. günlerde DP Gram ölçümleri yapıldı.

Tüm hayvanların başlangıçta ve çalışma sonlandırıldığı zaman kiloları kaydedildi. Hayvanlar çalışma bitiminde servikal dislokasyon yöntemi ile öldürüldü.

3. 1. DPOAE (Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon) Testi Uygulanması

DPOAE testi ölçümünde *GSI Audera DPOAE* (Grason Stadler, Madison,USA) cihazı kullanılmıştır. Otoakustik emisyon probu, ölçüm yapılan kulakta dış kulak yoluna yerleştirilmiştir. Hayvanların sıfırncı gün ölçümlerinde iyi işiten kulakları tespit edilerek tekrarlayan ölçümlere aynı kulakta devam edilmiştir. Probu yerleşiminin kontrolü ve kalibrasyonu test öncesinde otomatik olarak ölçüm sistemi tarafından yapılmıştır. Ölçümler, gürültü düzeyi 45 dB ses basıç düzeyini (SPL) geçmeyen 20x15x10cm²lik izocam kullanılarak yaptırdığımız sessiz kabinde yapılmıştır. DP gram ölçümleri için primer stimulus seviyeleri 65 dB’de eşitlendi (L1=L2). İki ayrı frekans (f1 ve f2) en güçlü yanıtların alınabileceği f2/f1=1.22 olacak şekilde düzenlendi. DP gram ölçümü 2003.9, 2378.9, 2824.2, 3363.3, 3991.1, 4757.8, 5660.2, 6726.6, 8003.9 ve 9515.6 Hz frekanslarında yapılarak sonuçları kaydedilmiştir.

Ratların çalışmaya başlamadan önceki ve çalışma bittikten sonraki ağırlıkları tartılarak not edildi.

3. 2. İstatistiksel analiz :

İstatistiksel değerlendirmede SPSS for Windows Version 13 programı kullanıldı. Ölçülebilir değişkenler Ortalama (\bar{X}) \pm Standart hata (SE) olarak sunuldu. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, grupların kendi içindeki değişimlerin testinde Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

1.grup (Kontrol grubu):

Sekiz rattan oluşan kontrol grubunda herhangi bir ilaç uygulaması (amikasin ya da betaglukan) yapılmamıştır. Bu grup sadece DPOAE yanıtları açısından diğer gruplar ile karşılaştırılmak üzere kullanılmıştır. Ölçümler sıfırncı, 1., 5., 10. ve 15. günlerde, 2003.9, 2378.9, 2824.2, 3363.3, 3991.1, 4757.8, 5660.2, 6726.6, 8003.9 ve 9515.6 Hz de tekrarlanmıştır. Bu grupta bir rat beşinci gün ölçümleri, bir rat ise onuncu gün ölçümleri sonrasında anesteziden uyanamadıkları için çalışma dışı bırakıldı.

DPOAE sıfırncı gün ölçümlerinde ortalama değerler 2003.9 Hz de 2,33SPL, 2378.9 Hz de 7,12 SPL, 2824.2 Hz de 9,38 SPL, 3363.3 Hz de 9,18 SPL, 3991.1 Hz de 11,23 SPL, 4757.8 Hz de 21,15 SPL, 5660.2 Hz de 22,13 SPL, 6726.6 Hz de 23,90 SPL, 8003.9 Hz de 31,92 SPL, 9515.6 Hz de 37,50 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 1, Tablo 1).

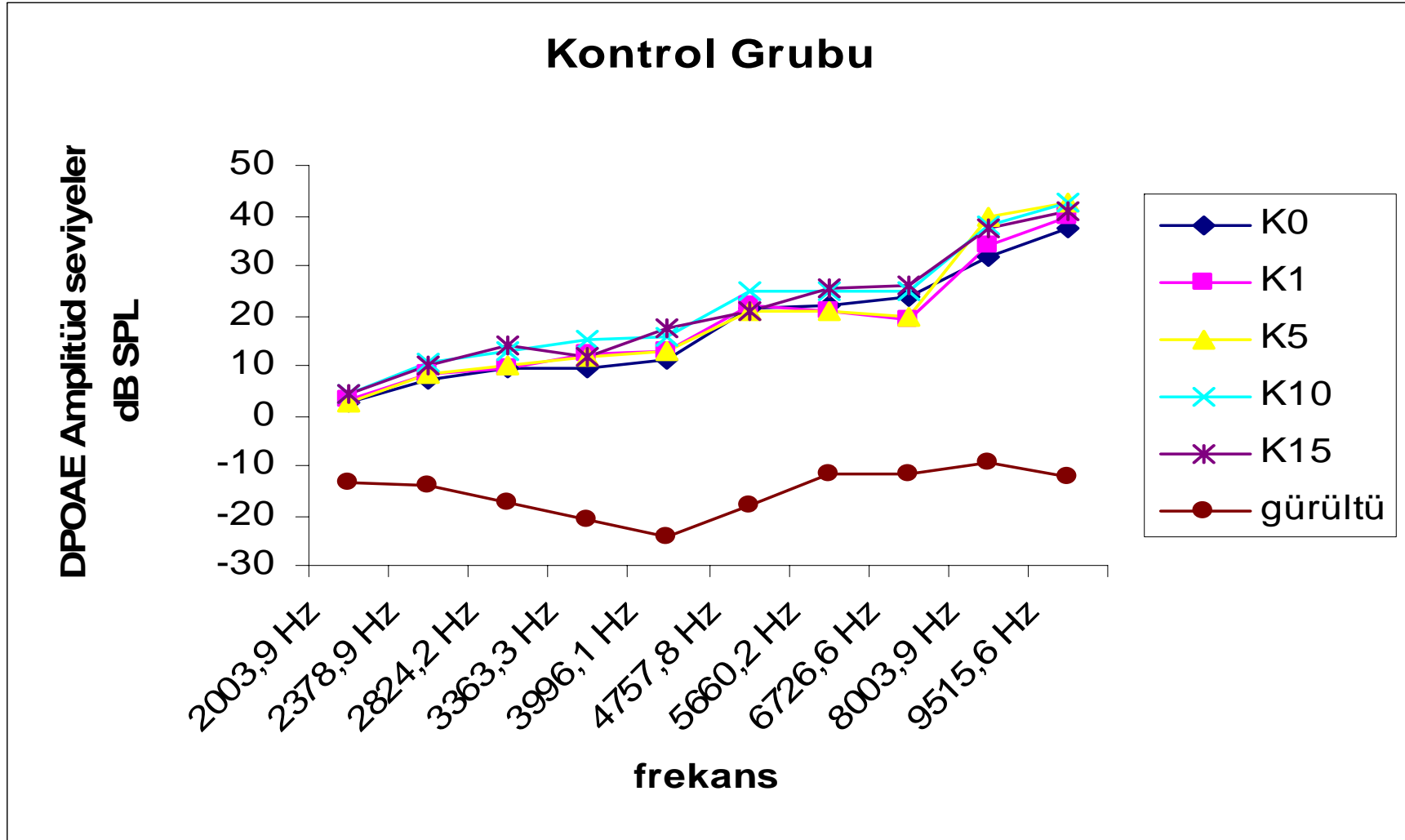
DPOAE birinci gün ölçümlerinde ortalama değerler 2003.9 Hz de 3,33 SPL, 2378.9 Hz de 8,38 SPL, 2824.2 Hz de 9,63 SPL, 3363.3 Hz de 12,38 SPL, 3991,1 Hz de 12,80 SPL, 4757.8Hz de 22,21 SPL, 5660.2 Hz de 20,85 SPL, 6726.6 Hz de 19,35 SPL, 8003.9 Hz de 33,83 SPL, 9515.6 Hz de 39,63 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 1, Tablo 1).

DPOAE beşinci gün ölçümlerinde ortalama değerler 2003.9 Hz de 2,45 SPL, 2378.9 Hz de 8,30 SPL, 2824.2 Hz de 9,77 SPL, 3363.3 Hz de 11,63 SPL, 3991.1 Hz de 12,72 SPL, 4757.8 Hz de 21,00 SPL, 5660.2 Hz de 21,08 SPL, 6726.6 Hz de 21,29 SPL, 8003.9 Hz de 39,82 SPL, 9515.6 Hz de 42,32 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 1, Tablo 1).

DPOAE onuncu gün ölçümlerinde ortalama değerler 2003.9 Hz de 4,47 SPL, 2378.9 Hz de 10,67 SPL, 2824.2 Hz de 13,10 SPL, 3363.3 Hz de 14,87 SPL, 3991.1 Hz de 15,68 SPL, 4757.8 Hz de 24,92 SPL, 5660.2 Hz de 24,95 SPL, 6726.6 Hz de 24,73 SPL, 8003.9 Hz de 38,18 SPL, 9515.6 Hz de 42,69 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 1, Tablo 1).

Onbeşinci gün DPOAE ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 23 SPL, 2378.9 Hz de 10,00 SPL, 2824.2 Hz de 13,95 SPL, 3363.3 Hz de 11,60 SPL, 3991.1 Hz de 17,25 SPL, 4757.8 Hz de 20,62 SPL, 5660.2 Hz de 25,65 SPL, 6726.6 Hz de 25,92 SPL, 8003.9 Hz de 37,69 SPL, 9515.6 Hz de 40,97 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 1, Tablo 1).

Kontrol grubunda 2003.9, 2378.9, 2824.2, 3363.3, 3991.1, 4757.8, 5660.2, 6726.6, 8003.9, 9515.6Hz, frekanslarında yapılan ölçümlerde sıfırıncı, 1., 5., 10. ve 15. günlerde tekrarlanan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).



