



T.C.

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**ODYOLOJİ ve KONUŞMA SES BOZUKLUKLARI YÜKSEK
LİSANS PROGRAMI**

**RATLARDA TAKROLİMUSUN İŞİTME SİSTEMİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Fatmanur KEKEÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA, 2017



T.C.

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**ODYOLOJİ ve KONUŞMA SES BOZUKLUKLARI YÜKSEK
LİSANS PROGRAMI**

**RATLARDA TAKROLİMUSUN İŞİTME SİSTEMİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatmanur KEKEÇ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Selim Sermed ERBEK

ANKARA, 2017

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Odyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Fatmanur Kekeç tarafından yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/06/2017

Tez Konusu: "Ratlarda Takrolimusun İşitme Sistemi Üzerine Etkisi"

TEZ DANIŞMANI: **Prof. Dr. Selim Sermed ERBEK**

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Levent N. Özlüoğlu	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Gonca Sennaroğlu	Hacettepe Üniversitesi
Prof. Dr. Selim Sermed Erbek	Başkent Üniversitesi



ONAY: Bu tez, Başkent Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun ... / 06 / 2017 tarih ve ... / 06 / 2017 Karar Sayısı ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Rengin ERDAL
Enstitü Müdürü



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 23/6/2017

Öğrencinin Adı, Soyadı : Fatmanur KELEÇ

Öğrencinin Numarası : 21420157

Anabilim Dalı : Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı

Programı : Odyoloji ve Konuşma Ses Bozuklukları Yüksek Lisans Programı

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı : Prof. Dr. Selim S. ERBEK

Tez Başlığı : Raflarda Takrolimusun İşitme Sistemi Üzerine Etkisi

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans/Doktora tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 60... sayfalık kısmına ilişkin, 14. / 6.. 2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından ...T.C. ... adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % ..1.2...'dır.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

"Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını" inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:

Onay

23/6/2017

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyad,

Başkent Üniversitesi Enstitüleri
Prof. Dr. Selim Sermiye ERBEK
Dip. Tes. No: 4925
Kulak Burun Boğaz Uzmanı

ETİK KURUL ONAY FORM

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI	KARAR TARİHİ
26	16/48	05/12/2016

Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalında görev yapmakta olan Prof. Dr. Selim Sermed Erbek tarafından yürütülecek olan DA16/48 nolu "Ratlarda takrolimusun işitme sistemi üzerine etkisi" başlıklı araştırma projesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelendi ve etik açıdan uygun olduğuna oybirliği ile karar verildi.



Prof. Dr. Hakan Özkardaş



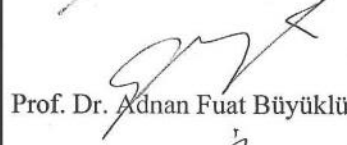
Prof. Dr. A. Eftal Yücel



Prof. Dr. Ali Varan



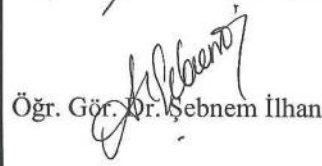
Prof. Dr. Feride Şahin




Prof. Dr. Adnan Fuat Büyüklü



Doç. Dr. Tolga Reşat Aydos



Öğr. Gör. Dr. Şebnem İlhan



Dr. Didem Bacanlı

Katılmadı.
İmdat Akmermer



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlanma imkanı bulduğum, değerli hocam Başkent Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Levent N. ÖZLÜOĞLU'na,

Tez konumun seçimi, çalışmamın planlanması, yürütülmesi, laboratuvar ve sonuçlandırma aşamalarının hepsinde benimle birlikte çalışan, yol gösteren, bilgi ve birikimlerini paylaşan, bilimsel katkılarını sabrını ve hoşgürüsünü esirgemeyerek bana destek olan, yol gösteren, insani vasıflarını her zaman kendime örnek aldığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Selim S. ERBEK'e,

Yüksek lisans programına başlamama olanak sağlayan, bu süreç boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalanma imkanı bulduğum, manevi desteğini her zaman hissettiğim ve çalışma disiplinini örnek aldığım değerli hocam sayın Prof. Dr. H. Seyra ERBEK'e,

Tez çalışmamdaki yardım ve katkılarından dolayı Uzm. Ody. Belde ÇULHAOĞLU'na,

Eğitimim süresince, her zor anımda yardımına koşan, tez çalışması boyunca da yanımda olan, başarımla mutlu olan sevgili dostum dönem arkadaşım Tuğba YORULMAZ'a,

Hayatın tüm zorluklarına rağmen bana her türlü eğitim ve öğrenim olanağını sunan, her zorluğun üstesinden gelebileceğime inanmamı sağlayan, sevgilerini en derinde hissettiğim, sevgili anne ve babam Neriman ve Necdet KEKEÇ'e,

Beni her durumda destekleyen ve cesaretlendiren, kendime inanmamı sağlayan, eğitim hayatım boyunca gösterdikleri anlayış ve sınırsız destekle her zaman yanımda olan, varlıkları ile güç bulduğum biricik kardeşlerim Betül KEKEÇ, Halil ve Gülnur KUL'a,

Fatmanur KEKEÇ

ÖZET

Çalışmamızın amacı; immünosupresif ajanlardan takrolimusun işitme sistemi üzerine etkisinin distorsiyon ürünü ototakustik emisyon (DPOAE) test yöntemi ile araştırmaktır.

Çalışmamıza 20 adet, ortalama 250-350 gram ağırlığında, sağlıklı Spraquey Downey erkek ratlar dahil edildi. Ratlar; aynı oda ve eşit koşullarda 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta 20-22°C sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri, arka plan gürültü seviyesinin 50 dB SPL'nin altında olduğu kafeslerin içerisinde barındırıldı. Tüm ratların genel anestezi altında otoskopik muayeneleri yapıp, dış kulak yolundaki debris ve buşonlar deney öncesinde temizlendi. Genel anestezi, ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazine HCl (Rompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal(ip) verilerek sağlandı. Birinci grup 1mg/kg takrolimus (n=7), ikinci grup 0.1mg/kg takrolimus (n=7) ve üçüncü grup ise (n=6) kontrol grubudur. Çalışmamızda ratlara takrolimus gavaj yoluyla belirlenen dozlarda 30 gün boyunca günde bir kez verilmiştir. Deneye başlamadan önce ratların işitme değerlendirmeleri yapıldı ve testlerde tüm ratların eşiklerinin benzer olduğu bulundu(p>0,005). Daha sonra tüm gruplardaki ratlara 30.günde de DPOAE ölçümleri yapıldı. DPOAE ölçüm sonuçlarının her kulakta farklı çıkabileceği ve birbirinden bağımsız olduğu için tüm deneklerin her iki kulağına birden otoakustik emisyon testi uygulandı.

Çalışmamızda takrolimus ilacı verilmeden önce bütün ratlara DPOAE ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre tüm ratlarda emisyon elde edilmiş ve benzer özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. Her bir grup için takrolimus ilacı verilmeden önce ve verildikten sonraki değerlendirme sonucunda SNR değerlerinde düşme gözlemlendi (Tablo 1,2,3). Tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında ise, takrolimus ilacı verilmeden önce ve verildikten sonraki DPOAE ölçümlerinde SNR değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermedi (Tablo 4,5).

Çalışmamızın sonucunda; yapılan tüm DPOAE ölçümlerinden yola çıkarak takrolimusun en azından verilen doz ve sürede işitme sistemi üzerinde toksik bir etkisinin olmadığı ve işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: ototoksisite, DPOAE, takrolimus, işitme kaybı



ABSTRACT

The aim of the study is to investigate the effect of tacrolimus – an immunosuppressive agent- on hearing system with distortion product otoacoustic emission (DPOAE) test method.

Twenty healthy Spraquey Downey male rats weighing on average 250-350 grams were included to study. Rats were held in cages in the same room and on equal conditions. Background noise level was below 50 dB SPL, the room temperature was 20-22 °C, free water and food were available and light schedule was 12 hours of light and 12 hours of darkness in the room. All rats underwent otoscopic examinations under general anesthesia. Debris and excess ear wax in the external auditory canal of rats were cleaned before the experiment. Intraperitoneal 60 mg/kg of ketamine HCl (Ketalar Ampul, Pfizer, Istanbul) and 6 mg/kg xylazine HCl (Rompun Ampul, Bayer, Istanbul) were used for general anesthesia. There were three groups in the study. The first group was consisted of rats given 1 mg/kg tacrolimus (n=7), the second group included rats given 0,1 mg/kg tacrolimus (n=7) and the third group (n=6) was control group. In our study, rats were given once daily for 30 days at doses determined by tacrolimus gavage. Before the experiment, hearing assessments of all rats were performed and the hearing thresholds of all rats were found to be similar ($p > 0,005$). The hearing assessments of rats in all groups were studied with DPOAE method on the 30th day of the study. Since the emission results could be different in each ear, otoacoustic emission test was applied to both ears of all rats.

DPOAE measurements of all rats were performed prior to administration of tacrolimus. Emissions were obtained in all rats and all were found to be similar as the result of measurements. There were decreases in SNR values after administration of tacrolimus for each group (Table 1, 2, 3). When all groups were compared, the differences between the SNR values obtained from the DPOAE measurements before and after administration of tacrolimus were not statistically significant (Table 4).

As the result of our study, DPOAE measurements revealed that there was no statistically significant difference in hearing thresholds between the groups and suggested that tacrolimus at given doses and duration in this study had no toxic effect on hearing system.

Key words: ototoxicity, DPOAE, tacrolimus, hearing loss



İÇİNDEKİLER

ETİK KURUL ONAY FORM.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR.....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ses Dalgaları ve Özellikleri	3
2.2. Kulak Anatomisi	4
2.3. İşitme.....	9
2.4. Rat Koklea Anatomisi ve İşitme	12
2.5. Otoakustik Emisyonlar.....	14
2.5.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE)	16
2.6. İmmüsupresif İlaçlar	17
2.6.1. Takrolimus	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	37
7. KAYNAKÇA.....	38

KISALTMALAR

ABR: Auditory Brainstem Response : İşitsel Beyinsapı Cevabı

DPOAE: Distortionproduct (distorsiyon ürünü) otoakustikemisyon

OAE : Otoakustik emisyon

SOAE: Spontan otoakustik emisyonlar

TEOAE: Transient evoked otoakustik emisyonlar

CsA: Siklosporin A

FK506: Takrolimus

TNF- α : Tümör nekrotizan faktör- α

FKBP-12: Takrolimus bağlayıcı protein 12

FKBP: Takrolimus bağlayıcı protein

NFAT: Aktive T hücrelerinin nükleer faktörü

GM-CSF: Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör

SNR: Sinyal - gürültü oranı

mm: milimetre

mm²: milimetre kare

Hz: Hertz

kHz: Kilo Hertz

dB: Desibel

SPL: Sound Pressure Level

HL: Hearing Level

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Kulağın yapısı

Resim 2: Koklea kesitinin şematik görünümü

Resim 3: İlerleyen dalga modeli

Resim 4: Rat kokleası

Resim 5: Ratların ve diğer laboratuvar hayvanlarının işitme frekans aralıklarının insanlar ile karşılaştırılması

Resim 6: Takrolimus'un kimyasal formülü

Resim 7: Gavaj kanülü

Resim 8: Madsen Capella 2(GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı

Resim 9: Ratın ölçüm sırasında prob yerleşimi ve ölçüm düzeneği

Resim 10: DPOAE örnek ölçüm ekran resmi

Resim 11: DPOAE örnek ölçüm ekran resmi

Resim 12: DPOAE örnek ölçüm ekran resmi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Grup 1 için DPOAE ölçümler

Tablo 2: Grup 2 için DPOAE ölçümler

Tablo 3: Grup 3 için DPOAE ölçümler

Tablo 4: Tüm gruplar için ilk DPOAE ölçümleri

Tablo 5: Tüm gruplar için son DPOAE ölçümleri



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kimyasal bir ajan ya da ilacın vestibüler ve koklear hasar sonucunda denge bozukluğu, işitme kaybı veya her iki durumun birden ortaya çıkması şeklinde meydana gelmesine ve iç kulak yapısında bozulmaya neden olmasına ototoksisite denilmektedir. Birçok ajan ototoksisiteye neden olmaktadır. Günümüzde diüretiklerin, antibiyotiklerin, antiinflamatuvar ajanların, antineoplastik ajanların ve diğer bazı ilaçların da ototoksisiteyi meydana getirebileceği bilinmektedir.

Ototoksisite çalışmalarında genel olarak ABR testi kullanılmasına karşın, ABR yanıtlarının tüm sinir liflerinin integrasyonu sonucu oluştuğunu, bu nedenle ototoksisitede koklear mikromekaniği göstermede otoakustik emisyonların daha efektif olacağını savunmuşlardır. Otoakustik emisyonlar kendi içerisinde karşılaştırıldığında yüksek frekans seçiciliğinden dolayı DPOAE'nin TEOAE'ye göre üstünlüğü mevcuttur. 4 kHz üzeri ölçümde TEOAE'ye göre daha kullanışlıdır. DPOAE'lerin değişkenliği günler ve haftalar sonra yapılan ölçümlerle araştırılmış ve 5 ila 9 dB arasında farklılık olabileceği görülmüştür. Tüm bu olumlu özelliklerinden dolayı çalışmamızda DPOAE testi tercih edilmiştir(62).

Günümüzde kullanılan immünsüpresif ilaçlarla oluşturulan protokollerin selektif özellikleri gittikçe artmaktadır. İlaçların tek başına kullanılmamaları, istenmeyen yan etkilerini de arttırmaktadır. Farklı grup ilaçların kombine kullanımları hem sinerjik etki sağlamakta, hem de doz azaltımını mümkün kılarak istenmeyen yan etkileri önlemekte, böylece yaşamın kalitesinde artışı mümkün kılmaktadır.