Grafik 1: Kontrol grubunun istatistiksel karşılaştırması

	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	Fr 6	Fr 7	Fr 8	Fr 9	fr 10
	2003.9 Hz	2378.9 Hz	2824.2 Hz	3363.3 Hz	3991.1 Hz	4757.8 Hz	5660.2 Hz	6726.6 Hz	8003.9 Hz	9515.6 Hz
0. gün	2.3±1.4	7.1±3.5	9.4±4.08	7.7±5.1	11.2±4.3	21.1±3.5	22.1±5.3	23.9±4.4	31.9±3.7	37.5±4.8
1. gün	3.3±2.5	8.4±3.6	11.3±3.7	9.9±5.2	12.8±5.2	21.2±4.9	20.9±4.1	19.4±3.07	33.93.7	39.6±2.8
5. gün	2.4±1.2	8.3±1.9	9.8±3.7	11.7±3.8	12.7±3.8	21.0±2.3	21.1±3.1	24.8±2.9	32.016.3	42.3±3.4
10. gün	4.5±3.1	10.7±2.6	11.1±2.8	14.9±2.9	15.7±2.6	24.9±2.9	24.9±2.6	24.7±2.9	38.1±2.2	42.7±1.8
15. gün	4.2±1.	10.0±2.0	13.9±2.7	11.6±2.5	17.3±1.7	20.6±3.0	25.7±1.7	25.9±2.6	37.7±1.5	40.9±1.8

Tablo 3: Kontrol grubu için mean±SEM(Std. Error of Mean) değerler

2.grup (Amikasin grubu):

Onbeşgün süre ile 600mg/kg dozda amikasin uygulanan 12 rattan beş tanesi çeşitli nedenlerle çalışma esnasında kaybedilmiştir. Bunlardan bir tanesi 1. gün ölçümleri sonrasında anesteziden uyanmamış, dört tanesi ise iştahsızlık, kilo kaybı sonrasında çalışmanın çeşitli aşamaları sırasında toksik etkiye bağlı olarak kaybedilmiştir. Çalışmayı tamamlayan yedi rat değerlendirilmeye alınmıştır.

Bu grubun sıfırncı gün DPOAE ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 1,12 SPL, 2378.9 Hz de 2,56 SPL, 2824.2 Hz de 8,98 SPL, 3363.3 Hz de 88,76 SPL, 3991.1 Hz de 11,8 SPL, 4757.8 Hz de 18,11 SPL, 5660.2 Hz de 21,10 SPL, 6726.6 Hz de 23,86 SPL, 8003.9 Hz de 39,97 SPL, 9515.6 Hz de 41,93 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 2, Tablo 2).

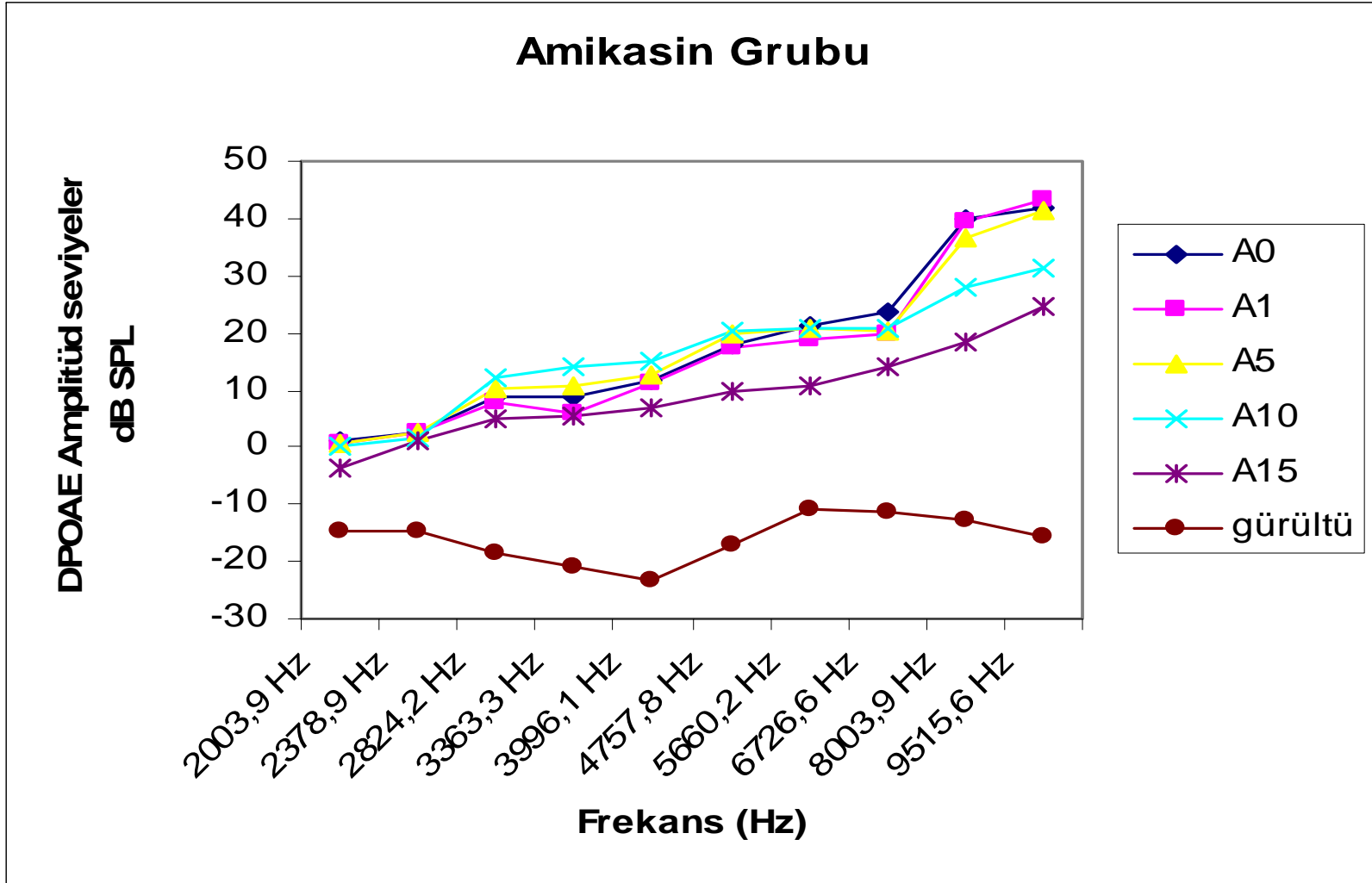
DPOAE birinci ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 0,63 SPL, 2378.9 Hz de 2,55 SPL, 2824.2 Hz de 7,98 SPL, 3363.3 Hz de 6,16 SPL, 3991.1 Hz de 11,38 SPL, 4757.8 Hz de 17,46 SPL, 5660.2 Hz de 18,81 SPL, 6726.6 Hz de 19,61 SPL, 8003.9 Hz de 39,63 SPL, 9515.6 Hz de 43,28 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 2, Tablo 2).

Beşinci gün DPOAE ortalama değerleri; 200 3.9 Hz de 0,43SPL, 2378.9 Hz de 2,80 SPL, 2824.2 Hz de 10,0 SPL, 3363.3 Hz de 10,90 SPL, 3991.1 Hz de 12,63 SPL, 4757.8 Hz de 20,03 SPL, 5660.2 Hz de 20,26 SPL, 6726.6 Hz de 36,78 SPL, 8003.9 Hz de 39,63 SPL, 9515.6 Hz de 41,27 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 2, Tablo 2).

Bu grubun onuncu gün ölçümleri değerlendirildiğinde DPOAE birinci gün ölçümlerinde ortalama değerler; 2003.9 Hz de 0,36SPL, 2378.9 Hz de 1,76 SPL, 2824.2 Hz de 12,25 SPL, 3363.3 Hz de 14,05 SPL, 3991.1 Hz de 15,23 SPL, 4757.8 Hz de 20,45 SPL, 5660.2 Hz de 20,60 SPL, 6726.6 Hz de 20,88 SPL, 8003.9 Hz de 27,97 SPL, 9515.6 Hz de 31,12 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 2, Tablo 2).

Onbeşinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de -3,6 SPL, 2378.9 Hz de 1,36 SPL, 2824.2 Hz de 4,88 SPL, 3363.3 Hz de 5,45 SPL, 3991.1 Hz de 6,66 SPL, 4757.8 Hz de 9,78 SPL, 5660.2 Hz de 10,88 SPL, 6726.6 Hz de 13,93 SPL, 8003.9 Hz de 18,47 SPL, 9515.6 Hz de 24,80 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 2, Tablo 2).

Bu grup istatistiksel olarak analiz edildiğinde; 3991.1 Hz, 4757.8 Hz, 5660,2 Hz, 6726.6 Hz, 80039 Hz ve 9515.6 Hz”de sıfırncı gün ile 15. gün ölçümleri arasında, ayrıca 8003.9 Hz ve 9515.6 Hz”de sıfırncı gün ile 10.gün ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo-3).



Grafik 2: Amikasin grubunun istatistiksel karşılaştırması

	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	Fr 6	Fr 7	Fr 8	Fr 9	fr 10
	2003.9Hz	2378.Hz	2824.2 Hz	3363.3Hz	3991.1 Hz	4757.8 Hz	5660.2 Hz	6726.6 Hz	8003.9 Hz	9515.6 Hz
0. gün	1.1±3.9	2.6±5.2	8.9±3.9	8.8±4.5	11.9±3.1	18.1±3.03	21.1±3.3	23.9±3.2	39.9±3.5	41.9±3.3
1. gün	0.6±4.5	2.6±5.8	7.9±4.05	4.8±4.5	11.3±2.2	17.4±1.9	18.9±1.9	19.6±2.3	39.8±2.8	43.2±2.1
5. gün	41.3±2.4	2.8±3.9	10.03±4.7	10.9±3.6	12.7±3.8	20.3±2.6	20.7±2.9	20.3±3.2	36.8±2.8	41.2±2.4
10. gün	31.1±2.8	1.8±4.7	12.2±3.4	11.7±3.4	15.2±2.6	20.5±2.7	20.6±2.6	20.9±2.4	27.9±2.8*	31.1±2.6*
15. gün	18.5±3.0	1.4±2.4	4.9±3.5	5.8±3.4	6.7±2.9*	9.8±1.3*	9.8±1.3*	13.9±2.7*	18.5±2.9*	24.8±3.6*

Tablo 4: Amikasin grubu için mean±SEM (Std. Error of Mean) değerleri

*: Bazal ölçümlere göre anlamlı düşük ($p \leq 0.05$)

3. grup (Amikasin-Betaglukan grubu):

Onbeş gün süre ile 600 mg/kg dozda amikasin, 1mg/kg/gün dozda beta glukan uygulanan 10 rattan altı tanesi çalışmayı tamamlayabilmiştir. İki rat anesteziden uyanamama sonrası, iki rat ise iştahsızlık ve kilo kaybı ile kendini gösteren toksik etki sonrası kaybedilmiştir. Çalışmayı tamamlayabilen altı rat değerlendirilmeye alınmıştır.

DPOAE sıfırncı gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 5,22 SPL, 2378.9 Hz de 12,32 SPL, 2824.2 Hz de 13,20 SPL, 3363.3 Hz de 14,76 SPL, 3991.1 Hz de 16,16 SPL, 4757.8 Hz de 23,10 SPL, 5660.2 Hz de 23,78 SPL, 6726.6 Hz de 23,56 SPL, 8003.9 Hz de 40,32 SPL, 9515.6 Hz de 43,86 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 3, Tablo 4).

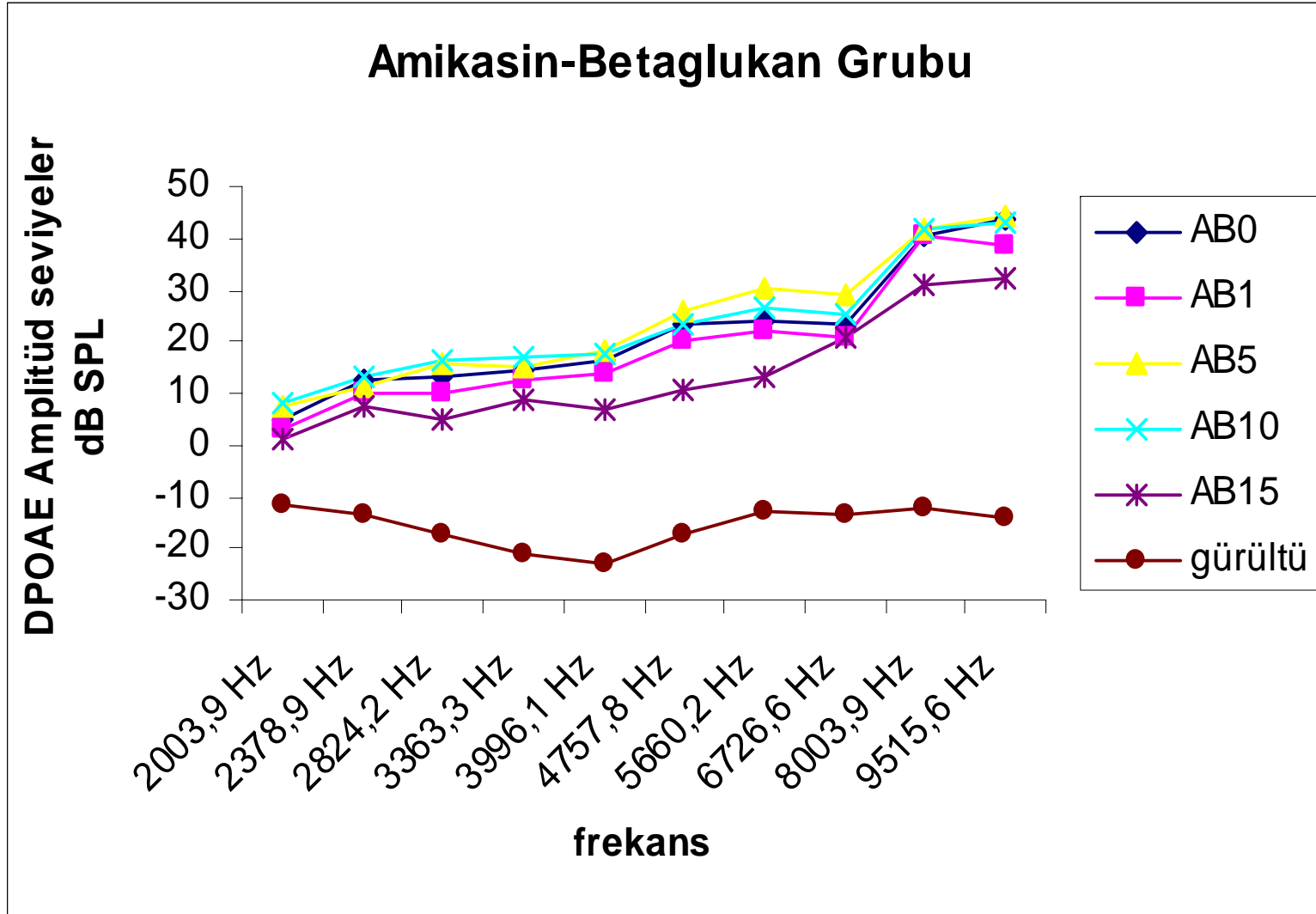
DPOAE birinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 3,04 SPL, 2378.9 Hz de 10,18 SPL, 2824.2 Hz de 9,86 SPL, 3363.3 Hz de 12,3 SPL, 3991.1 Hz de 13,64 SPL, 4757.8 Hz de 20,36 SPL, 5660.2 Hz de 22,24 SPL, 6726.6 Hz de 20,88 SPL, 8003.9 Hz de 40,42 SPL, 9515.6 Hz de 38,46 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 3, Tablo 4).

Beşinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 7,36 SPL, 2378.9 Hz de 11,36 SPL, 2824.2 Hz de 15,90 SPL, 3363.3 Hz de 15,36 SPL, 3991.1 Hz de 18,56 SPL, 4757.8 Hz de 25,92 SPL, 5660.2 Hz de 30,38 SPL, 6726.6 Hz de 29,1 SPL, 8003.9 Hz de 41,98 SPL, 9515.6 Hz de 44,38 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 3, Tablo 4).

Onuncu gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 8,14 SPL, 2378.9 Hz de 13,34 SPL, 2824.2 Hz de 16,18 SPL, 3363.3 Hz de 16,92 SPL, 3991.1 Hz de 17,80 SPL, 4757.8 Hz de 23,36 SPL, 5660.2 Hz de 26,22 SPL, 6726.6 Hz de 25,16 SPL, 8003.9 Hz de 42,05 SPL, 9515.6 Hz de 43,14 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 3, Tablo 4).

Onbeşinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 1,2 SPL, 2378.9 Hz de 7,30 SPL, 2824.2 Hz de 4,76 SPL, 3363.3 Hz de 8,90 SPL, 3991.1 Hz de 6,72 SPL, 4757.8 Hz de 10,73 SPL, 5660.2 Hz de 13,46 SPL, 6726.6 Hz de 20,86 SPL, 8003.9 Hz de 30,74 SPL, 9515.6 Hz de 32,21 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 3, Tablo 4).

Bu grup istatistiksel olarak analiz edildiğinde; 2824.2 Hz, 9515.6 Hz”de sıfırncı gün ile 15. gün ölçümleri arasında, 5660.2 Hz, 6726.6 Hz de sıfırncı gün ile beşinci gün arasında, ayrıca 8003.9 Hz”de sıfırncı gün ile 10.gün ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo-5).



Grafik 3: Amikasin + betaglukan grubunun istatistiksel karşılaştırılması

	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	Fr 6	Fr 7	Fr 8	Fr 9	fr 10
	2003.9 Hz	2378.9 Hz	2824.2 Hz	3363.3 Hz	3991.1 Hz	4757.8 Hz	5660.2 Hz	6726.6 Hz	8003.9Hz	9515.6 Hz
0. gün	5.2±2.1	12.3±3.5	13.2±3.09,	14.8±3.9	16.1±3.3	23.1±3.8	23.8±3.4	23.6±2.9	34.9±8.06	43.9±1.7
1. gün	3.04±2.06	10.1±3.02	9.9±5.01	12.3±4.07	13.7±4.1	20.4±4.9	22.2±3.8	20.9±3.4	34.2±8.06	38.5±3.5
5. gün	7.4±2.9	11.3±4.5	15.9±2.9	15.4±3.9	18.6±2.09	25.9±1.9	30.4±0.8*	29.1±2.3*	41.9±3.02	44.4±3.4
10. gün	8.1±3.1	13.3±3.9	16.1±2.4	16.9±2.2	17.8±2.2	23.4±2.08	26.2±2.7	25.1±3.7	42.05±2.09*	43.1±1.9
15. gün	1.2±0.8	7.3±1.9	4.8±1.9*	8.9±3.1	6.8±1.8	10.8±2.3	20.9±1.04	20.9±1.04	30.8±2.5	32.2±1.8*

Tablo 5: Amikasin-Betaglukan için mean±SEM(Std. Error of Mean) değerleri

*: Bazal ölçümlere göre anlamlı düşük ($p \leq 0.05$)

4. grup (Betaglukan grubu):

Onbeş gün süre ile 1mg/kg/gün dozda betaglukan uygulanan sekiz rattan bir tanesi beşinci gün ölçümlerinden sonra anesteziden uyanamama sonucu kaybedilmiş ve çalışma kalan yedi rat ile tamamlanmıştır.