Takrolimusun immünsüpresif etkisinin nasıl olduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, kalsinörin inhibisyonu yaparak, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu ve başta IL-2 olmak üzere IL-4, IL-5 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe ettiği düşünülmektedir. Hedef proteinlerden fosfat gruplarını ayıran ve kalsiyum aktivasyonu yapan enzime kalsinörin denilmektedir. İmmünosupresyonda sitokin inhibisyonu önemli bir hedefdir. Takrolimus da

sitokinlerin transkripsiyonunu engelleyerek immünosupresyonu gerçekleştirmektedir (63). Takrolimus hücre zarından içeri girdiğinde hücre içi reseptörü olan FK-bağlayıcı proteinlere (FKBP12) bağlanmaktadır. FKBP12, T lenfositlerde yaygın olarak bulunan sitozolik bir proteindir. Bu kompleks kalsiyum ve kalmodüline bağımlı fosfataz olan kalsinörinin transkripsiyon faktörü ile etkileşimine fiziksel olarak engel olarak defosforilasyonu önlemektedir ve NF-AT (aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü) ye bağımlı gen transkripsiyonu ve bağışıklık baskılanmaktadır. Takrolimus IL-2 transkripsiyonunu inhibe etmekte ve ek olarak diğer kalsiyum bağımlı olayları da inhibe etmektedir (nitrik oksit sentetaz aktivasyonu, hücre degranülasyonu ve apoptozis). Takrolimus ayrıca mast hücrelerinde hem degranülasyonu hem de IL-3 ve IL-5 gibi sitokinlerin transkripsiyonel aktivasyonunu bloke etmektedir. Sonuç olarak IL-3, IL-4, IL-5, interferon (IF)- γ , tümör nekroz faktör (TNF)- α ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktörler (GM-CSF) gibi diğer sitokinlerin üretimi de azalmış olur.

Literatürde takrolimusun işitme sistemi üzerinde bazı çalışmalarda koruyucu bazı çalışmalarda ise olumsuz etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Bu nedenle çalışmamızın amacı; immünosupresif ajanlardan takrolimusun işitme sistemi üzerine etkisinin distorsiyon ürünü ototakustik emisyon (DPOAE) test yöntemi ile araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Ses Dalgaları ve Özellikleri

Titreşen bir nesnenin ortamda neden olduğu dalga hareketi sağlıklı bir kulak ve beyin tarafından ses olarak algılanır. Sesin varlığından söz edebilmek için titreşim hareketi yapan bir kaynak, dalgaların yayılabileceği maddesel bir ortam ve bu dalgaları algılayıp yorumlayabilecek bir alıcının var olması gerekmektedir (1).

Ses, maddesel olan bir ortamdan dalgalar halinde yayılarak oluşan bir titreşim enerjisidir. Ses ortamda yayılırken moleküller ardışık olarak sıkışıp gevşemektedir. Ses dalgalarının hızı yayıldığı ortamın yapısına göre değişmektedir. Ses dalgaları; katı, sıvı ve gaz ortamlarından geçerken boşluktan geçemez. Ses gaz ortamlarında en yavaş, katı ortamlarda ise en hızlı yayılma özelliğine sahiptir. Sıvı ortamlarda yayılma hızı ise katı ve gaz ortamlarındakinin yarısı kadardır. Sesin hızı deniz seviyesinde 20 derecelik sıcaklıktaki hava tabakasında 344 m/sn olarak bulunmuştur. Ses sıvı ortamlarda ise havaya göre ses 4 kat daha hızlı yayılmaktadır. (1437m/sn). Sesin kemikte yayılma hızı ise 3013 m/sn'dir (2,3).

Sesin saniyedeki titreşim sayısı sesin frekansı olarak tanımlanmaktadır. Hertz (Hz) ile ifade edilmektedir. İnsan kulağı 16-20000 Hz frekans aralığında sesleri duyabilmektedir. Konuşma sesleri için ise en geniş 500-4000 Hz aralığındadır. Ancak insan kulağı her titreşimi ses olarak duyamaz (4).

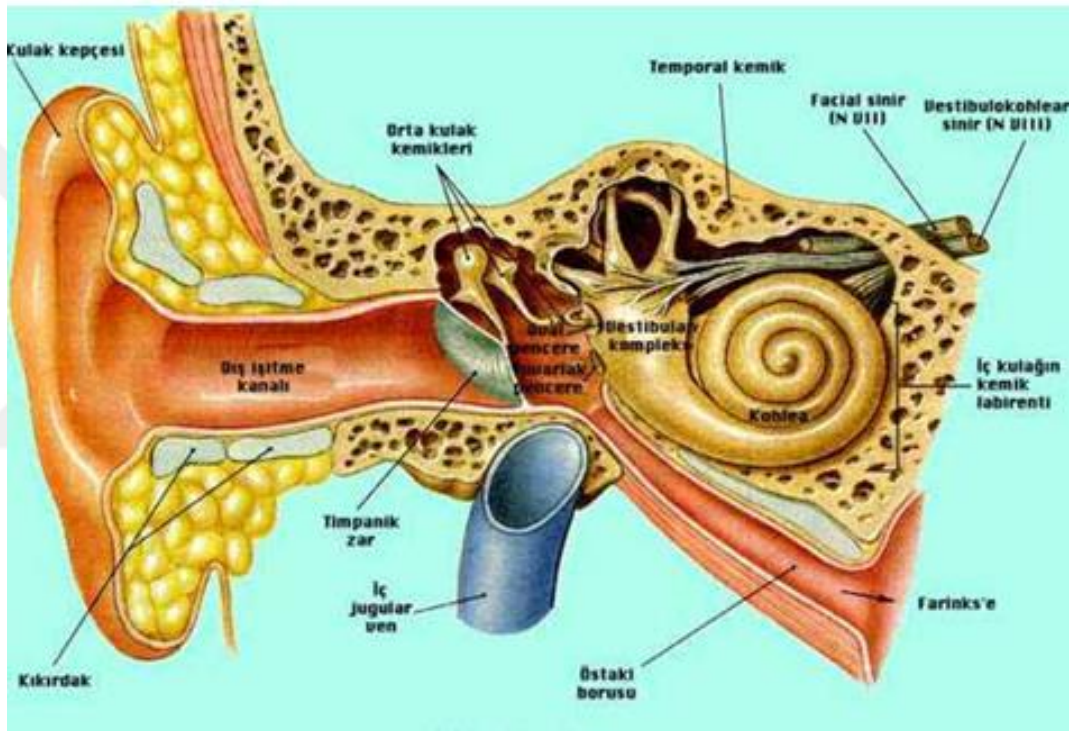
Ses şiddeti (intensity) ses dalgasının birim alana uyguladığı enerji miktarıdır. Birimi watt/cm^2 olarak belirtilmektedir. Pratikte bu birimin logaritmik değeri olan Bell kullanılmaktadır. Bunun da onda birlik değeri desibel (dB)'dir. İnsan kulağının duyabileceği en küçük ses şiddeti $10^{-16} \text{ watt/cm}^2$ 'dir ($0,0002 \text{ dyn/cm}^2$). Bunun dB olarak karşılığı ise 0'dır. Yani normal işitmeye sahip olan bir bireyin duyabileceği en düşük ses seviyesi 0 dB olarak tanımlanırken, en yüksek ses seviyesi ise 140 dB'dir (5).

Bir ortamın ses dalgalarının yayılmasına gösterdiği dirence akustik direnç ya da empedans denilmektedir. Empedans, ortam moleküllerinin yoğunluğu ve esnekliği ile orantılıdır. Ses dalgaları ortam değiştirirken her iki ortamın empedansı birbirine

ne kadar yakın olursa yeni ortama geçen enerji miktarı da o kadar fazla olmaktadır (6).

2.2.Kulak Anatomisi

Kulak temel olarak işitme işlevini sağlamaktadır ve içerisinde denge organını da barındıran anatomik bir yapıya sahiptir. İşitmenin anatomi ve fizyolojisi, dış kulak, orta kulak, koklea ve santral işitme sistemi başlıkları altında değerlendirilmektedir(Resim 1). Her birinin görevleri ve yapıları birbirinden farklıdır (7).



Resim 1: Kulağın yapısı

Dış Kulak

Dış kulak iki kısımdan oluşmaktadır. Pinna (kulak kepçesi) ve lateralde timpanik membran ile sonlanan, ortalama 25 mm uzunluğundadır. Dış kulak yolu; dış $\frac{1}{3}$ kısmı kıkırdak iç $\frac{2}{3}$ kısmı kemik yapıya sahiptir. Pinna (kulak kepçesi) dışa doğru çıkıntı yapan ve gözle görülebilir olan kısımdır. Dış kulak ve baş akustik özelliklerinden dolayı işitmede pasif etkisi vardır. Ayrıca anatomik yapısı ve rezonans özelliklerinden dolayı ses toplama ve sesin yönünün tayin edilmesinde

önemli role sahiptirler (8). Bu durum sadece insanlar için değildir. Dış kulak yolu belirgin olan hayvanlarda da pinnanın temel işlevi aynı olup hassasiyetinde de farklılıklar olabilir (9). Kulak kepçesi, konumu ve şekli nedeniyle sesleri toplar ve yönlendirir ve ses dalgalarını dış kulak yolunda yoğunlaştırır. Böylece 6 desibel (dB)'lik bir kazanç sağlar ve aynı zamanda sesi şiddetlendirmektedir. Dış kulak yolunun bir görevi de havayı vücut sıcaklığına getirmektir (10).

İnsanlarda sesler timpanik membrana 1.5–7 kHz arası 5-20 dB amplifikasyon ile ulaşmaktadır (11). Gerçekleşen bu amplifikasyon ile kulak kepçesinin 5 kHz'e rezonansa sahip olması ve dış kulak kanalının da 2.5-4 kHz arası rezonansa sahip olması etken olmaktadır (12).

Orta Kulak

Orta kulak; kulak zarı, orta kulak kavitesi, kemikçik zincir, östaki tüpü, 2 kas ve 4 ligamentten oluşmaktadır (13).

Ses, dış kulak yolundan geçerek orta kulak yolunda ilerlemeye devam etmektedir. İşitme mekanizmasının gerçekleşebilmesi için orta kulağın temel görevi; dış kulak yolundaki hava boşluğunda bulunan ses enerjisinin, kokleadaki sıvı ortama ulaşmasını sağlamaktır (10). Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken yani direnci düşük olan gaz ortamdaki direnci daha yüksek olan sıvı ortama geçerken ortalama olarak 30 dB enerji kaybına uğramaktadır. Bu kayıp kemikçiklerin kaldıraç etkisiyle telafi edilebilmektedir (14). Orta kulağın, bu ses dalgalarında oluşan enerji azalmasına engel olmak için empedans (direnç) eşitleme rolü vardır (15).

Orta kulağın ses yükseltici etkisi üç mekanizma ile gerçekleşmektedir.

1. Kulak zarının pars tensa bölümü, manubrium malleiye sağlam bir şekilde yapışıktır. Bu nedenle anulusta titreşim olmazken, orta bölümde titreşim olur ve titreşim enerjisi manubrium malleide yoğunlaşır. Böylece ses enerjisi artar, iki katına çıkar.
2. Kemikçikler kaldıraç gibi etki etmektedir. Manubrium mallei ve inkusun uzun kolu olarak, malleus başı kaldıraç destek noktası olarak görev yapmaktadır.

Gelen ses dalgası yada enerjisi ile inkudo-malleolar kompleks bir bütün olarak çalışarak hareket etmektedir.

3. Timpanik membran ve stapes zeminindeki titreşim alanları arasındaki oran 18/1'dir. Timpanik membranın en periferik bölgelerinin titreşmediği düşünülürse etkili olduğu oran 14/1'dir. Yani ses; 14 kat güçlenerek iç kulağa geçmektedir (6,15-17).

Orta kulağın yapısında bulunan timpanik membran, kemikçik zincir, östaki tüpü ve stapes tabanı akustik impedansı gerçekleştirmektedir. Orta kulağın temel görevleri; dış kulak yolundaki hava ortamı ile labirentteki sıvı ortamın impedans eşleşmesi, timpanik membrandan kokleaya akustik vibrasyonların geçişinin sağlanması ve akustik refleks mekanizması ile iç kulağın zarardan korunmasını sağlamak olarak sıralayabiliriz (18).

Timpanik membranın normal titreşim yapabilmesi için orta kulak boşluğu yeterli şekilde havalanmalıdır. Ayrıca membranın medial ve lateral tarafındaki hava basıncının dengeli olması gerekmektedir. Dış kulak yolundaki hava basıncı değiştirilerek işitme üzerine olan etkileri incelendiğinde, dış kulak yolunda mevcut havanın orta kulağa göre pozitif veya negatif basınç değerlerinde olmasının aynı etkiyle sonuçlandığı yani işitmeyi azalttığı görülmüştür. Bu azalma pes sesleri daha fazla, tiz sesleri daha az veya çok az etkilemektedir. Orta kulak ayrıca iç kulağı sesin şiddetli etkilerinden koruyan içi hava dolu bir bariyer olarak nitelendirilebilir. Ayrıca orta kulak boşluğunda yer alan musculus tensor timpani ve musculus stapedius şiddetli ses titreşimlerinin iç kulağa kontrolsüz geçişini engelleyen bir başka koruma mekanizmasıdır. Bu kaslar şiddetli seslerde refleks olarak kasılarak kemikçikleri stabilize eder ve sesin iç kulağa şiddetinin azalarak geçmesini sağlamaktadır (3).

İç Kulak

İç kulak morfolojisinin incelenmesi ve anlaşılması içindeki çeşitli sıvılar ve zar nedeniyle oldukça zor olmuştur. İç kulak morfolojisinin incelenmesinde günümüzde de kabul edilen en önemli çalışma Alfonso Corti (1851) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmaya göre önce dış yapılar temizlenir, hazırlanır ve daha sonra radyal kesitler alınarak yapılar tanınmaya çalışılmıştır. Spiral ganglion, corti, koklear

duktus ve tokterial membran ilk kez tanımlamış ve anatomik olarak bu yapılar çizilmiştir (19). İç kulak, temporal kemiğin petröz bölümünde işitme, denge ile ilgili reseptörler ve organların bulunduğu kısımdır. Yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla orta kulak ile bağlantılı olup koklear ve vestibüler akuaduktuslar aracılığıyla intrakranial yapılar ile bağlantılıdır (6).

Genel olarak bakıldığında kemik ve zar labirent olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (20).

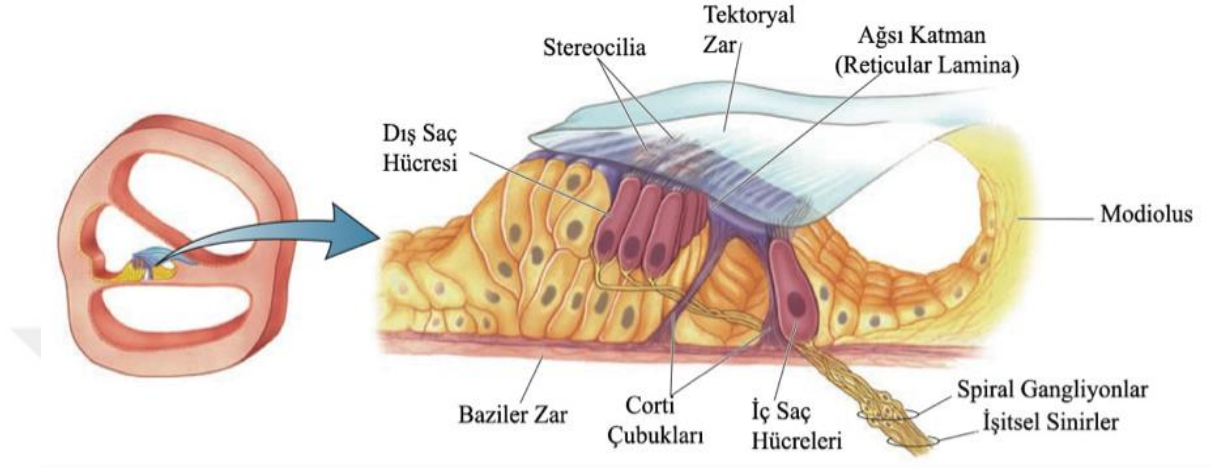
Kemik labirent; otik kapsül dokusundan oluşmaktadır ve içerisinde zar labirent bulunmaktadır. Kemik labirent birbiriyle devamlılık gösteren vestibül, semisirküler kanal ve koklea olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Bu kemik yapılarından ilk ikisi ise vestibüler organın yerleşim yeridir (21).

Vestibül: Düzensiz ovoid kavitede, 4 mm çapındadır. Dış duvarı yuvarlak ve oval pencereye, ön duvara ise semisirküler kanal ile birleşmektedir (22).

Semisürküler kanallar: Vestibülün posteriorunda üç adet semisirküler kanal bulunur. Bunlar anterior (superior), posterior (inferior) ve lateral (horizontal) kanallar olarak isimlendirilmektedir. Her semisirküler kanalın ön ucunda ampulla ismi verilen yapılar bulunmaktadır (23).

Koklea: İç kulağın ön kısmında bulunan, yaklaşık 35mm uzunluğunda ve şekli salyangoza benzeyen organdır. (Resim 2). Modiolus adı verilen koni şeklinde bir yapı etrafında arkadan öne, içten dışa doğru 2,5 defa dolanan bir kanaldır. Ekseninin olduğu modiolusun içinden koklear damarlar ve 8. kraniyel sinirin lifleri geçmektedir. Kokleadan yatay bir kesit alındığında skala vestibuli, skala media ve skala timpani adlı üç bölüm görülmektedir. Skala vestibuli ve skala timpani kokleanın apeksinde helikotrema denilen yerde birbiriyle bağlantılıdır ve içerisinde perilenf, skala mediada ise endolenf bulunmaktadır. Perilenf ve endolenf sıvıları arasındaki bu kimyasal farklılık duyu hücrelerinin aktivasyonu için gerekli elektrokimyasal enerjiyi sağlamaktadır.

Skala media ile skala vestibuli birbirinden ayıran membran Reissner membrandır. Bazillar membran ise skala media ve skala timpaniyi birbirinden ayırmaktadır. Corti organı bazillar membranın üzerinde bulunmaktadır (7).



Resim 2: Koklea kesitinin şematik görünümü

Bazal Membran: İşitme dokusunda çok önemli fonksiyonu olan ve bağ dokusundan oluşan bir membrandır. Genişliği bazal turdan başlayarak apikale doğru artarak gider ve insanlarda uzunluğu 31,5mm olarak kabul edilmektedir. Bazal membranın dış tarafında Claudius ve Boettcher hücreleri bulunmaktadır. Buradan itibaren ise Corti organı başlamaktadır. Baziller membran barındırdığı yapılar açısından çok önemlidir. Baziller membranda Boettcher hücreleri, Claudius hücreleri, Corti organı, Pillar hücreleri, Deiters hücreleri, Hensen hücreleri, iç tüylü hücreleri, dış tüylü hücreler, iç sulkus, spiral limbustaki interdental hücreler ve tektoryal membran bulunmaktadır. Reissner Membran, skala media ve skala vestibuliyi birbirinden ayıran, ince ve suya geçirgen zardır. Suya geçirgendir, fakat büyük moleküllerin geçişine engel olur ve bu sayede perilenfteki büyük moleküllerin endolenfe geçmesini ve kimyasal yapının bozulmasını engellemektedir (24).

Corti Organı: İşitme fonksiyonunun en önemli yapısıdır. Perilenfde meydana gelen mekanik titreşimleri, sinir liflerini uyaran elektrik akımlarına dönüştürür. Corti organı, tektorial membran ile temas halindedir. Destek ve tüylü hücrelerden oluşmaktadır. Tüylü hücreler ise dış tüylü hücreler ve iç tüylü hücreler

olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Tüylü hücrelerin yaklaşık olarak %80'ini dış tüylü hücreler oluşturur. Birisi iç tüy hücre, üçü dış tüylü hücre olmak üzere dörtlü sıralar halinde dizilirler. Bu hücrelerin işlevi ise mekanik enerjiyi elektrik potansiyeline çevirmektir (25).

2.3. İşitme

İşitme, atmosferde meydana gelen ses dalgalarının dış kulak tarafından toplanıp, beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar geçen süreci kapsamaktadır. “İşitme sistemi” olarak adlandırılan kompleks bir yapı tarafından gerçekleştirilmektedir (3).

İşitme birbirini takip eden dört fazda gerçekleşmektedir;

- a) **İletim(conduction) Fazı:** İşitmenin gerçekleşmesi için gereken ilk fazdır. Atmosferdeki ses dalgalarının dış ve orta kulak aracılığı ile Corti organına iletilmesidir. Bu mekanik bir olaydır ve ses enerjisi ile sağlanmaktadır.
- b) **Dönüşüm (transduction) Fazı:** Corti organına iletilen akustik enerjisinin elektriksel enerjiye dönüştüğü fazdır. Bu aşamaya örnek olarak elektrik enerjisinin bir ampulde ışık enerjisine dönüşmesi verilebilir.
- c) **Sinirsel kodlama (neural coding) Fazı:** İç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektrik akımı kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyararak, sinir enerjisinin frekans ve şiddetine göre değişik sinir liflerine iletilmesini sağlamaktadır. Bu aşamada ses, şiddet ve frekansına göre Corti organında kodlanmış olmaktadır.
- d) **Birleştirme – algılama (association – cognition) Fazı:** Birbirinden ayrı uyarılan bu sinir iletimleri işitme merkezinde birleşerek çözümlenmektedir. Bu aşama sayesinde sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale gelmektedir (26).

İşitme Fizyolojisi

Sesin atmosferden corti organına iletilmesine kadar olan süreçte başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici ve şiddetlendirici etkileri mevcuttur. Ses dalgaları başa çarptığında yansır ya da az miktarda da olsa kırılır. Sesin geliş yönüne göre, ses dalgalarının çarptığı kulak

tarafında ses dalgalarının basıncı artarken diğer taraftaki kulak bölgesinde basınç düşmektedir. Bu sesin iki kulağa ulaşması arasında 0.6 ms'n'lik bir fark oluşturur ki sesin geliş yönünü bu şekilde ayırt etmemize olanak sağlamaktadır (3,27).

Kulak kepçesi konumu ve biçimi ile çevredeki sesleri toplayıp ve dış kulak kanalına yönlendirmeye yardımcı olmaktadır. Bu şekilde ses şiddetini 6 dB arttırdığı sanılmaktadır. Dış kulak yolu ses dalgalarını sadece yönlendirmez aynı zamanda fiziki olarak quarter (çeyrek) rezonatör olarak tanımlanır. Bu özellik sayesinde ses şiddetini 15-20 dB arttırmaktadır (28).

Dış kulak kanalından ilerleyen ve timpanik zara ulaşan ses dalgaları orta kulaktaki kemikçik zincir ve oval pencere yoluyla iç kulağa iletilmektedir. Ses dalgaları akustik direnci düşük olan atmosferden akustik direnci çok yüksek olan perilenfe geçinceye kadar ortalama olarak 30 dB'lik bir kayıp meydana gelmektedir. Bu dalgaların ancak 1/1000 i perilenfe geçebilmektedir. Bu iki iletim arasında kulak zarı ve kemikçikler sistemi 30 dB daha şiddetli iletim sağlamaktadır. Bu iletim kısmında önemli rol oynayan malleus ve inkus sesi 1.3 oranında yükselmektedir. Kulak zarı stapes tabanından 17 kat büyüktür ve ses oval pencereye yüzey farkından dolayı 17 kat yükselerek geçer. Kulak zarının her bölgesi aynı oranda titreşmemektedir. Malleusun bulunduğu bölge diğer bölgelere göre daha az titreşir. Bu da stapes gelen basıncı artırır. Böylece orta kulak sesi 30 dB artırarak iç kulağa iletmekte ve oradaki kaybı önlemektedir (3).

Orta kulakta bulunan pencerelerin işitmenin sağlanmasında iki temel görevi mevcuttur. Bunlar;

1. Timpanik zar titreştiğinde kemikçikler vasıtasıyla oval pencere titreşirken hava yoluyla da yuvarlak pencere titreşmektedir. Oval ve yuvarlak pencerelere ulaşan ses dalgaları arasındaki farklı iletim hızından dolayı faz farkını ortaya çıkarmaktadır. Bu faz farkı koklear potansiyelin optimal düzeyde olması için gerekli olan faz farkıdır.

2. Perilenfin hareketiyle ses dalgaları baziller membranı uyarmaktadır. Baziller membranda meydana gelen bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanmaktadır (6) (27).

Ses dalgalarının perilenfe iletilmesi; 1960 yılında Bekesy'nin kobaylarda stroboskopik aydınlatma ile ses dalgalarının baziller membranda meydana getirdiği değişiklikleri araştırmıştır. Ses dalgalarının perilenfe geçmesiyle perilenf hareketlenir ve baziller membranda titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanmaktadır. Bekesy bu harekete ilerleyen dalga (travelling wave) adını vermiştir (27) (Resim 3).



Resim 3: İlerleyen dalga modeli

Bazal membran bazal turda dar (0.12mm), apikal turda daha geniştir (0.5mm). Bazal turda baziller membran gergindir. Baziller membran genişliği arttıkça gerginlik giderek azalmaktadır. Bu fark nedeniyle ses dalgası, bazal turdan apikal tura kadar ilerleyen dalga ile götürülmüş olur. Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da baziller membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziller membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik göstermektedir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde bazal membran amplitüdüleri bazal turda en yüksektir. Buna karşılık alçak frekanslarda bazal membran amplitüdüleri apikal turda en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (28).

Stapes taban hareketi ile başlayarak perilenfe iletilen mekanik dalga baziller membranı tabandan apekse doğru hareketlendirir. Bu dalganın özelliği ise amplitüdün giderek artmasıdır ve titreşimlerin belirli bir bölgede maksimum amplitüde ulaştıktan sonra sönmesidir. İletim dalgası basiller membran üzerinde

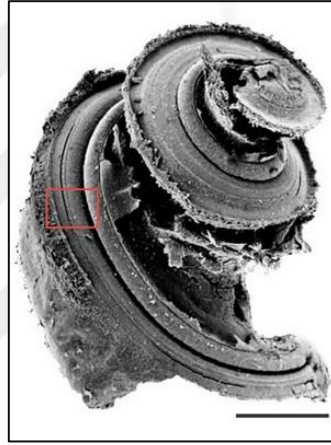
stimulusun taşıdığı frekansa karşılık gelen bölgede maksimum amplitüde ulaşır ve bu bölgeyi hareket ettiren fibrilleri uyarmaktadır. Kokleaya giren titreşimler perilenfte oval pencereden yuvarlak pencereye doğru bir harekete neden olurlar. Bu titreşimler skala vestibulide ilerlerken perilenfin karşı koyuculuğu ile her frekans için özel bir yerde olmak üzere membrana basillaris üzerine yöneltilirler. Böylece koklea kanalı skala timpaniye doğru itilir. Bu sırada hava yoluyla yuvarlak pencereye iletilen titreşimlerin oluşturduğu skala timpanideki hareket de bu harekete karşı koyar. Böylece iki skala arasındaki dalgalanma hareketi korti organında bir dalgalanmaya neden olur. Kokleadaki basiller membranın tabana yakın kısmı ince, kısa, gergin ve tiz sesler için hassastır. Apekte yakın yeri ise kalın, uzun, gevşektir ve pes sesler tarafından uyarılır. Basiller membranın hareketi sırasında üstündeki tüylü hücreler tektorial membrana çarparak mekanik enerjiyi elektrokimyasal enerjiye dönüştürürler. Bu da sinir impulsları ile işitme merkezine iletilir. Yüksek tonlar işitme merkezinin derinlerinde, düşük tonlar ise yüzeylelerinde sonlanırlar (29).

2.4.Rat Koklea Anatomisi ve İşitme

Ratlar insanlara kıyasla ultrasonik sesleri duyma yönünden daha farklı olsalar bile, yapısal ve fonksiyonel olarak incelendiğinde genel olarak işitme sistemi bütün memelilerde benzerdir. İnsanlar 20 Hz – 20kHz arasındaki işitmeye sahip iken ratlarda bu aralık 250 Hz – 80kHz arasındadır (30). Başparmağımızı işaret parmağımıza sürttüğümüzde oluşan ses bir tür ultrasonik sestir ve biz bu sesi duyamayız (31). Ratların deney hayvanı olarak kullanılma nedenleri; yapısal ve fonksiyonel benzerlikleri, maliyetlerinin az olması, kolay üreyebilmeleri, psikolojik dayanıklılıkları, deney uygulamalarında kullanımlarının kolay olması ve hastalıklara dirençli olmalarıdır. Özellikle farmakolojik çalışmalarda çok fazla kullanılan ratların, sadece PubMed de 1 milyondan fazla yayında deney hayvanı olarak kullanıldığı raporlanmıştır (32).