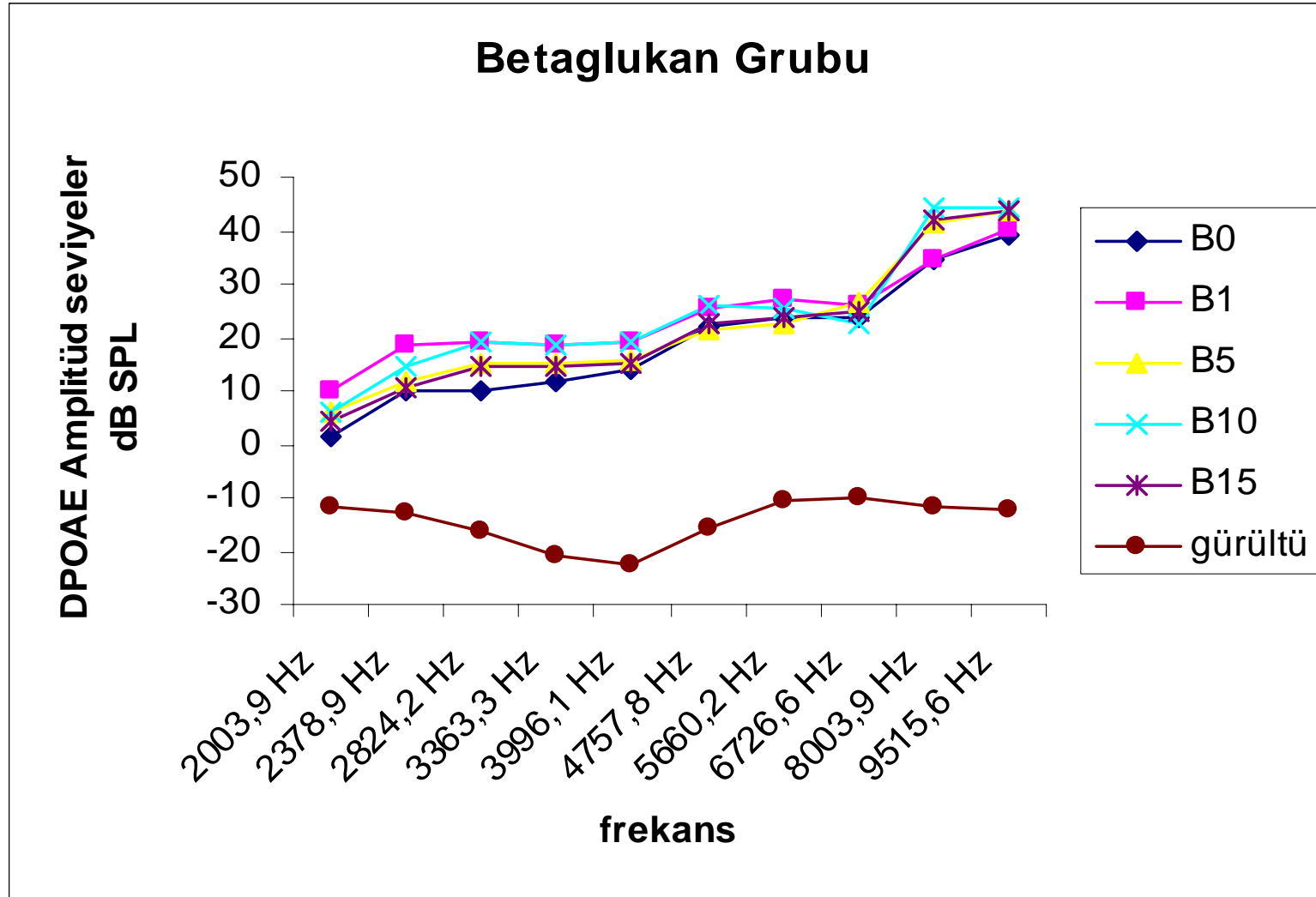
Bu grup değerlendirildiğinde DPOAE sıfırncı gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 1,56 SPL, 2378.9Hz de 10,10 SPL, 2824.2 Hz de 10,11 SPL, 3363.3 Hz de 11,43 SPL, 3991.1 Hz de 14,00 SPL, 4757.8 Hz de 22,21 SPL, 5660.2 Hz de 23,99 SPL, 6726.6 Hz de 23,74 SPL, 8003.9 Hz de 34,77 SPL, 9515.6 Hz de 38,99 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 4, Tablo 6).

DPOAE birinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 9,84 SPL, 2378.9 Hz de 18,49 SPL, 2824.2 Hz de 19,01 SPL, 3363.3 Hz de 18,39 SPL, 3991.1 Hz de 19,21 SPL, 4757.8 Hz de 25,43 SPL, 5660.2 Hz de 26,87 SPL, 6726.6 Hz de 26,19 SPL, 8003.9 Hz de 34,30 SPL, 9515.6 Hz de 40,40 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 4, Tablo 6).

DPOAE beşinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 5,90 SPL, 2378.9 Hz de 11,94 SPL, 2824.2 Hz de 14,89 SPL, 3363.3 Hz de 15,14 SPL, 3991.1 Hz de 15,53 SPL, 4757.8 Hz de 21,47 SPL, 5660.2 Hz de 22,70 SPL, 6726.6 Hz de 26,71 SPL, 8003.9 Hz de 41,35 SPL, 9515.6 Hz de 43,73 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 4, Tablo 6).

Onbeşinci gün ölçümlerinin ortalama değerleri; 2003.9 Hz de 4,43 SPL, 2378.9 Hz de 10,39 SPL, 2824.2 Hz de 14,31 SPL, 3363.3 Hz de 14,33 SPL, 3991.1 Hz de 15,40 SPL, 4757.8 Hz de 22,37 SPL, 5660.2 Hz de 23,84 SPL, 6726.6 Hz de 26,40 SPL, 8003.9 Hz de 41,88 SPL, 9515.6 Hz de 43,45 SPL olarak bulunmuştur (Grafik 4, Tablo 6).

Bu grup istatistiksel olarak analiz edildiğinde; 2378.9 Hz, 2824.2 Hz, 3363.3 Hz, 3991.1 Hz”de sıfırncı gün ile birinci günler arasında, 8003.9 HZ, 9515.6 Hz”de sıfırncı gün ile beşinci gün ölçümleride, 3363.3 Hz, 3991.1 Hz, 8003.9 Hz” de onuncu gün ile sıfırncı gün ölçümleri, 8003.9 Hz “de onbeşinci gün ile sıfırncı gün ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo-7).



Grafik 4: Beta Glukan grubunun istatistiksel karşılaştırması

	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	Fr 6	Fr 7	Fr 8	Fr 9	fr 10
	2003.9 Hz	2378.9 Hz	2824.2 Hz	3363.3 Hz	3991.1 Hz	4757.8 Hz	5660.2 Hz	6726.6 Hz	8003.9 Hz	9515.6 Hz
0.gün	1.6±3.8	10.1±3.02	10.1±3.4	11.4±2.9	14.00±2.7	22.2±2.5	23.9±2.9	23.8±3.2	34.8±1.9	38.9±1.6
1. gün	9.9±3.3	18.5±2.9*	19.01±3.2*	18.4±2.5*	19.2±2.3*	25.4±1.9	26.9±2.2	26.1±2.6	34.3±2.6	40.4±1.7
5. gün	5.9±3.2	11.9±3.2	14.9±3.2	15.1±2.9	15.5±3.4	21.5±3.1	22.7±3.9	26.7±3.01	41.4±1.0*	43.8±1.5*
10 gün	6.1±3.3	14.6±3.9	18.9±2.9*	18.9±2.5*	19.02±3.1*	25.8±2.1	25.3±2.4	22.5±2.3	44.5±3.1*	44.4±2.6
15. gün	4.4±3.03	10.4±3.9	14.3±2.8	14.3±2.9	15.4±2.9	22.4±2.3	23.9±2.3	24.6±2.2	41.9±1.1*	43.5±1.5

Tablo 6: Betaglukan grubu için mean±SEM(Std. Error of Mean) değerleri

*: Bazal ölçümlere göre anlamlı düşük ($p \leq 0.05$)

Ayrıca ratların çalışmanın başlangıcındaki ve bitimindeki kiloları her bir grup için ayrı ayrı tablo 7, tablo 8, tablo 9, tablo 10' da verilmiştir.

Tablo 7: Amikasin grubunda kiloların başlangıç, bitiş ve ortalama değerleri

	Başlangıç (gr)	Bitiş (gr)
A1	191	179
A2	161	157
A3	197	188
A4	160	139
A5	194	167
A6	191	173
Ortalama	182.3	167.1

Tablo 8: Amikasin+Betaglukan grubunda kiloların başlangıç, bitiş ve ortalama değerleri

	Başlangıç (gr)	Bitiş (gr)
AB 1	165	164
AB 2	182	162
AB 3	195	188
AB 4	187	176
AB 5	170	164
Ortalama	182	175

Tablo 9: Kontrol grubunda kiloların başlangıç, bitiş ve ortalama değerleri

	Başlangıç (gr)	Bitiş (gr)
K 1	177	178
K 2	182	187
K 3	183	180
K 4	166	151
K 5	195	182
K 6	243	242
Ortalama	191	186.6

Tablo 10: Betaglukan grubunda kiloların başlangıç, bitiş ve ortalama değerleri

	Başlangıç (gr)	Bitiş (gr)
BG 1	153	160
BG 2	159	169
BG 3	175	186
BG 4	181	189
BG 5	174	183
BG 6	198	197
BG 7	163	168
Ortalama	171.8	178.8

Hayvanların başlangıç ve bitiş ağırlıkları değerlendirildiğinde; amikasin grubundaki hayvanlarda başlangıç kilolarına göre bitiş kilolarında belirgin düşüş, betaglukan grubunda ise başlangıç kilolarına göre bitiş kilolarında göreceli artış saptandı.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada aminoglikozid grubu antibiyotiklerden biri olan amikasine bağlı gelişen ototoksisitenin, antioksidan etkinliği bilinen beta-glukan kullanılarak önlenabilirliği DPOAE ölçümleri yapılarak araştırıldı.