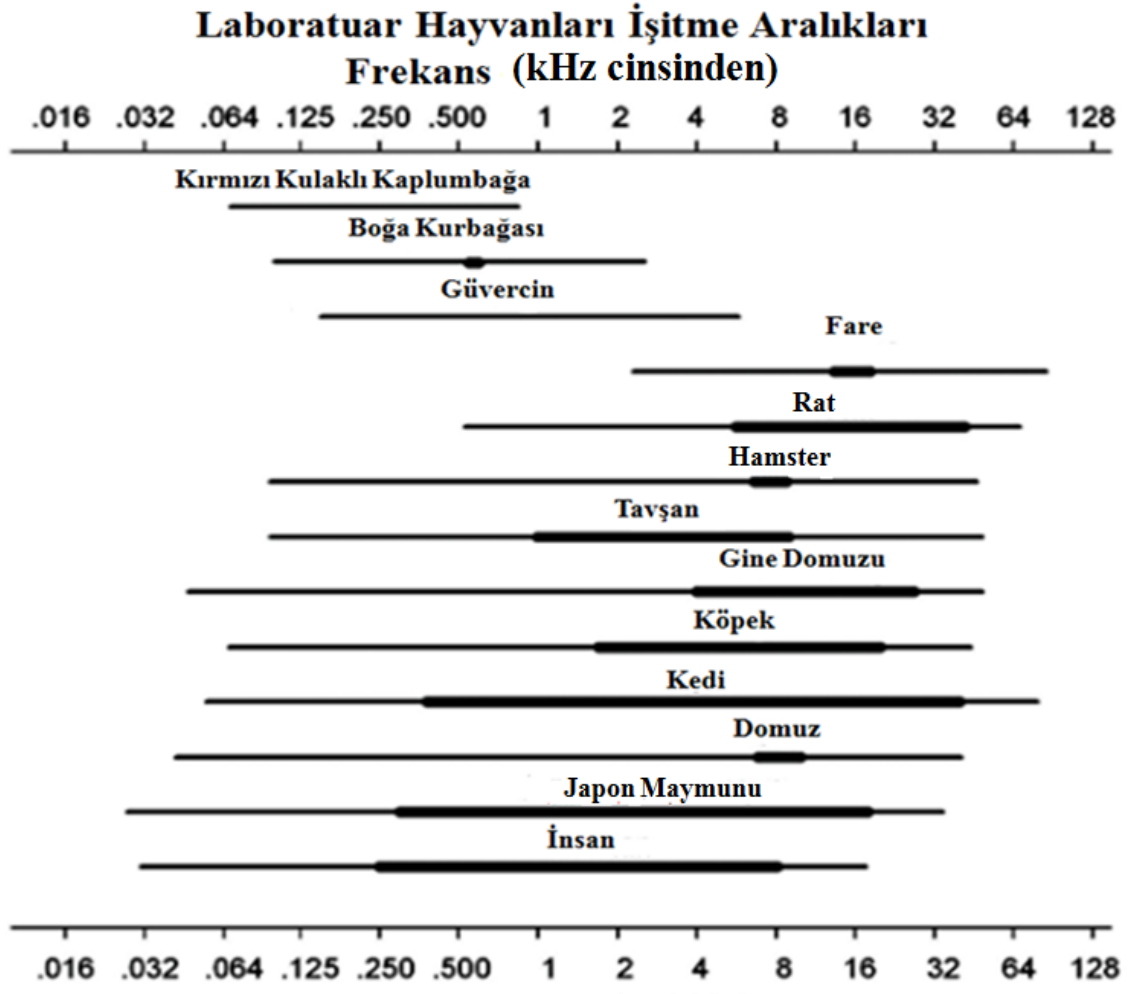
Ratların orta kulak morfolojisi incelendiğinde insan orta kulak morfolojisinden ayırt edici özellikleri; kulak zarı ortalamalarının 10 mm² kadar olması, malleus gonial bone bölgesinde timpanik anulusa yapışık olması ve malleus üzerinde orbiküler apofiz olarak adlandırılan kitlenin olmasıdır (33). Ayrıca insan kulağından farklı olarak ratlarda orta kulak kavitesi bulla adı verilen ince bir kemik

yapının içine yerleşmektedir. Rat orta kulağında östaki tüpü mukozası goblet hücreleri ve glandlar içerirken horizontale daha yakındır ama açılma basıncı insanınki ile benzer yapıdadır. Ratlarda internal karotis arter yuvarlak pencereyi tamamen örter, bu da yapısal olarak insanlara göre farklılık göstermektedir. Ratlarda kemikçiklerin boyları insanlara kıyasla yaklaşık olarak $\frac{1}{4}$ kadardır (34). Ratların koklear kanal uzunlukları ortalama olarak 12,16 mm'dir ve membranöz kokleanın yapısı da diğer memelilere benzemektedir. Ayrıca rat kokleası 2,5 kez dönüş yapmaktadır (Resim 4). (35) (36).



Resim 4: Rat kokleası

Ratların yüksek frekans işitmeleri insanlara kıyasla çok daha iyidir. Koka ve arkadaşları araştırmasında ratların kafa ve pinna uzunlukları, birbirlerine göre açılarının ölçümleri, pinnanın hareketliliğinin ölçümlerini ve farklılıkları değerlendirmişler. Sonuçta da tüm bu anatomik özelliklerin yüksek frekans işitmedeki önemini bulmuşlardır. Ratlarda pinnanın 20-35 kHz aralığında 5-12 dB, 15 kHz'in altında ise daha az bir kazanç sağladığı tespit edilmiştir. Sadece kafa ve pinnanın anatomik ve fonksiyonel özellikleri değil ama aynı zamanda kokleanın da anatomik özellikleri gereği ratların işitme duyuları yüksek frekanslarda iyi gelişmiştir (37) (Resim 5).



Resim 5: Ratların ve diğer laboratuvar hayvanlarının işitme frekans aralıklarının insanlar ile karşılaştırılması.

2.5. Otoakustik Emisyonlar

1948 yılında Gold, iç kulağın mekanik olarak aktif bir sistem olduğunu ilk defa ileri sürmüştür. Ancak iç kulağın aktif bir sistem olduğunun gösterilmesi uyarılmış otoakustik emisyonların (OAE) Kemp tarafından bulunması ile mümkün olmuştur. 1976 yılında Kemp "click" sinyali dış kulak yoluna koyduğu bir hoparlör aracılığı ile göndermiş, 5-15 milisaniye sonra daha düşük intansiteli ancak aynı frekansta bir sesi dış kulak yolundan kayıt etmiştir. 1979 yılında ise Kemp kulağa herhangi bir ses uyarını göndermeksizin iç kulağın spontan olarak ürettiği ses dalgalarını kayıt ederek spontan otoakustik emisyonların varlığını göstermiştir (38).

Otoakustik emisyon, insanların ve hayvanların dış kulak yolundan tespit edilebilen, koklear kaynaklı, hafif şiddette akustik enerji yayılımlarıdır ve oluşumunda dış tüy hücrelerinin önemli rolleri mevcuttur (39).

Bu nedenle dış tüy hücrelerinin her tür etkilenmelerine karşı oldukça hassastır. Koklear kaynaklı herhangi bir sesin dış kulak yolundan alınarak kaydedilmesi sonucu otoakustik emisyon cevapları ortaya çıkmaktadır (39) (40).

Dış tüylü hücrelerin titreşimi kokleadan kaynaklanan bir uyarı ile başlar ve bu uyarı ile beraber; stapes tabanı, kemikçikler ve zar yolu ile dış kulak yoluna geçerek buradan da ölçüm yapılabilmektedir (41).

Ses uyarının kulağa gelmesiyle birlikte iç kulak sıvılarında ve Corti organında hareket meydana gelmektedir. Corti organındaki bu hareket ile tüysü uzantılarındaki bükülmelere bağlı olarak dış ve iç tüy hücreleri içerisinde potansiyel hücreler boyunca bir reseptör akımına neden olmaktadır. Corti organının vibrasyonu dış tüylü hücrelerin hareketiyle oluşan titreşimin etkisiyle artar ve koklea içindeki bu artış bir ses kaynağı gibi davranır. Bu durum da “koklear amplifikasyon” olarak adlandırılır (42).

Koklear amplifikasyon duyarlılığın, frekans seçiciliğinin ve geniş dinamik aralığın ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Kokleadan kaynaklanan otoakustik emisyonlar dış tüylü hücrelerin aktivitesine bağlı olarak oluşmaktadır. Bu nedenle kokleanın sadece motor fonksiyonunu yansıtır. Dış tüylü hücrelerin hasarı sonucu işitsel duyarlılık, frekans keskinliği ve dinamik aralık özelliği azalır (43).

Otoakustik emisyonların sınıflandırılması kullanılan stimulus cinsine göre yapılmıştır. Buna göre otoakustik emisyonlar spontan ve uyarılmış (evoked) emisyonlar olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir.

- Spontan otoakustik emisyon (SOAE): Bilinen herhangi bir uyarı olmaksızın dış kulak yolundan kayıt edilen emisyonlara denir.
- Uyarılmış otoakustik emisyon (EOAE): Uyarı gönderilerek elde edilen emisyonlardır. Uyarının tipine göre kendi içerisinde de üçe ayrılmaktadır.

- Transient Evoked – TEAOE: Kısa süreli akustik uyarılardan sonra kayıt edilen geçici uyarılmış akustik emisyonlardır. Klik veya tone burst uyaran kullanılır.
- Stimulus Frekans – SFOAE: Tek bir saf ses uyaranı sonrası kayıt edilen stimulus frekans emisyonlarıdır.
- Distorsion Product – DPOAE: Genellikle iki saf ses ile elde edilen distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlardır (44).

2.5.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE)

İki farklı saf sesin eş zamanlı olarak farklı frekans ve şiddette kulağa verilmesi sonucunda oluşan emisyonlara distorsiyon ürünü otoakustik emisyon denilmektedir. İşitmesi normal olan insanların %90'ında bu değer bulunmaktadır (45).

DPOAE'de eş zamanlı olarak verilen frekanslar f_1 ve f_2 , şiddetler L_1 ve L_2 olarak adlandırılmaktadır. Bu iki frekans uyarılarına gelen emisyon cevapları da matematiksel olarak değerlendirilmektedir. f_1 apikal ve alçak frekanslı, f_2 bazal ve yüksek frekanslara seslere duyarlıdır (46).

Dış uyaran olarak f_1 ve f_2 frekansları gönderilirken, bu ilişkinin fonksiyonu da $2f_1-f_2$, $3f_1-f_2$, $2f_2-f_1$ gibi farklı biçimlerde değerlendirilebilir. En belirgin emisyon olarak $2f_1-f_2$ kullanılmaktadır. Bu da DPOAE'ların bazal membranda oluşma yerinden kaynaklanmaktadır. Dış tüy hücrelerinin fonksiyonunu kokleanın bu bölgesi en iyi şekilde yansıtmaktadır (47).

İki sesin frekansı uyaran olarak verildiğinde, birbirleriyle oranları ve şiddetiyle elde edilen DPOAE amplitütleri üzerinde etkilidir. Verilen iki frekansın oranı en yüksek amplitüde sahip DPOAE olacak şekilde ayarlanır (41,46).

DPOAE ölçüm tekniği prensibi, normal koklear çalışma şartlarında iki ton uyarınının kokleada farklı iki "ilerleyen dalga" oluşturmasına ve bunların üst üste bindiği koklea bölgelerinde otoakustik emisyonlar ortaya çıkmasına bağlıdır. Bu özellik DPOAE'da kokleadan frekansa özgü bilgi alınmasını sağlamaktadır (48).

DPOAE'nun uygulanmasında; kulak yoluna iki ayrı frekansta ses verebilmek için iki küçük hoparlör ve bu seslere karşı kokleanın yanıtını kayıt etmek amacıyla iki küçük mikrofonu ihtiyaç vardır (45,49)

İki ayrı frekanstaki uyarın ile uyarılan iç kulakta yayılan bu iki dalga birbirleriyle etkileşmektedir. Ve dalgaların birbiriyle girişim gösterdiği ses tonlarında daha düşük amplitüdü cevabın oluşmasına sebep olmaktadır. Oluşan cevap dış kulak kanalına kadar yansımaktadır ve hassas mikrofonlar aracılığıyla kayıt edilmektedir (50).

Cihaz, artefakt seviyesi 20dB üzerinde olduğunda otomatik olarak veri toplamayı durdurmaktadır. Sinyal gürültü oranı "Signal to Noise Ratio" (SNR), kokleadan alınan sinyalin, ölçüm sırasında kayıt edilen internal gürültüye oranı olarak tanımlanır. DPOAE cevaplarını değerlendirmek için SNR değerleri DPOAE amplitüdlerine göre daha güvenilirdir (48,51).

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonların sinyal çıkarma özelliği 4-5 kHz üzerindeki frekanslarda, TEOAE'dan daha üstündür ve konuşma frekanslarının üzerindeki işitme kaybı için belirleme yaparken önemlidir. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonların yüksek hassasiyet ve iyi frekans özelliği gösteriyor olması, normal duyma fonksiyonu olanlarla, ciddi dış tüy hücresi lezyonu olan olguları birbirinden ayırma imkanı vermektedir (52).

2.6. İmmünsüpresif İlaçlar

Günümüzde kullanılan immünsüpresif ilaçlarla oluşturulan protokollerin selektif özellikleri gittikçe artmaktadır. İlaçların tek başına kullanılmamaları, istenmeyen yan etkilerini de arttırmaktadır. Farklı grup ilaçların kombine kullanımları hem sinerjik etki sağlamakta, hem de doz azaltımını mümkün kılarak istenmeyen yan etkileri önlemekte, böylece yaşamın kalitesinde artışı mümkün kılmaktadır.

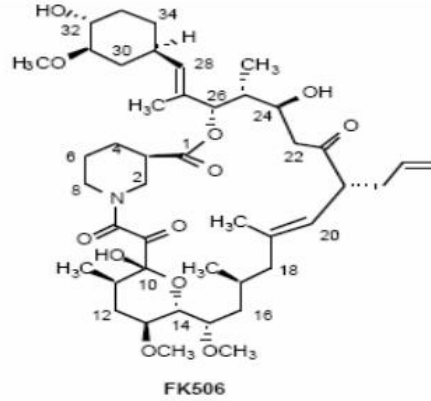
İmmünsüpresyon indüksiyonunda iki farklı kullanımı vardır. İlkinde yüksek doz konvansiyonel immünsüpresifler kullanılırken, ikincisinde ise direkt T hücre antijenlerine karşı geliştirilmiş olan antikorların düşük doz konvansiyonel immünsüpresiflerle kombinasyonları kullanılır (53).

İmmünoşpresif ilaçlar immünoşregülatuvar sistemin değişik aşamalarında etki gösterirler. Antijenlerin tanınmasından başlayarak hücre proliferasyonundan sitokin yapımına kadar uzanan geniş bir yelpaze içinde etki ederler. Bu etkiler, antijen presente edici hücrelerin T hücrelerine antijen tanıtımının inhibisyonu, T hücre aktivasyonunun inhibisyonu, sitokin sentezinin inhibisyonu, hücre proliferasyonun azaltılması veya inhibisyonudur (immünoşmodülasyon) (54).