Aminoglikozid grubu antibiyotikler, bakterilerin protein sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler. Gram negatif bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılan bu ilaçların bilinen en önemli yan etkileri; nefrotoksisite, ototoksisite ve nöromuskuler blokajdır. Nefrotoksisite ilacı kesince düzelmesine karşılık ototoksik yan etkisi hastaların yarısında ilacı bıraktıktan sonra da devam etmektedir (73). Aminoglikozid konsantrasyonları santral sinir sistemi, solunum yolları, prostat ve göz içerisinde istenilen seviyenin altında kalırken, idrar, böbrek dokusu ve iç kulakta özellikle de endolenf ve perilenfte yoğunlaşır (73).

Aminoglikozidler polikatyonik, büyük moleküllü ve lipide çözünmeyen ilaçlardır. Yapılan histopatolojik çalışmalar aminoglikozid grubu antibiyotiklerin kulakta ilk olarak kokleada bulunan dış tüylü hücrelere (Tip 1 hücreler) zarar verdiğini göstermektedir (3).

Aminoglikozidler esas olarak utrikul ve sakkul makulası ile krista ampullarisin saçlı hücrelerine toksik etki göstermektedir. Hem tip 1 hem de tip 2 duyu hücrelerini etkiler fakat tip 1 hücreler daha çok zarar görür (49).

Aminoglikozidlerin kokleadaki toksik etkileri ilk olarak kokleanın bazal kıvrımında yer alan dış tüylü hücrelerde başlar. Dış tüylü hücrelerin öncelikle içteki sırası hasar görür. Toksik etki arttıkça üst koklear kıvrımlar, dış tüylü hücrelerin dış sırası da hasardan etkilenir (49,74). Böylelikle başlangıçta sadece yüksek frekansları tutan işitme kaybı zamanla alçak frekansları da tutar. İç tüylü hücreler genelde etrafındaki tüm dış tüylü hücreler kaybolana kadar canlılıklarını korur (52). Hatta hafif toksisite durumunda iç tüylü hücrelerde sadece minör sitoplazmik değişiklikler görülür. Stria vaskulariste atrofiler meydana gelebilir. Çok

ciddi toksisite durumunda ise korti organı kollabe olur ve kaybolur. Nöroepitelyum yıkımı sonrası spiral ganglion atrofiye uğrar ve kemik spiral laminadaki sinir lifleri dejenere olur. Toksik etkinin az olduğu olgularda korti organının destek hücreleri sağlam kalır fakat çok sayıda tüylü hücre kaybı olur (52,74).

Aminoglikozidlerden streptomisin ve gentamisin vestibülotoksik, amikasin, neomisin, kanamisin ve dihidrostreptomisin ise daha çok kokleotoksik özelliktedir. Koklear hasar kalıcı işitme kaybı, vestibüler hasar ise dengesizlik, ataksi ve/veya nistagmusa sebep olur (74).

Bilindiği gibi serbest radikaller; dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük, çok etkin element veya bileşiklerdir (75, 76). Çok reaktif olan bu yapılar, kararlı duruma geçme eğiliminde oldukları için, tek elektronlarını çiftlemek üzere başka moleküller ile reaksiyona girdiklerinde onların yapılarını değiştirebilirler. Bir serbest radikal, çiftlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir moleküle verebilir veya tek elektronunu çiftlemek üzere, diğer molekülden bir elektron alabilir. Bu olaylar zinciri antioksidan bir ajan tarafından kırılana kadar devam eder (77).

Serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile endojen ve eksojen kaynaklardan oluşabilmektedir. Eksojen kaynaklardan ilaçlar ve radyasyon en önemlileridir (76).

Serbest oksijen radikalleri hücre bileşenlerinden olan lipid, protein ve nükleik asit gibi yapıları okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri serbest radikallerle karşılaştığı zaman yaygın peroksidasyon oluşur. Neticede hücre membran bütünlüğü bozulur. Bu olaylar zinciri hücre ölümü ile sona erer.

Normal şartlarda dolaşımında serbest radikaller bulunmaktadır. Bu radikallerin zararlı etkileri yine vücutta mevcut olan bir takım antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmaktadır. Ancak serbest radikallerin bir şekilde fazla üretilmesi, ya da antioksidan savunma sisteminin zayıflaması, serbest radikallerin toksik etkisini kaçınılmaz kılar (78). İşte bu serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidan stresin; diyabet, kanser, ateroskleroz, ilaçlara bağlı ototoksisite ve nefrotoksisite gibi birçok olayın patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (78).

Aminoglikozidler, farklı mekanizmalar ile serbest radikaller gibi davranarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu mekanizmalardan biri artı elektrik yüklü olan aminoglikozidlerin eksi elektrik yüküne sahip hücre ve mitokondri membranlarına kolaylıkla bağlanarak hücre membranlarında lipid peroksidasyonu yolu ile membran geçirgenliğinin hızla arttırmasıdır. Bu durumda hem hücre içindeki yapılar dağılmakta hem de membran

geçirgenliği artan hücrenin içerisine giren ilaç miktarı artmaktadır. Bu durum da apoptozisle sonuçlanmaktadır (45, 58,79).

Diğer bir mekanizma ise; aminoglikozidlerin tüylü hücreler içerisine mekano-elektriksel transdüser kanallar aracılığıyla girerek (4) hücre içerisinde demir ile kompleks oluşturması temeline dayanmaktadır. Oluşan aminoglikozid-demir kompleksi, araşidonik asit metabolizmasından oluşan serbest oksijen radikalleri gibi elektron vericileri ile reaksiyona girer. Bundan sonra aminoglikozidler oksijen radikalleri vasıtasıyla enzim aktivasyonu yaparak hücre ölümüne (apoptozis) neden olur (7, 8).

Bu bilgilerin ışığında; aminoglikozid gurubu antibiyotiklerin serbest radikaller üzerinden ototoksositeye neden olduğu söylenebilir.

Antioksidanlar; hem direk hem de dolaylı olarak ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreyi koruyan maddelerdir (79-84). Peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek, reaktif oksijen türlerini toplayıp, lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanları eksojen/endojen kaynaklı olanlar ve enzimatik/non enzimatik olanlar şeklinde sınıflandırmak mümkündür (81, 82).

Oksidan stres, fizyolojik koşullarda mevcut antioksidanlar tarafından dengelenmektedir. Bu denge bozulduğu zaman ise doku hasarı veya hastalık gelişmektedir. Oksidanların organizmaya verdiği zararı en aza indirmek ya da yok etmek için temel olarak yapılması gerekenler; oksidan arttırıcı etkilerden uzaklaşmak, tetiklenen biyokimyasal olayları engellemek, oksidan salgılayan hücreleri etkisizleştirmek veya antioksidan kullanmaktır. Bunların içerisinde en önemlisi ise, belirli düzeyi aşmış oksidanlara doğrudan etki ederek, onları inaktif hale getiren antioksidanların kullanılmasıdır. Günümüzde birçok antioksidan tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bunlara örnek olarak; Rekombinant Süperoksit Dismutaz (SOD), demir şelatörleri (Desferrioksamin), allopurinol, E-C-A vitaminleri, beta karoten, metionin, glutathion, probukol, anjiotensin enzim inhibitörleri verilebilir (84). Ayrıca etkili bir antioksidan olduğu bilinen betaglukanın da tedavi amaçlı kullanımını destekleyen çalışmalar literatürde mevcuttur (85).

Betaglukan, mayaların, tahılların ve fungusların hücre duvarında yapısal bir element olarak bulunan heterojen glikoz polimeridir. Bilinen herhangi bir yan etkisi ve toksisitesi bulunmayan betaglukanın önemli biyolojik aktiviteleri arasında; güçlü immünomodülatör etki, antiinfektif etki, antitümör etki, radyasyon hasarına karşı koruyucu etki, antioksidan etki, vücut sağlığının düzenlenmesi sayılabilir. Birçok biyolojik aktivitesinin yanı sıra beta glikanların iyi bir antioksidan olduğu bilinmektedir (86). Sipali ve ark. (2001) yaptıkları bir

çalışmada, glukonların serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir (15).

Kalcıoğlu ve ark. 1 yaptıkları çalışmaları ile, klinikte yaygın olarak kullanılan bir antikanser ilaç olan ve ototoksik etkisi bilinen cisplatinin, antioksidan bir ajan olduğu bilinen erdostein ile birlikte kullanıldığında koklear fonksiyonlarda koruyucu etki gösterdiğini ve ototoksisiteyi engellediğini bildirmişlerdir (87). Ayrıca başka bir çalışmada da, cisplatinin nefrotoksik ve myelotoksik yan etkilerinin bir diğer antioksidan olan betaglukan ile birlikte kullanıldığında azaldığı gösterilmiştir (88). Bu çalışmalardan yola çıkarak serbest radikaller üzerinden ototoksik yan etkiye neden olan ve günümüzde özellikle gram negatif infeksiyonların kısa süreli tedavisinde kullanılan amikasinin bu yan etkisinin güçlü bir antioksidan olan betaglukan tarafından azaltılıp azaltılamayacağını araştırdık.

Aminoglikozid ototoksitesini önlemeye yönelik pek çok çalışma mevcuttur. Demir şelasyonu yaparak ve serbest radikaller gibi davranarak ototoksisiteye sebep olduğu düşünülen aminoglikozidlerle ilgili yapılan çalışmalarda bir demir şelatörü olan Defferroksaminin aminoglikozid-demir kompleksini etkileyerek gentamisin toksisitesini kısmi engelleyici etkisinin olduğu histopatolojik ve odyolojik olarak gösterilmiştir (89-92).

Dihidroklorobenzoat ve salisilatlar da demir şelatörü ve aynı zamanda antioksidan ajanlardır. Bu ajanlarla yapılan çalışmalarda mevcut etkileri aracılığıyla aminoglikozid toksisitesinden korunmada etkili oldukları bulunmuştur (93, 94, 95).

Ototoksik mekanizmanın olası nedenlerinden bir diğeri olan serbest radikal oluşumunun (96), organizmayı serbest radikallerin hasarından koruduğu bilinen glutatyon ve glutatyonla bağlı enzimatik reaksiyonlar ile önlenebileceği gösterilmiştir (96).

Gentamisin ve amikasin ile ilgili yapılan çalışmalarda D-metioninin birçok farklı antioksidan mekanizmalar aracılığıyla antiototoksik etki gösterdiği ve aynı zamanda glutatyon, histidin ve ebselen gibi antiototoksik diğer ajanlardan daha etkili olduğu gösterilmiştir (97, 98).

α -tokoferol (Vitamin E) (99) ve α -lipoik asit (100) gibi potansiyel serbest radikal temizleyicilerin (antioksidan ajanların) serbest radikaller üzerinden etki ederek gentamisin ototoksitesini engellediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca daha çok akut myokard infarktüsü tedavisinde kullanılan bir diğer antioksidan olan Edavaronun streptomisin ve tobramisin ototoksitesini engellediği yapılan bir çalışma ile gösterilmiştir (101, 102).

Güçlü bir antioksidan olan süperoksit dismutaz ile aynı etkinliği gösteren bir diğer antioksidan M40403 ile yapılan çalışmalarda gentamisin toksisitesine karşı koruyucu etkinliğinin olduğu saptanmıştır. (103)

Erdem ve arkadaşlarının yaptığı hayvan çalışmasında antioksidan olan melatoninin düşük dozlarda amikasin ototoksitesinden koruduğu bildirilmiştir (104). Yine benzer bir çalışmada amikasin ototoksitesinde ginkgo biloba ekstralarının düşük dozda kullanıldığında amikasin ototoksitesinden koruduğu bildirilmiştir (105). Bu iki çalışmada da antioksidanların yüksek dozlarda kullanımında ise ototoksik etkinin arttırdığı bildirilmiş ve antioksidanların bu etkiyi oluşturdukları vazodilatasyona bağlı olarak amikasinin iç kulağa penetrasyonunu arttırmak suretiyle sağladığı şeklinde yorumlanmışlardır.

Bu çalışmada ise güçlü bir antioksidan ve immunmodülatör etkisi bilinen betaglukanın amikasin ototoksitesini azattığı saptanmıştır. Amikasin kullanılan grupta 3991.1 Hz, 4757.8 Hz, 5660,2 Hz, 6726.6 Hz, 80039 Hz ve 9515.6 Hz”de sıfırncı gün ile 15. gün, 8003.9 Hz ve 9515.6 Hz”de sıfırncı gün ile 10.gün ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken amikasin ile birlikte betaglukan kullanılan grupta birçok frekanstaki işitme kaybının saptanmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar betaglukanın amikasinin sebep olduğu ototoksiteyi engelleyebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda betaglukan 1 mg/kg/gün dozunda uygulanmıştır. Daha yüksek dozda uygulanacak betaglukan ile ototoksiteden koruyucu etki arttırılabileceği gibi Erdem ve ark (104) ile Miman ve ark (105) nin çalışmalarında tartıştıkları yüksek doz antioksidanın ters etki ile ototoksiteyi arttırıcı etki de gösterebilir. Bunu ortaya koymak için farklı dozlarda betaglukan kullanılarak yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca çalışmamızın bir sonucu da yalnızca betaglukan kullanılan grupta 2378.9 Hz, 2824.2Hz, 3363.3Hz, 3991.1 Hz”de sıfırncı gün ile birinci gün, 8003.9Hz, 9515.6Hz”de sıfırncı gün ile beşinci gün, 3363.3Hz, 3991.1Hz, 8003.9Hz de sıfırncı gün ile onuncu gün, 8003.9Hz de sıfırncı gün ile onbeşinci gün ölçümleri arasında işitme ölçümlerinin daha iyi olduğu yönünde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Bu sonuçlar betaglukanın tek başına işitmeyi iyileştirici yönde etkisinin olabileceğini göstermektedir. Bu alanda uzun dönem takipli ve farklı dozlar kullanılarak yapılacak çalışmalar konuya açıklık getirebilir.

Sonuç olarak amikasin kullanılarak oluşturulan işitme kaybının amikasinle birlikte betaglukan kullanıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. Bu sonuçlarla güçlü bir antioksidan olan beta glukanın amikasin ototoksitesini azaltabileceği söylenebilir. Bu etkinin doza bağımlı olarak değişiklik gösterip göstermeyeceği ileri çalışmalarda desteklenmelidir.

6. ÖZET

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden amikasin günümüzde gram-negatif aerobik bakterilerin tedavisinde kullanılmaya devam etmektedir. Bu antibiyotiğin bilinen en önemli yan etkilerinden biri ototoksisitedir ve genellikle kalıcı işitme kaybı ile sonuçlanır. Aminoglikozidler, morfolojik olarak öncelikle kokleanın bazal parçasındaki duyuşal hücrelerde hasara neden olurlar. Literatürde farklı antioksidan ajanların oluşun bu hasarı önleyebileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada da bir antioksidan olan betaglukanın amikasinin ototoksisitesine olası koruyucu etkinliği otoakustik emisyon (DPOAE) ölçümleri ile deneysel olarak araştırıldı.

Çalışmamız, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandıktan sonra (Araştırma Etik Kurul Protokol No: 2009/20), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Üç aylık ve ağırlıkları 200-280gr arasında değişen ratlar 12 saat aydınlık,12 saat karanlık, 21°C sıcaklıkta, ad-libitum beslenebildikleri bir ortamda barındırıldı.

Otoakustik emisyon (DPOAE) ölçümlerinde işitmesi normal olan ratlar çalışmaya dahil edildi. Dört grup oluşturuldu. Oluşturulan bir grup kontrol grubu olarak belirlendi ve bu gruba herhangi bir ilaç verilmedi. Diğer gruplar ise amikasin grubu, amikasin+betaglukan grubu ve beta glukan grubu olarak belirlendi. Bazal ölçümleri takiben tüm gruplar için birinci, beşinci, onuncu ve onbeşinci günlerde DP gram ile işitme ölçümleri yapıldı. Antioksidan etki ile koklear toksisitenin engellenip engellenemeyeceği araştırıldı.

İstatistiksel değerlendirmede SPSS for Windows Version 13 programı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, grupların kendi içindeki değişimlerin testinde Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı değerler elde edilmedi. Diğer gruplar için belirli frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.

Sonuç olarak; beta glukan' ın amikasine baęlı koklear hasar üzerinde koruyucu etkisinin olduęunu ve bir tedavi alternatifi olabileceęini dūřunmaktayız.

Anahtar kelimeler: Ototoksisite, otoakustik emisyon, amikasin, betaglukan, rat

7. SUMMARY

Amikacin which is a member of aminoglycoside group antibiotics has been still used in the treatment of gram-negative aerobic bacterial infections. One of the major side effects of this antibiotics is ototoxicity and generally results with permanent hearing loss. Aminoglycosides are firstly damage the sensory cell in the basal portion of cochlea, morphologically, In the literature; it has been shown that this side effect can be prevented by various antioxidant agents. In this study, probable protective effects of betaglucan was evaluated by otoacoustic emission measurements (DPOAE) in the amikacin ototoxicity have been researched experimentally.

Our study was performed in İnönü University Experimental Research Center of Medicine Faculty, after approved by İnönü University Test Animal Ethic Committee of Medicine Faculty (Research Ethic Committee Protocol Number: 2009/20). We used three months old and 200-280 gram weights Wistar Albino genus female rats that has been manufactured in İnönü University Experimental Research Center of Medicine Faculty were used. Rats were harboured 12 hours in daylight and 12 hours in nightlight, in 21°C temperature and ad-libitum feeding ambience.

Rats which have normal hearing in otoacoustic emission measurements were included and four groups were formed. Three groups were formed as the experiment groups; that were the groups taking amikacin, amikacin+Betaglucan and Betaglucan alone. One other group was formed as control group and wasn't injected any drug.

A basal DPOAE measurement were done in all groups and repeated measurement were done in 1st, 5th, 10th and 15th days. By this way cochlear toxicity and antioxidant efficacy against this toxicity was researched.

In statistical analysis SPSS for Windows Version 13 programme was used. Wilcaxon-T test in inner group comparions, and Mann-Whitney U test between the groups were used. $P < 0,05$ was adopted as statistically significant. In measurements that obtained from all groups; significant differance was determined in all three experimental groups in some frequencies, whereas no significant differance found in control group.