Kalsinörin, hedef proteinlerden fosfat gruplarını ayıran, kalsiyum aktivasyonu yapan bir enzimdir. Sitokinlerin transkripsiyonel aktivasyonunda temel rol oynamaktadır ve immünoşpresyon yapmak için iyi bir hedeftir. Kalsinörin inhibitörleri solid organ (böbrek, karaciğer, kalp, akciğer) naklinde kullanılan immünoşpresif ilaçlardır. Böbrek naklinde immünoşpresif tedavinin temel taşıını oluşturmaktadır. Bunların kullanıma girmesi ile akut hücreşel rejeksiyon sıklığında azalma ve greft sağkalımın da iyileşmeler görülmüştür. İmmün yanıtı da seçici olarak baskılamaktadır. Steroidlerden farklı olarak nötrofillerin fagositik fonksiyonlarını baskılamazlar. Aynı zamanda kemik iliğini baskılayıcı etkileri yoktur. Kalsinörin inhibitörlerinin immün baskılama etkileri, kendilerine öşzü sitoplazmik proteinleri ile bileşik oluşturmasına bağlıdır. Kalsinörin inhibisyonu, T hücre aktivasyonunu artıran kritik sitokin genlerinin ekspresyonunu bozmaktadır. Başarılı düzeyde kalsinörin inhibitörü temelli immünoşpresif tedavisi alan hastalar, konak savunmasında yeterli düzeyde immün yanıt işlevlerini sürdürebilirler. Bu grup için de sikloşporin (CsA) ve tacrolimus (FK506) yer alır (55).

2.6.1. Takrolimus

Takrolimus (FK506, Prograf) makrolid grubu bir laktondur. İlk defa 1984 yılında *Streptomyces tsukubaensis*'in fermentasyon ürünü olarak elde edilmiştir. Sikloşporin ve takrolimus kalsinörin inhibitörleri olarak adlandırılan güçlü immünoşpresif ajanlardır. Takrolimus'un kimyasal formülü $C_{44}H_{69}NO_{12}.H_2O$ 'dur (Resim 6) (56).



Resim 6: Takrolimus'un kimyasal formülü.

Takrolimusun immünsüpresif etkisinin nasıl olduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, kalsinörin inhibisyonu yaparak, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu ve başta IL-2 olmak üzere IL-4, IL-5 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe ettiği düşünülmektedir. İmmünosupresyonda sitokin inhibisyonu önemli bir hedefdir. Takrolimus da sitokinlerin transkripsiyonunu engelleyerek immünosupresyonu gerçekleştirmektedir (62). Takrolimus hücre zarından içeri girdiğinde hücre içi reseptörü olan FK-bağlayıcı proteinlere (FKBP12) bağlanmaktadır. FKBP12, T lenfositlerde yaygın olarak bulunan sitozolik bir proteindir. Bu kompleks kalsiyum ve kalmodüline bağımlı fosfataz olan kalsinörünün transkripsiyon faktörü ile etkileşimine fiziksel olarak engel olarak defosforilasyonu önlemektedir. Sonuç olarak NF-AT (aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü) ye bağımlı gen transkripsiyonu ve bağışıklık baskılanmaktadır. Takrolimus IL-2 transkripsiyonunu inhibe etmektedir, ek olarak da diğer kalsiyum bağımlı olayları da inhibe etmektedir (nitrik oksit sentetaz aktivasyonu, hücre degranülasyonu ve apoptozis). Takrolimus ayrıca mast hücrelerinde hem degranülasyonu hem de IL-3 ve IL-5 gibi sitokinlerin transkripsiyonel aktivasyonunu bloke etmektedir. Sonuç olarak IL-3, IL-4, IL-5, interferon (IF)- γ , tümör nekroz faktör (TNF)- α ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktörler (GM-CSF) gibi diğer sitokinlerin üretimi de azalmış olur (58,59).

Takrolimus; çok yüksek dozda kullanımı nefrotoksisite ve nörotoksisite (tremor, baş ağrısı, motor bozukluk, nöbet) ye neden olmaktadır. Ayrıca takrolimus'un kullanımı sırasında gastrointestinal şikayetler, hipertansiyon, hiperglisemi, hiperkalemi ve diabet ortaya çıkabilir. Diğer taraftan takrolimus lenfoma ve deri tümörlerini içeren malignansi oranlarını artırmaktadır (53).

İnfeksiyon oranlarında takrolimus kullanan hastalarda normale göre daha yüksektir. Yan etkiler genellikle transplantasyon sonrası ilk aylarda görülür. Zamanla muhtemelen doz azaltılmasına bağlı olarak yan etki oranlarında azalma saptanır (53).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Etik Kurul

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (DA/16/48) alındıktan sonra Ankara Başkent Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada, uluslararası Helsinki Deklarasyonu'nda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyuldu. Çalışmaya başlamadan önce güç analizi planlaması istatistiksel bir yazılım kullanılarak gerçekleştirildi.

Deney Hayvanları

Çalışmamıza 20 adet, ortalama 250-350 gram ağırlığında, sağlıklı Spraquey Downey erkek ratlar dahil edildi. Ratlar; aynı oda ve eşit koşullarda 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta 20-22°C sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri, arka plan gürültü seviyesinin 50 dB SPL'nin altında olduğu kafeslerin içerisinde barındırıldı.

Deneysel İşlemler

Tüm ratların genel anestezi altında otoskopik muayeneleri yapıp, dış kulak yolundaki debris ve buşonlar deney öncesinde temizlendi. Genel anestezi, ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazine HCl (Rompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal(ip) verilerek sağlandı.

Ratların işitme değerlendirmeleri için deneye başlamadan önce DPOAE ölçümleri yapıldı. Emisyon sonuçları her kulakta farklı çıkabileceği ve birbirinden bağımsız olduğu için tüm deneklerin her iki kulağına birden otoakustik emisyon testi uygulandı. DPOAE ölçümleri sonucu, sinyal gürültü oranı (SNR) 3 dB'nin üzerinde olan 20 adet rat çalışmaya dahil edildi.

Ve bu ratlar 3 gruba ayrılmıştır. Çalışmamızda ratlara takrolimus gavaj yoluyla belirlenen dozlarda 30 gün boyunca günde bir kez verilmiştir (Resim 7).



Resim 7 : Gavaj kanülü

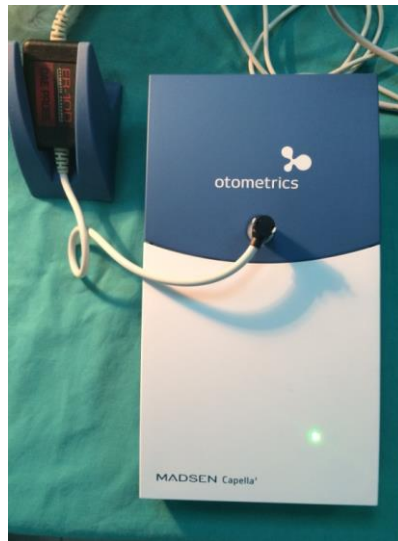
Çalışma Grupları

Çalışmaya dahil edilen 20 adet rat, birinci ve ikinci grubu 7 üçüncü grubu ise 6 olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Çalışma sonrası tüm ratlar servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi.

- 1.grup: 1mg/kg takrolimus (n=7) olan grup
- 2.grup: 0.1mg/kg takrolimus (n=7) olan grup
- 3.grup: ise (n=6) kontrol grubudur.

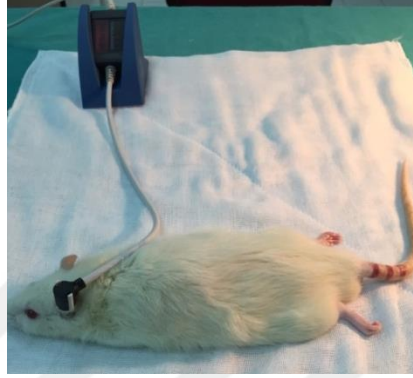
DPOAE (Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon) Testi Uygulanması

Anestezi verildikten sonra, ratlar test için bekleme süresince ısıtıcı altında vücut sıcaklıkları korunmuştur. Testler Madsen Capella 2(GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı ile yeni doğan probu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 8).



Resim 8: Madsen Capella 2(GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı

Tüm grupların DPOAE ölçümleri eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ratın kafası yere yatay pozisyona getirildikten sonra ölçüm yapılacak kulağın dış kulak kanalına prob iyice yerleştirilmiştir (Resim 9). Cihazdaki prob göstergesi ve uyaran dalga formu uygun konfigürasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görüldükten sonra ölçüme başlanmıştır.

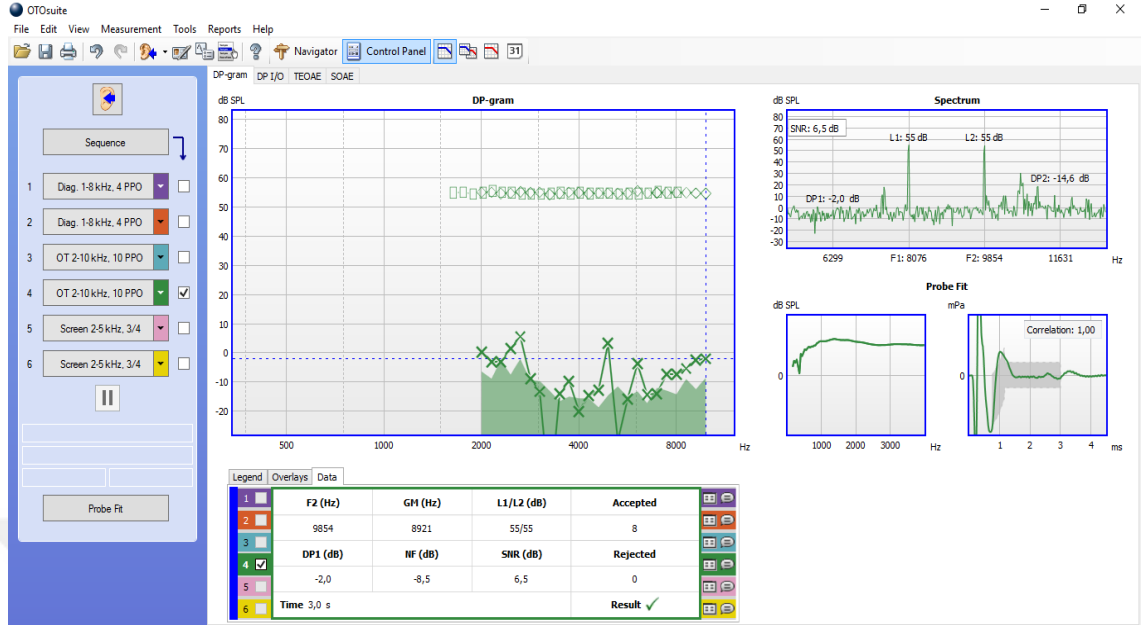


Resim 9: Ratın ölçüm sırasında prob yerleşimi ve ölçüm düzeneği

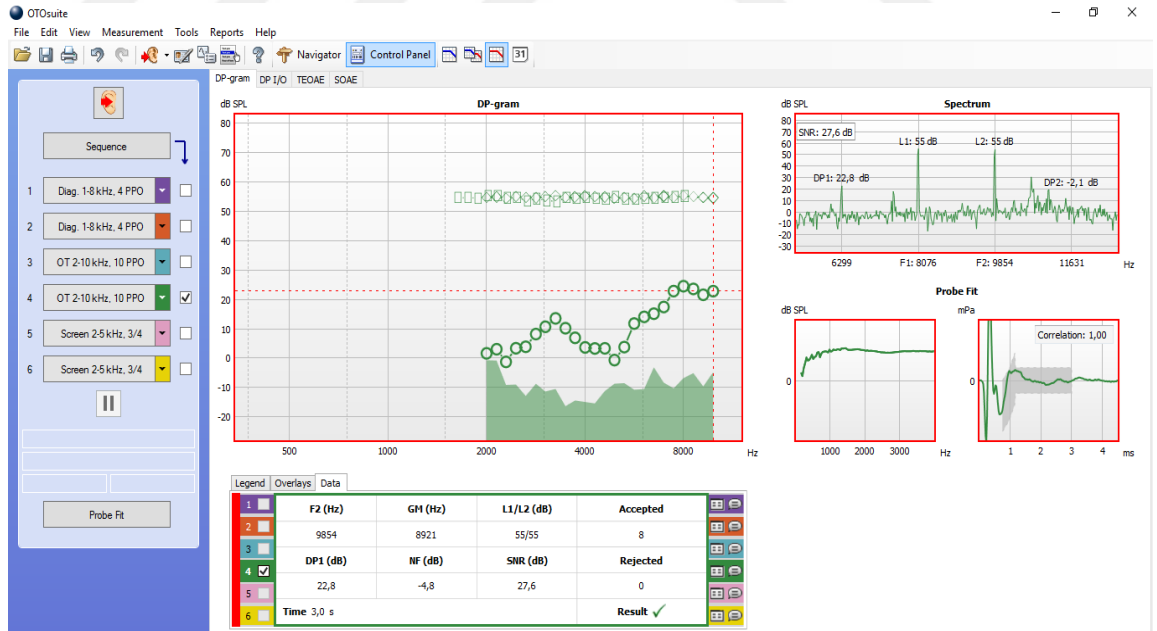
Ölçüm parametreleri

f2 ve f1 frekansları arasındaki oran ($f2/f1$) 1.22 olacak şekilde tutuldu. L1-L2 seviyeleri; L1 = 55 dB SPL, L2 = 55 dB SPL olarak ayarlanmıştır. DPOAE'lar, $2f1-f2$ frekansında ölçülmüştür. DPOAE ölçümleri sonucu, 4004, 6064, 7998 ve 9854 Hz frekanslarında oluşan sinyal gürültü oranları (SNR) kaydedilmiştir (Resim 10-11-12).

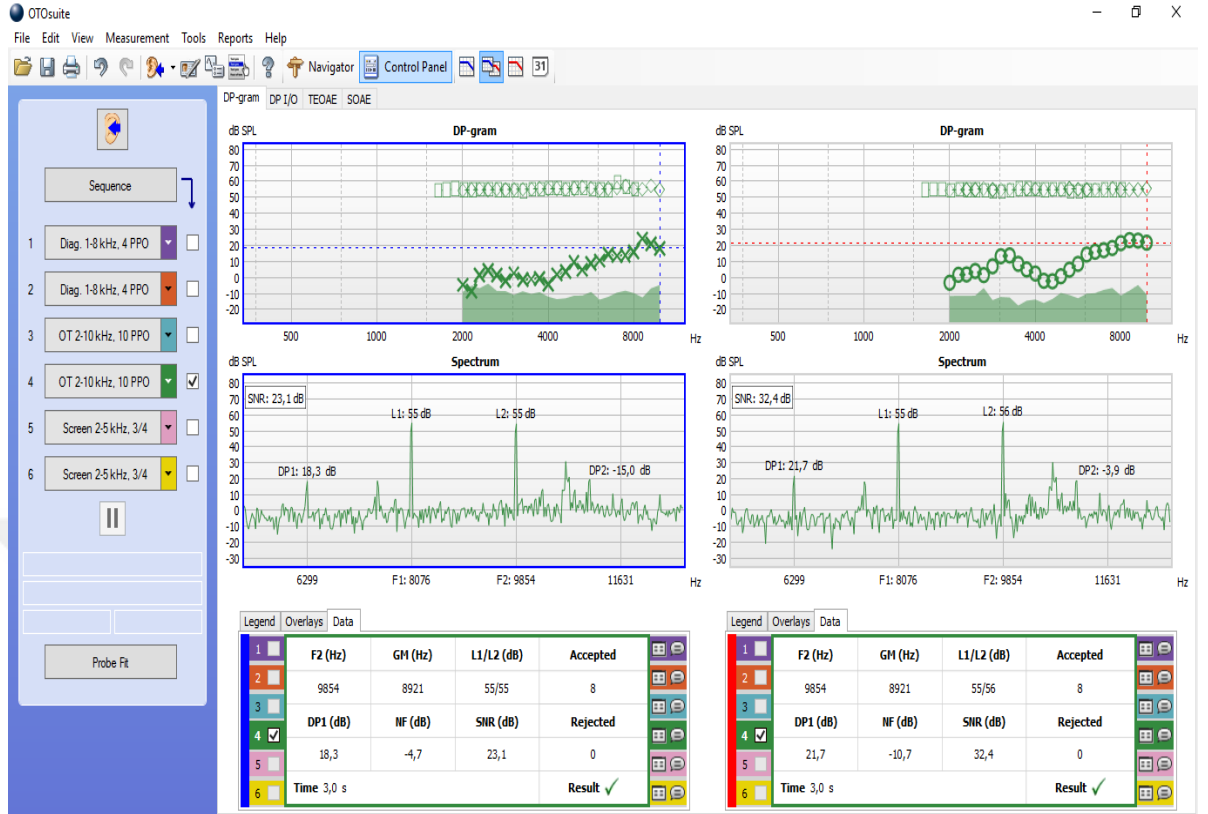
Resim 10: DPOAE örnek ölçüm ekran resmi



Resim 11: DPOAE örnek ölçüm ekran resmi



Resim 12: DPOAE örnek ölçüm ekran resmi



3.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Statistical Program for Social Sciences) 20.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişken sayısal veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Sayısal verilerin ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması "Kruskal Wallis testi" ile, grupların kendi içinde karşılaştırılması "Wilcoxon test" ile yapıldı. P değerinin 0,05 den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Ratlarda takrolimusun işitme üzerine etkisinin DPOAE kullanılarak yapıldığı deneysel çalışmamızda, toplam 20 rat kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmamızda toplam 3 grup bulunmaktadır. Birinci ve ikinci grupta 7 rat üçüncü grupta ise 6 rat bulunmaktadır. Bütün gruplardaki ratların sağ ve sol kulak emisyon ölçümleri yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 20 adet sağlıklı, Spraquey Downey ratlar yaş, cinsiyet ve ağırlık bakımından benzer özelliklere sahiptirler. Ratlar 12 aylık ve ortalama 250-350 gr ağırlığında erkektir.

Çalışmamızda takrolimus ilacı verilmeden önce bütün ratlara DPOAE ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre tüm ratlarda emisyon elde edilmiş ve benzer özelliklere sahip olduğu saptanmıştır.

Her bir grup için takrolimus ilacı verilmeden önce ve verildikten sonraki değerlendirme sonucunda SNR değerlerinde düşme gözlemlendi (Tablo 1,2,3).

Tablo 1: grup 1 için DPOAE ölçümler

Frekans	İlk ölçüm	Son ölçüm	p değeri
4004 Hz	12,68±9,64	6,96±7,49	0,028
6064 Hz	21,67±11,75	12,09±11,39	0,023
7998 Hz	30,12±13,15	15,38±12,20	0,012
9854 Hz	33,02±10,08	21,35±13,66	0,012

Tablo 2: grup 2 için DPOAE ölçümleri

Frekans	İlk ölçüm	Son ölçüm	p değeri
4004 Hz	11,7±5,0	7,62±6,87	0,084
6064 Hz	19,7±5,93	13,52±9,19	0,064
7998 Hz	26,35±5,10	18,77±14,64	0,084
9854 Hz	31,25±6,05	23,38±11,22	0,022

Tablo 3: grup 3 için DPOAE ölçümleri

Frekans	İlk ölçüm	Son ölçüm	p değeri
4004 Hz	16,87±10,64	7,76±7,34	0,015
6064 Hz	24,61±11,38	12,67±7,29	0,010
7998 Hz	29,99±11,59	20,8±10,52	0,099
9854 Hz	34,56±6,76	24,48±13,64	0,012

Tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında, takrolimus ilacı verilmeden önce ve verildikten sonraki DPOAE ölçümlerinde SNR değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermedi (Tablo 4,5).

Tablo 4: Tüm gruplar için ilk DPOAE ölçümleri

Frekans	1.grup	2.grup	3.grup	P değeri
4004 Hz	12,68±9,64	11,7±5,0	16,87±10,64	0,30
6064 Hz	21,67±11,75	19,7±5,93	24,61±11,38	0,44
7998 Hz	30,12±13,15	26,35±5,10	29,99±11,59	0,43
9854 Hz	33,02±10,08	31,25±6,05	34,56±6,76	0,54

Tablo 5: Tüm gruplar için son DPOAE ölçümleri

Frekans	1.grup	2.grup	3.grup	P değeri
4004 Hz	6,96±7,49	7,62±6,87	7,76±7,34	0,88
6064 Hz	12,09±11,39	13,52±9,19	12,67±7,29	0,83
7998 Hz	15,38±12,20	18,77±14,64	20,8±10,52	0,43
9854 Hz	21,35±13,66	23,38±11,22	24,48±13,64	0,77

5. TARTIŞMA

Günümüzde diüretiklerin, antibiyotiklerin, antiinflamatuvar ajanların, antineoplastik ajanların ve diğer bazı ilaçların da ototoksisteyi meydana getirebileceği bilinmektedir (60) (61). Literatürde takrolimusun işitme sistemi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların bazılarında olumlu bazılarında ise olumsuz etkilerinin olduğu görülmüştür. Ayrıca çalışmalarda verilen takrolimus ilaç düzeyi miktarının farklılık göstermektedir. Bu nedenle takrolimusun işitme sistemi üzerine etkilerinin açıklanabilmesi için deneysel bir çalışma planlanmıştır. Araştırmamızda ratlara farklı dozlarda takrolimus verilerek SNR değerleri karşılaştırılmıştır. Başlangıç ve 1 ay sonraki SNR değerleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir, ki bu takrolimusun bizim çalışmamızda uygulanan doz ve sürede toksik etki oluşturmadığını göstermektedir. Diğer taraftan bütün gruplarda SNR değerleri ilk ölçüme göre düşmüştür. Bu da stres ve anesteziye bağlı olabilir.

Hatzopoulos ve arkadaşları ototoksistite çalışmalarında genel olarak ABR testi kullanılmasına karşı, ABR yanıtlarının tüm sinir liflerinin integrasyonu sonucu oluştuğunu, bu nedenle ototoksistide koklear mikromekaniği göstermede otoakustik emisyonların daha efektif olacağını savunmuşlardır. Otoakustik emisyonlar kendi içerisinde karşılaştırıldığında yüksek frekans seçiciliğinden dolayı DPOAE'nin TEOAE'ya göre üstünlüğu mevcuttur. 4 kHz üzeri ölçümde TEOAE'ye göre daha kullanışlıdır. Tüm bu olumlu özelliklerinden dolayı çalışmamızda DPOAE testi tercih edilmiştir. Diğer taraftan DPOAE'lerin değişkenliği günler ve haftalar sonra yapılan ölçümlerle araştırılmış ve 5 ila 9 dB arasında farklılık olabileceği görülmüştür (62).

Negatif ve pozitif basınç değişikliklerine bağlı olarak orta kulaktaki, otoakustik emisyon amplitüd ve dalga tekrarlanabilirliği oranlarında belirgin değişiklikler olabilir. Bu nedenle; otoakustik emisyon ölçümü yapılmadan önce orta kulağın durumu mutlaka değerlendirilmelidir. Bizim çalışmamızda da OAE ölçümü yapmadan önce ratların otoskopik muayeneleri yapılmıştır (63).

DPOAE analizinde, değerlendirme parametresi olarak DPOAE amplitüdüne göre yapılan çalışmalar mevcuttur. Sinyal gürültü oranı ise "Signal to Noise Ratio"(SNR),

kokleadan alınan sinyalin, ölçüm sırasında kayıt edilen internal gürültüye oranı olarak tanımlanmaktadır. Farklı zaman ve koşullarda yapılan ölçümlerde emisyon amplitüdlerinin ve gürültü eşiğinin değişebileceği ve DPOAE amplitüdlerinin solunum sesleri ve ortam gürültüsünden etkilenebileceği göz önüne alınırsa, SNR değerleri DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilirdir (64).

Rifai ve arkadaşları, ortotopik karaciğer transplantasyonundan sonra hastalarda meydana gelen işitme bozukluğunun özelliklerini ve seyrini değerlendirmek için bir anket çalışması yapmışlardır. Bu anket çalışmasına katılan hastaların genel işitme sorunlarını, ani işitme kaybı, kronik işitme kaybı, işitme cihazı ihtiyacı, tinnitus, otalji veya işitsel dolgunluk; uğultu, orta kulak efüzyonu, serümen ve işitsel cerrahi veya travma gibi başlıklar altında değerlendirmeleri istenmiştir. Tüm sorunlar için, başlangıç tarihi, yaygınlığı (tek taraflı veya çift taraflı) ve işitme engelliliğinin takibi de istenmiştir. Anket sonucunda ise, karaciğer transplantasyonundan sonra en sık bildirilen subjektif işitme sorunlarının, genellikle işitme kaybı, tinnitus ve otalji olduğu bildirilmiştir. Ayrıca takrolimus immünsüpresyonunu kullanan hastalarda, tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerde işitme kaybıyla pozitif yönde ilişkili olduğu saptanmıştır. Böylece işitme bozukluklarında, immünosüpresanların önemli yan etkilerinin olabileceği düşünülmüştür (65).

Bununla birlikte şimdiye kadar, organ transplantasyonundan sonra immünosüpresan alan bireylerde (siklosporin, takrolimus, OKT3, antitymocyte globulin) işitme kaybı bildirilmiştir. Siklosporin ve takrolimus, insandan olan nakiller için sıklıkla kullanılan makrolid grubu kalsinörin inhibitörlerindedir (65).

Karaciğer transplantasyonundan sonra, ani işitme kaybı gelişen ve yüksek serum kalsinörin inhibitörleri seviyeleri ile ilişkili olan işitme bozukluğu mevcut 5 hastadan oluşan başka bir çalışmada işitme kayıpları tekrarlanan odyogramlarla doğrulanmıştır. Bu hastalarda meydana gelen ani işitme kaybı ile yüksek kalsinörin inhibitörleri seviyesi arasındaki ilişki böbrek pankreas transplantasyonundan sonra sırasıyla siklosporin ve takrolimus alan 2 olguda da bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kalsinörin inhibitörü kullanan hastalarda meydana gelen ani

işitme kayıplarında doz düzeltildikten sonra geriye dönüş sağlanmış hatta düzelmiştir. Ancak bu çalışmada hemen doz düzeltilmiş olmasına rağmen çoğu hastada işitme kaybı düzeltilememiştir. Beş hastanın dördünde halen işitme cihazına ihtiyaç olduğu gözlemlenmiştir aynı zamanda hastalar tinnitus şikayetlerinin de olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumda doza bağımlı toksisite ile kalsinörin inhibitörleri arasındaki ilişkide nörotoksositeye sıklıkla rastlanmaktadır. Kalsinörin inhibitörlerine bağlı nörotoksitenin diğer şiddetli serebral bulguları körlük, nöbetler olarak tanımlanmıştır. Bundan dolayı, işitme kaybı, iç kulaktaki kanlanmanın bozulmasına neden olabilir. Sonuç olarak bu çalışmada da hastalarda meydana gelen işitme kaybında, immüsupresiflerin önemli yan etkileri olabileceği düşünülmüştür (66).

Rifai ve arkadaşları, karaciğer transplantasyonu sonrası hastalarda görülen ciddi işitme kaybını değerlendirmek ve işitme cihazına ihtiyaç duyan tüm yaşayan hastaları analiz etmek için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada karaciğer transplantasyonundan önce ve sonra, immünosüpresyonun tüm geçmişi de dahil olmak üzere, ototoksik ilaç kullanımı (örn., aminoglikozid antibiyotikler, loop diüretikler, salisilatlar), böbrek yetmezliği, arteriyel hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi risk faktörleri de kaydedilmiştir. Daha sonra üç hastada meydana gelen ani işitme kaybının kalsinörin inhibitörleri kullanımıyla ilişki olduğu varsayılmıştır. Bu ilişki siklosporin ve takrolimus kullandığını belirten iki olguda bildirilmiştir. Tüm yapılan çalışmalarda, ilaç dozu düzeyi düzeltildikten sonra işitme kaybı durmuş hatta tersine çevrilmiştir. Bu da, kalsinörin inhibitörleri ile ilişkili nörotoksosite için tipik olan, doza bağımlı bir toksisite olduğunu düşündürmektedir. Kardiyovasküler yan etkilerin görülme sıklığı siklosporin alan hastalarda daha yüksekken, nörotoksosite takrolimus alan hastalarda daha sık görülmektedir. Bu çalışmadaki hastalarda takrolimus esaslı immüsupresyonun daha yüksek oranda olması, nörotoksik bir mekanizmanın kalsinörin inhibitörlerine bağlı işitme kaybına neden olmasını olumlu yönde desteklemektedir. Sonuç olarak ise; karaciğer transplantasyonu sonrası hastalarda işitme kaybı sıklıkla görülmüştür. Çoğu hastada, işitme kaybının başlangıcı erken ve çift taraflı olup bu da nörotoksosite gibi doza bağımlı bir mekanizma olduğunu düşündürmektedir (67).