As a result we suggest that Betaglucan has a protective effects on the cochlear damage which averts amikacin ototoxicity and can be used as an alternative treatment choice.

Keys Words: Ototoxicity, otoacoustic emissions, amikacin, betaglucan, rats.

8. KAYNAKLAR

1. Doretto MC, Marseillan RF, Pinto-Goncalves R, Olverira JAA, Corrado AP. Reduction of streptomycin-induced acute and chronic toxicities. *Laryngoscope* 1994; 104: 631-637.
2. Matz G, Rybak L, Roland PS, Hannley M, Friedman R, Manolidis S, et al. Ototoxicity of otological antibiotic drops in humans. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;130: 89-94.
3. Nomura K, Naruse K, Watanabe K, Sokabe M. Aminoglycoside blockade of Ca²⁺-activated K⁺ channel from rat brain synaptosomal membranes incorporated into planar bilayers. *J Membr Biol.* 1990;115(3): 241-51.
4. Marcotti W, van Netten SM, Kros CJ. The aminoglycoside antibiotic dihydrostreptomycin rapidly enters mouse outer hair cells through the mechano-electrical transducer channels. *J Physiol.* 2005;567: 505-21.
5. Rybak LP, Ramkumar V. Ototoxicity. *Kidney Int.* 2007;72(8): 931-5.
6. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today.* 2005;10(19): 1313-21.
7. Feldman L, Efrati S, Eviatar E, Abramsohn R, Yarovoy I, Gersch E, et al. Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. *Kidney Int.* 2007;72(3): 359-633.
8. Tepel M. N-Acetylcysteine in the prevention of ototoxicity. *Kidney Int.* 2007;72(3): 359-63.
9. Roland JT, Cohen NL. Vestibular and auditory ototoxicity. In: Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schüller DE, (eds). *Otolaryngology Head & Neck Surgery*, 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc. 1998; 3186-97.
10. Fischel-Ghodsian N. Genetic factors in aminoglycoside toxicity. *Pharmacogenomics.* 2005;6(1): 27-36.
11. Arslan E, Orzan E, Santarelli R. Global problem of drug-induced hearing loss. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884: 1.14.
12. Schacht J. Biochemical basis of aminoglycoside ototoxicity. *Otolaryngol. Clin.* 1993; 26: 845.856.
13. Patchen ML, D'Alessandro MM, Brook I, Blakely WF, MacVittie TJ. Glucan: Mechanisms involved in its "radioprotective" effect. *J Leukocyte Biol.* 1987; 42:95-105.

14. Patchen ML, McVittie TJ, Solberg BD, Souza LM. Survival enhancement and hemopoietic regeneration following radiation exposure: Therapeutic approach using glucan and Granulocyte Colony-stimulating Factor. *Experimental Hematology*. 1990; 13:1042-1048.
15. Tsiapali E, Whaley S, Kalbfleisch J, Ensley HE, Browder IW, Williams DL. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity. *Free Radic Biol Med*. 2001 Feb 15;30(4):393-402.
16. Akyıldız AN: Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt. 1 Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 35-57.
17. Jastreboff PJ, Gray WC, Mattox DE. Tinnitus and Hyperacusis. In: Cummings WC, Fredrickson MJ, Harker LA, Krause JC, Richardson AM, Schuller ED (eds).
18. Hafız G. Kulağın Anatomisi. In Ballenger JJ, Snow JB (eds). *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*. Ankara. Nobel Tıp Kitapevi. 2000; 838-858.
19. Schleuning AJ. Tinnitus. In Bailey JB (eds). *Head and Neck Surgery- Otolaryngology*. Philadelphia. J.B. Lipincott Company 1993;1826-1829.
20. Donaldson JA Duckert LG. Anatomy of the ears. Chapter 2. In: *Otolaryngology*. Paprelle MM, Shumrick DA (Eds). Philadelphia. WB Saunders Company. Vol.1. 1991: 23-58
21. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 3rd ed. Philadelphia: Mosby-Year Book 1998;3198-22.
22. Karasalihoğlu AR. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Ankara. Güneş Kitabevi. 2. Baskı. 1992: 3-16.
23. Akyıldız AN: Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt. 1 Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi. 1998: 77-102.
24. Wright A: Anatomy and ultrastructure of the human ear. Chapter 1. In: Scott-Brown's *Otolaryngology Vol 1*. Kerr AG, Gleeson M (Eds.). London: Butterworth-Heinemann Reed Educational and Professional Publishing Ltd. 1997: 1-50.
25. Santi PA, Mancini P. Cochlear anatomy and Central Auditory Pathways. In: *Otorinolaringoloji- Head and Neck Surgery*. Cummings CW (Ed.) Vol. 4. St Louis Missouri, Mosby Year Book Inc. 1993: 2497-2524.
26. Austin FA: Anatomy of the ear. In: *Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery*. Ballenger JJ, Snow JB (eds.) 15. ed. Williams and Wilkins. 1996: 838-857.

27. Ömür M, Dadaş B. Klinik Baş ve Boyun Anatomisi Cilt 1, İstanbul: Ulusal Tıp Kitabevi, 1996: 181-213
28. Erdem T. Otoakustik emisyonların klinikte kullanım amaçları. (Çeşitli Tiplerde İşitme Kaybı Gösteren veya İşitme Taraması Yapılan 166 Olgunun 287 Kulağı üzerinde Yapılan Çalışma). Uzmanlık Tezi. Ege üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Anabilim Dalı. İzmir 1998.
29. Lee KJ. Anatomy of the ear. In: Essential Otorinolaringology- Head and Neck Surgery. Lee KJ (ed). New York. Medical Examination Publishing Company. 1991: 1-24.
30. John HM, Warren YA. Anatomy and Physiology of Hearing. In: Head and Neck Surgery- Otolaryngology. Bailey BJ (eds). Vol 2. Philadelphia. JB Lippincott Company. 1993: 1441-1461.
31. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external and middle ear. In: Otorinolaringology- Head and Neck Surgery. Cummings CW (ed). Vol 4. St Louis Missouri. Mosby Year Book Inc. 1993: 2483-2496.
32. Kemp DT. Stimulated Acoustic Emissions from within the Human Auditory System. J Acoust Soc Am. 1978; 64:1386-1391.
33. Karasalihoğlu A, Adalı MK, Karasalihoğlu S, Koten M, Acunas B, Uzun C et al. Normal ve Riskli Yenidoğanlarda Transient Otoakustik Emisyon (TOAE) ile İşitme Taraması. Cerrahpaşa Tıp Fak. XIX. Akademik Hafta Pediatrik Otolarengoloji Sempozyum Kongre Kitabı. 1996: 48-53.
34. Penner MJ, Burns EM. The dissociation of SOAEs and tinnitus. J Speech Hear Res. 1987;30: 396-403.
35. Lonsbury-Martin BL. Haris FP, Stagner BB, Hawkins MD, Martin GK. Distortion Product emissions in humans: Basic Properties in normally hearing subjects. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1990;99: 3-14.
36. Brownell WE. Outer hair cell electromotility and otoacoustic emissions. Ear Hear. 1990; 11: 82-90.
37. Penner MJ, Zhang T. Prevalence of spontaneous otoacoustic emissions in adults revisited. Ear Res. 1997;103: 28-34.
38. Ozturan O, Lew H, Jerger J. Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. KBB İhtisas Dergisi. 1994;2(2): 194-205.
39. Brownell WE, Bader CR, Bertrand D. Evoked mechanical responses in isolated cochlear outer hair cells. Science. 1985;227: 194-196.

40. Kunt T, Tekes T. Otoakustik Emisyonlar ve Klinik Uygulamaları. Tıp Fak Dergisi. 1996; 2: 74-78.
41. Hall JW. Otoacoustic Emissions. In: Audiologist Desk Reference. Hall JW (ed). 1998; 237-287.
42. Riggs LC, Matz GJ, Rybak RP. Ototoxicity. In: Head and Neck Surgery-Otolaryngology. Bailey BJ, Caihoun KH (eds). 2nd ed. Philadelphia. Lipincott-Raven. 1998; 2165-2170.
43. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1-2. Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi. 1998; 143-198.
44. Wackym PA, Storper IS, Newman AN. Cochlear and vestibuler ototoxicity. In: The Ear Compherensive Otology. Canalis RF, Lambert PR (eds). Philedelphia. Lippincott Williams and Wilkins. 2000; 571-585.
45. Akalın HE. Aminoglikozidler. Antibiyotik Bülteni. 1992; 2: 3-9.
46. Probst R, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. A review of otoacoustic emissions. Acoust Soc Am. 1991; 112: 50-60.
47. Kemp DT. Otoacuostic emissions. Basic facts and aplications. Audiology in practice. 1989; 1-3.
48. Probst R, Haris FP, Hauser R. Clinical monitoring using otoacoustic emissions. Br J Aodiol. 1993; 27: 85-90.
49. Lonsbury-Martin BL. Introduction to otoacoustic emissions. Am J Otol. 1994; 15: 1-3.
50. Johnsen NJ, Bagi P, Elberling C. Evoked acoustic emissions from the human ear. Findings in neonates. Scand Audiol. 1983; 12: 17-24.
51. Morgan DE, Canalis RF. Auditory screening of infans. Otolaryngol Clin North Am. 1991;24: 277-284.
52. Hotz MA, Haris FP, Probst R. Otoacoustic emissions: an approach for monitoring aminoglycoside-induced ototoxicity. Laryngoscope. 1994; 104: 1130-1134.
53. Martin GK, Probst R, Lonsbury-Martin BL. Otoacoustic emissions in human ears. Normative findings. Ear Hear. 1990;11: 106-120.
54. Balkany T, Telischi FF, McCoy MJ, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Otoacoustic emissions in otologic practice. Am J Otol. 1994; 15: 29-38.
55. Priuska EM, Schact J. Machanism and Prevention of Aminoglycoside Ototoxicity: Outher Hair Cells as Targets and Tools. Ear Nose Throat J. 1997;76: 164-172.