Saf ses odyometresi ile yapılan başka bir çalışmada ise siklosporin A ve takrolimus kullanan hastalarda karaciğer transplantasyonundan önce ve sonra ölçümler yapılmış ve olası işitme değişiklikleri karşılaştırılmıştır. Transplantasyon hastalarında sıklıkla antibiyotikler (eritromisin, klaritromisin, azitromisin, vankomisin ve amino glikozitler), diüretikler, interferon alfa-2 blokörleri ve koklear veya vestibüler değişiklikler üretebilecek diğer ilaçlar olarak birden fazla ilacın terapötik kullanımı gerekmektedir. Ancak işitsel bozukluklar bu tür ilaçlar kesildiğinde potansiyel olarak geri dönüşümlüdür. Bununla birlikte, transplantasyon sonrasında, immünsüpresif rejimi durdurmak veya değiştirmek, bireyleri akustik problemleri göstermeye daha duyarlı hale getirmek pek mümkün değildir. Çalışmada ölçümler ameliyat öncesinde ve sonrasında gerçekleştirilmiş olup elde edilen sonuçlara göre de yüksek frekanslı seslerde meydana gelen işitme bozukluklarına neden olan ilacın takrolimus olabileceği belirtilmiştir (68).

Takrolimus ve Siklosporin A'nın nörolojik ve sensorinöral yan etkileri birçok çalışma ile belirtilmiştir. Ayrıca kalsinörin inhibitörlerinden kaynaklı meydana gelen işitme bozuklukları hem yetişkin hem de pediatrik karaciğer transplantasyon hastalarında geliştiği gözlemlenmiştir. Ancak akut işitme kaybı ise nadiren bildirilmiştir. Noman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, karaciğer transplantasyonundan on hafta sonra başvuran hastalar, tinnitus ve akut başlangıçlı bilateral işitme kaybı şikâyetleri ile başvurmuştur. Ve yapılan kulak burun boğaz muayenesi ve saf ses odyometriyle, sol tarafta daha kötü olmak üzere bilateral işitme kaybı gözlemlenmiştir. Kulak burun boğazın tanısı ise, muhtemelen ilaç toksisitesiyle ilişkili, orta kulak hastalığına dair herhangi bir belirti olmaksızın aniden bilateral sensörinöral işitme kaybı olmuştur. Serum takrolimus düzeyleri terapötik olmasına rağmen, takrolimus kesildiği zaman hastaların işitme kaybı düzelmiştir. Bu bulgular da odyogram aracılığıyla doğrulanmıştır. Takrolimus akut bilateral işitme kaybının potansiyel nedeni olarak düşünülmüştür; bu nedenle kesilip yerine sirolimus başlatılmıştır. Diğer taraftan takrolimus kullanımını bıraktıktan on dört gün sonra hastada iyileşme olduğu ve tinnitus semptomlarının azaldığı bildirilmiştir. İlk muayeneden 4 hafta sonra tekrarlanan odyogram ise, işitme kaybının belirgin bir şekilde iyileştiğini doğrulamaktadır. Özetle; takrolimus tam mekanizma veya etyolojisi bilinmemekle birlikte terapötik seviyelerde dahi ciddi

işitme kaybına neden olabilmektedir. Min ve arkadaşları bu durumu iki olası mekanizma ile açıklamaktadır. İlk olarak takrolimus beyindeki kalsinörünü inhibe edebilir yada makrolid kimyasal yapısı vasıtasıyla eritromisin iç kulaktaki potasyum salınımını inhibe ederek ototoksositeye neden olmasıyla işitme kaybı oluşabilir (69) (70).

Yüksek şiddetteki seslere maruz kalınması, iç kulağa kalıcı hasar verebilir. Gürültüye bağlı işitme kaybının altında yatan yapısal değişiklikler, iç kulaktaki duysal tüy hücrelerinin kaybı ve stereokilizasyona zarar verilmesini içerir. Tüy hücreleri, normal koşullar altında kokleada rejenere olmazlar, reseptör hücrelerinin kaybı meydana gelir ve buna bağlı işitme kaybı geri döndürülemez bir hal alır. Böylece hücre içi Ca^{+2} , aşırı yüklenmesiyle sitotoksositeye neden olabilir ve apoptozisi tetikleyebilir (76). Akustik travma, işitsel tüy hücrelerindeki Ca^{+2} konsantrasyonunu artırır. Yüksek Ca^{+2} , tüy hücresi fonksiyonunda bozulmaya neden olur, gürültüye maruz kaldıktan sonra da tüy hücresi hasarı meydana gelebilir ve Ca^{+2} blokerler gürültüye bağlı işitme kayıplarında iyileşme sağlayabilir. Ca^{+2} 'nin nitrik oksit sentaz (NOS), fosfolipaz A2, proteazlar ve kalsinörün aktivasyonunu içeren hücre ölümüne katkıda bulunabileceği çeşitli yollar vardır. Gürültüye bağlı işitme kayıplarında kalsinörünün bir faktör olarak rolü henüz değerlendirilmemiştir (71) (72).

Minima ve arkadaşları; gürültüye maruz kaldıktan sonra tüy hücrelerinde kalsinörünün immünohistokimyasal olarak ekspresyonunu değerlendirmiştir. Başlangıçtaki hücre ölümünü değerlendirmek için de propidyum iyodür (PI) kullanarak kalsinörün immünreaktivitesi ve hücre yaşayabilirliği arasındaki ilişkiye bakmışlar. Kalsinörün inhibitörlerinden takrolimus ve siklosporin A'nın etkinliğini ölçmek için işitsel beyin sapı cevabında oluşan gürültüye bağlı eşik kayması ve tüy hücresi ölümünü değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda şunlar bulunmuştur; akustik travma, tüy hücrelerinin bulunduğu bölgede kalsinörün immünreaktivitesini indüklemektedir; PI ile boyanan kalsinörün pozitif tüy hücrelerinin çekirdekleri ölmekte olan hücreleri belirtmektedir ve kalsinörün inhibitörleri (takrolimus ve siklosporin A) gürültüye bağlı işitme kaybını azaltmaktadır. Bu gözlemler sonucunda da, kalsinörünün gürültüye bağlı tüy hücre

ölümünde bir faktör olduğu ve kalsinörin inhibitörlerinin gürültüye bağlı işitme kaybını azaltmak için potansiyel klinik değeri olabileceğini düşündürmektedir (73).

Szabo ve arkadaşlarına göre; son yıllarda, birkaç yazar özellikle karaciğer transplantasyonundan sonra ortaya çıkan ciddi işitme bozuklukları (işitme kaybı, tinnitus ve otalji) bildirmiştir. İşitme kaybı, karaciğer transplantasyonu alıcılarının %5 ile %25'inde bildirilmiştir. Doz düşürme veya takrolimusun kesilmesinden sonra doza bağımlı ve geri dönüşümlü olduğu görünmektedir. Takrolimusun, periferik sinir ve omurilik lezyonlarını takiben hem nörolojik düzelmeyi arttırdığı hem de akustik travma sonrası kokleadaki hasarlanmalara yardımcı olduğu düşünülürse, periferik ve merkezi sinir sistemlerinde bazı koruyucu etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir (74).

Bas ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada; deksametazon, melatonin ve takrolimus bileşiklerinin, tüy hücre ölümüne neden olan reaksiyonlar zincirinin farklı evrelerinde otoprotektif bir etki yaparken etkinliğini karşılaştırılması amaçlanmıştır. Üç gruba ayrılan hayvanların hepsine akustik travma sonrasında deksametazon, melatonin ve takrolimus ilaçları verilmiş ve DPOAE, ABR ve sitokokleogram yapılarak gruplar birbiri ile kıyaslanmıştır. Sonuç olarak; takrolimusun akustik travma sonrasında kokleanın 1. haftadan itibaren travmaya karşı koruma sağladığı ve sonunda işitme yeteneğinin tamamen iyileşmesini sağladığı gözlemlenmiştir. Bunu c-fos ve TNF-alfa mRNA ekspresyonunu inhibe ederek yapmış ve dış tüy hücrelerinin kaybını azaltmıştır. Böylelikle, kalsinörin inhibitörlerinin ve daha sonra MAPK-JNK yolaklarının gürültüye bağlı işitme kaybında aktive olduğu bulunmuştur. Tüy hücrelerini hayatta kalmalarına veya ölebilmelerine neden olan tam moleküler mekanizmaları aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulsa da, deksametazonun akustik travma nedeniyle oluşturulan corti organında tüy hücresi hasarına karşı koruyucu olmadığı ve melatoninin özellikle de takrolimusun, gürültüye bağlı işitme kaybına karşı otoprotektif potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (75).

Diğer taraftan; son yıllardaki araştırmalarda kalsinörin inhibitörlerinin immünofilin kompleks yapısının beyinde nöroprotektif etkilere sahip olduğunu

göstermiştir. Siklosporin A ve takrolimusun uygulanmasında, iskemik beyin hasarı veya nörodejeneratif hastalıklar tarafından indüklenen nöronların apoptozunu belirgin olarak azalttığı bulunmuştur (73).

Uematomari ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada ise kalsinörin inhibitörlerinden rapamisin, siklosporin A ve takrolimusun akustik travma sonrasında kokleadaki değişiklikler birleşik aksiyon potansiyelleri ve işitsel beyin sapı cevapları ile kaydedilmiştir.

Siklosporin A, takrolimus ve rapamisin, klinik uygulamada immünoşpresif ilaçlar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Siklosporin A ve takrolimus için reseptörler immünofilinler olarak sınıflandırılmışlardır ve sırasıyla siklofilinler ve takrolimus bağlayıcı proteinlerdir. Siklosporin A ve takrolimus, kalsinörin immünofilinleri bağlayarak inhibe eder ve immünoşpresif etkiye aracılık eder. Rapamisin ve takrolimus aynı bağışıklıklarla aynı immünofile bağlanır ve rapamisin kalsinörin inhibitörünü inhibe etmez, böylece iki ilaç birlikte kullanıldığında takrolimus üzerinde antagonistik bir etkiye sahip olan rapamisin ortaya çıkar. Çalışmada da iki deney protokolü kullanılmıştır. İlkinde siklosporin A ve takrolimus kullanılmış ikincisinde ise rapamisin, siklosporin A ve takrolimus kullanılmış ve karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu çalışmada ratların akustik hasarı sonucunda rapamisinin de etkisi değerlendirilmiş ve rapamisinin takrolimusun koruyucu etkilerini tamamen engellediği, akustik travma üzerine takrolimusun koruyucu etkisinin kalsinörin inhibisyonuna bağlı olduğu ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, kalsinörin inhibitörlerinden olan siklosporin A ve takrolimus, gine domuzlarının ve farelerinin kokleasında akustik travma üzerinde belirgin bir koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (76).

Böylece literatürde takrolimusun işitme sistemi üzerine etkilerinin olduğu çalışmaların bazılarında koruyucu etkisi sahip olması bazılarında ise olumsuz etkilere neden olmasından dolayı takrolimusun işitme sistemi üzerine etkilerinin açıklanabilmesi için deneysel bir çalışma yapılmıştır. Araştırmamızda ratlara farklı doz takrolimus verilerek DPOAE ölçümlerindeki SNR değerleri karşılaştırılmıştır. Başlangıç ve 1 ay sonraki gruplar arasında yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık

gözelemlenmemiştir ki bu da takrolimusun bizim çalışmamızda uygulanan doz ve sürede işitme sistemi üzerinde toksik etki oluşturmadığını göstermektedir. Diğer taraftan bütün gruplarda SNR değerleri ilk ölçüme göre düşmüştür. Bu da stres ve anesteziye bağlıdır. Bu çalışmanın kısıtlılıkları da vardır. Araştırmaya alınan rat sayısı nispeten azdır. Bir aylık süre toksik etkinin oluşması için az gelmiş olabilir. Ayrıca daha yüksek dozlarda toksisite oluşabilir. Test bataryasında ABR testi yoktur bu nedenle nöral toksisite üzerinde bilgi sahibi olunamamıştır. Bundan sonraki çalışmalarda, daha yüksek doz takrolimus daha uzun sürelerde verilip test bataryasına ABR eklenebilir. Bu şekilde farklı sonuçlar elde edilebilir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ratlarda farklı dozlarda takrolimus kullanımının işitme sistemine etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda 20 rat üzerinde 3 gruba ayırarak gerçekleştirilmiştir.

1. 1mg/kg takrolimus verilen grubun öncesinde ve sonrasında yapılan DPOAE ölçümleri sonucunda anlamlı bir fark bulunmadığından toksik bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.
2. 0,1mg/kg takrolimus verilen grubun öncesinde ve sonrasında yapılan DPOAE ölçümleri sonucunda anlamlı bir fark bulunmadığından toksik bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.
3. Takrolimus ilacı gavaj yolu ile verilmiştir. Farklı çalışmalarda araştırılmak istenen etken besinlere katılarak verildiği gözlemlenmiştir. İlerleyen çalışmalarda deney hayvanlarına besinleri aracılığı ile günlük diyetlerine katılması önerilir.
4. Bu sonuçlar doğrultusunda takrolimus ilacı kullanımında yeni bir model uygulayarak daha uzun süre ve daha yüksek doza maruziyet sonrası etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.
5. Hayvanlarda uyguladığımız deneysel çalışmamızın insan modeline uyarlanmasına yönelik araştırmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

1. <http://docplayer.biz.tr/391709-Ses-ile-ilgili-temel-kavramlar.html> Erişim tarihi: 4.3.17
2. Abbas, P.J. (1993). Physiology of the auditory system. Missouri, L. (Ed), Mosby YearBook Inc, 2566-603.
3. Akyıldız, N. (1998). İşitme Fizyolojisi Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, cilt 1, 22-128.
4. Zeybek, S.M. (2016). Üzüm çekirdeği özünün farklı dozlarının akustik travma uygulanan ratların kokleası üzerine etkilerinin elektrofizyolojik olarak değerlendirilmesi. Yayınlamamış yüksek lisans tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
5. Büyüklü, F. (2013). Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi, Cilt 1, Ankara, Anadolu Sanat, 31.
6. Akyıldız, N. (2002). Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. (1-87). Cilt 1. Ankara: Bilimsel TıpYayınevi.
7. Belgin, E. (2015). Periferik işitme sisteminin anatomisi ve fizyolojisi, Temel Odyoloji. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi.
8. Hofman, P.M. (1998). Relearning Sound Localization with New Ears. (417-421). Nature Neuroscience. Netherlands.
9. Rice, J.J. (1992). Pinna Based Spectral Cues for Sound Localization in Cat. (132-152). Hearing Volume 58. Issue 2.
10. Akyıldız, N. (2002). Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. (61-76). Cilt 1. Ankara: Bilimsel TıpYayınevi.
11. Madanoğlu, N. A. (2003). Dış ve Orta Kulağın İşitme Mekanizmasındaki Yeri. (33-38). Otoskop.

12. Gerhardt, K. Rodriguez, G.P. Hepler, E.L. ve diğeri. (1987). Ear Canal Volume and Variability in the Patterns of Temporary Threshold Shifts. *Ear and Hearing*. vol:8. no:6.316-325.
13. Lee, K.J. (2012). *Audiology, Essential Otorhinolaryngology*. Head and Neck Surgery. (24-65). Tenth Edition. USA: Mc Graw-Hill Medical.
14. Topuz, B. (1997). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Teşhis & Tedavi*. Bostancı İ.(Ed.), Pamukkale Üniversitesi. Türker Ofset. Denizli.
15. Bluestone, C.D. Paparella, M.M. Shumrick, D.A. Gluckman, J.L. Meyerhoff, W.L. ve diğeri. (1991). *Physiology of the Middle Ear and Eustachian Tube*. *Otolaryngology*, 3rd ed. WB Saunders Company. Philadelphia, p. 163-97.
16. Brenda, L., Lonsbury, M. Martin, G.K. Luebke, A.E. (1996). İşitme ve Vestibüler Sistemlerin Fizyolojisi. In Ballenger J.J. Snow J.B. (Ed). Senocak D. (çev.). İstanbul: Otolaringoloji Baş Boyun Cerrahisi. 15.baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. p.879-929.
17. Guyton, A.C. (1986). Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 7th ed. WB Saunders Company. Philadelphia.
18. Ayarbe, I. Negrevergne, M. Ucelay, R. ve diğeri. (1999). *Physiologie de l'oreille moyenne*. *Rex LaryngolotolRhinol(Bord)*. 120 (5) :291-9.
19. Kley, W. (1986). Alfonso Corti (1822-1876) – Discoverer of the Sensory End Organ of Hearing in Würzburg. *ORL* 48. p 61-67.
20. Karasalihoğlu, A.R.(2003). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. 3. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevleri.
21. Akkın, S.M. (1998). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Baş Ağrıları- Baş Dönmeleri Sempozyumu. Vestibüler Sistemin Fonksiyonu Anatomisi, İstanbul, 133-145.
22. Austin, D.F. (2000). *Kulak Anatomisi, Otolaringoloji, Baş ve Boyun Cerrahisi*. (Ballenger, J.J. Snow, J.B. Ed). 15.Baskı. İstanbul: Noel Tıp Kitapevleri, 838-857.

23. Graaff , V.D. (2001). Senses of hearing and balance. Human Anatomy (Graaff, V.D.,Ed). Sixth Edition. USA: The McGraw- Hill Company: 16-30.
24. Paparella, M.M., Schmirck, D.A., Gluckman, J.L., Meyerhoff, W.L. (1991). Otolaryngology 3th edition W.B. Saunders Company. Philadelphia: Volume 1. Basic Sciences and Related Principles, 199-205.
25. Kemp, D.T. Otoacoustic emissions: Concepts and Origins. Active Processes and Otoacoustic Emissions in Hearing (Mankey, G.A., Fay, R., Pappas, A.R., Eds). (2008). New York: Springfield, 1-38.
26. Şahin, A. M. (2005). Akustik travmaya bağlı gelişen ani işitme kayıplarının önlenmesinde trimetazidin'in rolü. Yayınlanmış yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, I.Kulak-Burun-Boğaz ve Baş-Boyun Cerrahisi Kliniği.
27. Ballenger, J.J., Snow, J.B. (2000). Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, İşitme ve Vestibüler Sistemlerin Fizyolojisi. (15.Baskı). Nobel Tıp Kitapevleri. 879-900.
28. Yaman, G. (2004). Kobaylarda dehidratasyonun iç kulak üzerine etkisinin distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ölçüm yöntemiyle fonksiyonel olarak araştırılması (Deneysel çalışma). Yayınlanmış Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Kulak Burun Boğaz ve Baş-Boyun Cerrahisi Kliniği.
29. Tek, A. (2009). Temporal kas fasyası anteriorunda kıkırdak ile güçlendirilmiş miringoplasti ile sadece temporal kas fasyası kullanılan miringoplastinin işitme ve reperforasyon sonuçları açısından karşılaştırılması. Yayınlanmış Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. Kulak Burun Boğaz Kliniği.
30. Fay, R.R. (1998). Comparative psychoacoustics. Hearing Reserach. 34 (3), 295-305.
31. Kelly, J.B., Masterton, B. (1977). Auditory sensitivity of the albino rat. J Comp Physiol Psychol, 91 (4): 930-6.
32. Iannaccone, Philip M., Howard, J. J. "Rats!" (2009). Disease Models & Mechanisms 2.5-6, 206-210.

33. Pinilla, M., Ramirez-Camacho, R., Jorge, E., Trinidad, A., Vergara, J. (2001). Ventral approach to the rat middle ear for otologic research. *Otolaryngol Head Neck Surgery*. 124 (5), 515-517.
34. Antonio, J., Oliveira, A. D. (2009). Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research,. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 75: 43-49.
35. AlbuquerqueI, A., Rossato, M., Aparecido de Oliveira, J.A., Hyppolito, M.A. (2009). Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research. *Otorrinolaringol*.75, 1, 43-49.
36. Hebel, R., Stromberg, M.V. (1976). *Anatomy of the laboratory rat*, Baltimore, Williams & Wilkins.
37. Koka, K., Read, H.L. ve Tollin, D.J. (2008). The acoustical cues to sound location in the rat: measurements of directional transfer functions. *The journal of the acoustical society of america*, 123(6): 4297-4309.
38. Dağlı, A.Ş. (1996). Distortion product otoakustik emisyonlar (Uyarı/cevap eğrileri). (1996). *Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*. 4 (2): 140-2.
39. Özturan, O., Lew, H., Jerger, J. (1994). Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. *Kulak burun boğaz ihtisas dergisi*, 2(2), 194-205.
40. Aydan,G., Belgin, E. (2004). *Temel Odyoloji. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları*. Ankara: Güneş Kitabevi, 73-88.
41. Lonsbury Martin BL. (1994). Introduction to Otoacoustic Emissions. *American Journal of Otology*, 15: (sayı 1), 1-3.
42. Brownell, WE. (1990). Outer hair cell electromotility and otoacoustic emissions. *Ear Hear*, 11, 82-92.
43. Liberman, MC. (1984). Single neuron labeling and chronic cochlear pathology. I.Threshold shift and characteristic frequency shift. *Hearing Reserach*, 16 (1), 33-41.

44. Babaoğlu, G. (2016). Ratlarda akustik travma sonrası omega 3 yağı kullanımının elektrofizyolojik etkilerinin araştırılması. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
45. Lonsbury-Martin, B.L., Harris, F.P., Stagner, B.B, Hawkins M.D., Martin, G.K.(1990). Distortion product emissions in humans. I. Basic properties in normally hearing subjects. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology Sage Journals*, 147, 3- 14.
46. Harris, F.P., Lonsbury Martin, B.L., Stegner, B.B., Coats, A.C., Martin, G.K. (1989). Acoustic Distortion Products in Humans: Systemic Changes in Amplitudes as Function of f_2/f_1 Ratio. *Journal of Acoustic Society of America*, 85, 220-229.
47. Probst, R., Lonsbury-Martin B.L. ve Martin, G. (1991). A review of otoacoustic emissions. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 89, 2027-67.
48. Özdemir, E. (2009). Akustik travmaya bağlı işitme kaybında transtimpanik steroid tedavi etkinliğinin araştırılması, deneysel çalışma. Yayınlanmış Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı .
49. Lonsbury-Martin, B.L., Harris, F.B., Stagner, B.B. (1990). Distortion product otoacoustic emissions in human. II. relations to acoustic immitance and stimulus frequency and spontaneous emissions in normally hearing subjects. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology Sage Journals*, 147:15–29.
50. Korres, G.S., Balatsouras, D.G., Tzagaroulakis, A. (2009). Distortion product otoacoustic emissions in an industrial setting. *Noise Health*, 11(43), 103-10.
51. Şerbetçioğlu, B. Dizdar, H. (2015). Otoakustik emisyonlar. Belgin, E. Ed, *Temel Odyoloji* (113-122). Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri.
52. Bonfils, P, Avan, P., Francois, M., Trotoux, J., Narcy, P. (1992). Distortion-product otoacoustic emissions in neonates: normative data. *Acta Oto-Laryngologica*, 112(5), 73944.

53. Akbaba, D. (2009). İmmünesupresif kan ilaç düzeyi izleminin ve elde edilen test sonuçlarıyla biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. Yayınlanmış Uzmanlık Tezi. İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü.
54. Kansu, E. (2002). İmmünesupresif ajanların genel özellikleri ve etki mekanizmaları. ANKEM , Cilt 16, 3, s.1, 194-198.
55. Şentürk Çiftçi, H. (2012). Böbrek nakli yapılan hastalarda CYP3A,CYP2C ve MDR-1 polimorfizminin kalsinörin inhibitörlerinin farmakinetiği ile ilişkisi. Yayınlanmış Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
56. Güler, Ö. (2011). Deneysel beyin iskemisinde tacrolimus'un endotelin-1, melatonin ve heat shock protein-70 seviyelerinin etkisi. Yayınlanmış Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı.
57. Aydın, F., Şentürk, N., Cantürk, T., Turanlı, A.Y. (2002). Takrolimus ve Dermatolojide Kullanımı. Türkderm. 36: 152-156.
58. Mok, C.C., Tong, K.H., To, C.H., Siu, Y.P., Au, T.C. (2005). Tacrolimus for induction therapy of diffuse proliferative lupus nephritis: An open-labeled pilot study. *Kidney International*, vol. 68 , pp. 813–817.
59. Yarosh, D.B., Pena, A.V., Nay, S.L., Canning, M.T., Brown, D.A. (2005). Calcineurin inhibitors decrease DNA repair and apoptosis in human keratinocytes following ultraviolet B irradiation. *Journal of Investigative Dermatology*. 125(5), 1020-5.
60. Süzer, Ö. (Ed). (2009). Goodman & Gilman, Tedavinin Farmakolojik Temeli. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.
61. Bisht, M., Bist SS.(2011). Ototoxicity: The Hidden Menace. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 63(3), 255–259.
62. Hatzopoulos, S., Stefano, M., Albertin, A., Martini, A. (1999). Evaluation of cisplatin ototoxicity in a rat animal model. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 884(1), 211-25.

63. Owens, J.J., McCoy, M.J., Lonsbury-Martin, B.L., Martin, G.K. (1993). Otoacoustic emissions in children with normal ears, middle ear dysfunction, and ventilating tubes. Department of Otorhinolaryngology and Communicative Sciences, Baylor College of Medicine, Houston, Texas. 14(1): 34-40.
64. Freitas, M., Silva, V., Brito, G. (2009). Distortion-product otoacoustic emissions and auditory brainstem responses sensitivity assessment in cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 75(4): 476-84.
65. Rifai, K., Kirchner, G., Bahr, M., Cantz, T., Rosenau, J. ve diğer. (2006). A new side effect of immunosuppression: High incidence of hearing impairment after liver transplantation. *Liver Transplantation*, 12, s.1, 411-415.
66. Rifai, K., Klempnauer, J. Manns, M.P., Strassburg, C.P. (2006). Sudden hearing loss associated with high levels of calcineurin inhibitors after liver transplantation. *Transplantationsmedizin*, 18, s.1, 33-35.
67. Rifai, K., Bahr, M.J., Cantz, T., Klempnauer, J., Manns, M.P., Strassburg, C.P. (2005). Severe hearing loss after liver transplantation. *Transplantation Proceedings*, 37, s.1, 1918-1919.
68. Fortes, M.E., Marroni, C.A., Coser, P.L., Santos, C.A. (2008). Audiometric changes in patients undergoing liver transplantation using distinct immunosuppressive protocols. *Liver Transplantation*, 14, s.1, 509-511.
69. Min, D.I., Ku, Y.M., Rayhill S, Corwin, C., Wu, Y.M., Hunsicker, L.G. (1999). Sudden hearing loss associated with tacrolimus in a kidney-pancreas allograft recipient. *Pharmacotherapy*, 19, 7, 891-893.
70. Norman, K., Bonatti, H., Rolland, C.D., Aranda-Michel, J. (2006). Sudden hearing loss associated with tacrolimus in a liver transplant recipient. The authors journal compilation, s.1, 601-603.
71. Orrenius, S., Zhivotovsky, B, Nicotera, P. (2003). Regulation of cell death: the calcium apoptotic link. *Nature Reviews Cell Biology*, s.1, 552-565.

72. Jayaraman, T., Marks, A.R. (2000). Calcineurin is downstream of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in the apoptotic and cell growth pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, 275, 6417–6420.
73. Minima, S.B., Yamashita, D., Schacht, J., Miller, J.M. (2004). Calcineurin activation contributes to noise-induced hearing loss. *Journal of Neuroscience Research*, 78, s.1, 383-392.
74. Szabo, L., Rusznak, Z., Szucs, G., Asztalos, L., Pal, B. (2010). Effect of tacrolimus on the excitatory synaptic transmission between the parallel fibers and pyramidal cells in the rat dorsal cochlear nucleus. *Transplantation Proceedings*, 42, s.1, 2339-2343.
75. Bas, E., Martinez-Soriano, F., Jamez, J.M., Marco, J. (2009). An experimental comparative study of dexamethasone, melatonin and tacrolimus in noise-induced hearing loss. *Oto-Laryngologica*, 129, s.1, 385-389.
76. Uemaetomari, I., Tabuchi, K., Hoshino, T., Hara, A. (2005). Protective effect of calcineurin inhibitors on acoustic injury of the cochlea. *Hearing Research*, 209, s.1, 86-90.