56. Wright A, Forge A, Kotecha B. Ototoxicity. In: Scott-Brown's Otolaryngology. Kerr AG, Gleeson M (eds). Vol 3. Chapter 20. London. Butterworth- Heinemann, Reed Educational and Professional Publishing Ltd. 1997: 1-36.
57. Strinnger SP, Meyerhoff WL, Wright CG. Ototoxicity. In: Otolaryngology. Paparella MM, Shumrick DA (eds). Vol 2. Chapter 46. Philadelphia. WB Saunders Company. 1991: 1653-1669.
58. Vetvicka, Terayama K, Mandeville R, Brousseau P, Kornikakis B, Ostroff G. Pilot study: Orally- administered yeast 1,3-glucan prophylactically protects against antrax infection and cancar in mice. Journal of American Nutraceutical ASSC. 2002;5: 1-5.
59. Yun CH, Estrada A, Van Kessel A, Park BC, Laarveld B. Beta-glucan, extracted from oat, enhances disease resistance against bacterial and parasitic infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003;35: 67-75.
60. Carrow DJ. Beta 1,3-Glucan as a primary immune activator. Townsend Letter for Doctors and Patiens. 1996; 84-91.
61. Babineau TJ, Marcello P, Swails W, Kenler A, Bistran B, Forse RA. Randomized phase ½ trial of a macrophage-specific immunomodulator (PGG-Glucan) in high-risk surgical patients. Annals of Surgery (Ann Surg). 1994;220: 601-609.
62. Browder W, Wiliams D, Peter L, Pretus H, Jones E, McNamee R. Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. Surgery. 1998;104: 224-230.
63. Kayali H, Ozdag MN, Aydın A, Gönül E, Sayal A, Odabaşı Z, Timurkaynak E. The antioxydant effect of beta glucan on oxydative stress status in experimental spinal cord injury in rats. Neurosurg Rev. 2005;28: 298-302.
64. The Cell Wall Polysaccharides Of *Candida Albicans*: Glucan, Manhtan, And Chitin1 C. T. Bıshopf, . Blank,
65. Williams DL, Browder IW, Di Luzio NR. Immunotherapeutic modification of *Escherchia coli*-induced experimental peritonitis and bacteremia by glucan. Surgery. 1983;93: 448-454.
66. Davis JM, Murphy EA, Brown AS, Carmichael MD, Ghaffar A, Mayer EP. Effects of oat beta-glucan on innate immunity and infection after exercise stres. Med Sci Sports Exerc. 2004;36: 1321-1327.
67. Dkernodle S, Gates H, Kaiser AB. Prophlactic anti-infective activity of poly 1-6 beta-D-Glucopyranosyl-1,3 beta -D-Glucopyranose glucan in a guinea pig model of staphylococcal wound infection. Antimicrob Ag Chemoth. 1998;42: 545-549.

68. Taguchi T. Clinical efficacy of lentinan on patients with stomach cancer: end point results of a four-year follow-up survey. *Cancer Detect Prev Suppl.* 1987;1: 333-349.
69. Di Luzio NR, Williams DL, McNamee RB, Edwards BF, Kitahama A. Comparative tumor-inhibitory and anti-bacterial activity of soluble and particulate glucan. *Int J Cancer.* 1979;24: 773-779.
70. Felipe J, Silva MR, Maciel FMB, Soares AM, Mendes NE. Infection prevention in patients with severe multiple trauma with the immunomodulator beta 1-3 polyglucose (glucan). *Gynecology and Obst.* 1993;177: 383-389.
71. Pathcen, M.M. D'Alessandro, I. Brook, W.F. Blakely, and T.J. MacVittie Departments of Experimental Hematology (M.L.P.,M.M.D., I.B.,T.J.M.), and Radiation Sciences (W.F.B.), Armed Forces Radiobiology Research Institute, Bethesda, Maryland
72. <http://www.betaglucan.org/history.htm>
73. Zulli F, Applegate LA, Frenk E, Suter F. Photoprotective effects Of Cm-Glukan On Cultured Human Skin Cells. www.mib.bio.Com
74. Selimoglu E. Aminoglycoside-Induced Ototoxicity. *Curr Pharm Des.* 2007;13: 119-126
75. Aygün G. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş İnfeksiyonlar Sempozyum Dizisi. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2002;31: 39-54.
76. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafarinet K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp Biochem Physiol.* 2003;135: 331-336.
77. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi. 2004;15: 91-96.
78. Del Maestro R. Trace elements, micronutrients and free radicals. Dreosti IE (ed). Humano Press Inc. Clifton. 1991; 25-51.
79. Young SG, Parthasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic?. *West J Med.* 1994;160: 153-164.
80. Schweitzer. Ototoxicity of chemotherapeutic agents. *Otolaryngologic Clin N Am.* 1993;26: 760-789.
81. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993;49: 479-480.
82. Isbir T. Antioksidan sistemler. Endotel. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu. 1994; 92-98.

83. Akkus A. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları No: 38, Sağlık dizisi 5. Konya. 1995.
84. Ichikiawa I, Kiyama S. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int.* 1994;45(1):1-9.
85. Karaduman D, Eren B, Keles ON. The protective effect of beta-1,3-D-glucan on taxol-induced hepatotoxicity: a histopathological and serological study. *Drug Chem Toxicol.* 2010;33: 8-16.
86. Cleary JA, Kelly GE, Husband AJ. The effect of molecular weight and β -1,6-linkages on priming of macrophage function in mice by (1,3)- β -D-glucan. *Immunology and Cell Biology.* 1999;77: 395–403.
87. Kalcıoğlu MT, Kizilay A, Gulec M, Karatas E, Iraz M, Akyol O, Egri M, Ozturan O. The protective effect of erdosteine against ototoxicity induced by cisplatin in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2005;262:856-863
88. Masuda Y, Inoue M, Miyata A, Mizuno S, Nanba H. Maitake beta-glucan enhances therapeutic effect and reduces myelosuppression and nephrotoxicity of cisplatin in mice. *Int Immunopharmacol.* 2009 May;9(5):620-6.
89. Moghal NE, Brocklebank JT, Meadow SR. A review of acute renal failure in children: incidence, etiology and outcome. *Clinical Nephrology.* 1988;49: 91-95.
90. Stapleton F, Jones D, Gren R. Acute renal failure in neonates: incidence, etiology and outcome. *Clinical Nephrology.* 1987;1: 314-320.
91. Mostafa BE, Tawfik S, Hefnawi NG, Hassan MA, Ismail FA. The role of deferoxamine in the prevention of gentamicin ototoxicity: a histological and audiological study in guinea pigs. *Acta Otolaryngol.* 2007;127: 234-239.
92. Conlon BJ, Perry BP, Smith DW. Attenuation of neomycin ototoxicity by iron chelation. *Laryngoscope.* 1998;108: 284-287.
93. Sinswat P, Wu WJ, Sha SH, Schacht J. Protection from ototoxicity of intraperitoneal gentamicin in guinea pig. *Kidney Int.* 2000;58: 2525-2532.
94. Song BB, Sha SH, Schacht J. Iron chelators protect from aminoglycoside-induced cochlear and vestibular toxicity. *Free Radic Biol Med.* 1998;25: 189-195.
95. Chen Y, Huang WG, Zha DJ, Qiu JH, Wang JL, Sha SH. Aspirin attenuates gentamicin ototoxicity: from the laboratory to the clinic. *Hear Res.* 2007;226: 178-82.
96. Sone M, Schachern PA, Paperella MM. Loss of spiral ganglion cells as primary manifestation of aminoglycoside ototoxicity. *Hear Res.* 1998;115: 217-223.

97. Campbell KC, Meech RP, Klemens JJ, Gerberi MT, Dyrstad SS, Larsen DL, et al. Prevention of noise- and drug-induced hearing loss with D-methionine. *Hear Res.* 2007;226: 92-103.
98. Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D, et al. Use of organotypic cultures of Korti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin- induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol.* 1997;18: 559-571.
99. Fetoni AR, Sergi B, Scarano E, Paludetti G, Ferraresi A, Troiani D. Protective effects of alpha- tocopherol against gentamicin-induced oto-vestibulo toxicity: an experimental study. *ActaOtolaryngol.* 2003;123: 192-197.
100. Conlon BJ, Aran JM, Erre JP, Smith DW. Attenuation of aminoglycoside-induced cochlear damage with the metabolic antioxidant alpha- lipoic acid. *Hear Res.* 1999;128: 40-44.
101. Horiike O, Shimogori H, Yamashita H. Effect ofedaravone on streptomycin-induced vestibulotoxicity in the Guinea pig. *Laryngoscope.* 2004;114: 1630-1632.
102. Asplund MS, Lidian A, Linder B, Takumida M,Anniko M. Protective effect of edaravone against tobramycin-induced ototoxicity. *Acta Otolaryngol.* 2008;13: 1-6.
103. McFadden SL, Ding D, Salvemini D, Salvi RJ. M40403, a superoxide dismutase mimetic, protects cochlear hair cells from gentamicin, but not cisplatin toxicity.
104. Erdem T, Ozturan O, Iraz M, Miman MC, Olmez E. Dose-dependent effect of melatonin ototoxicity induced by amikacin in adult rats. 2004;262: 314-321.
105. Miman M.C, Ozturan O, Iraz M, Erdem T, Olmez E, Amikacin ototoxicity enhanced by Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Hearing Research.* 2002;169: 121-129.