

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

**PAKLİTAKSEL İLE İNDÜKLENEN
OTOTOKSİSİTEDE KARVAKROLÜN
PROTEKTİF ETKİSİNİN SIÇAN MODELİ
ÜZERİNDE İNCELENMESİ**

Dr. Fatma ATALAY

Uzmanlık Tezi

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Arzu TATAR

ERZURUM - 2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

İLGİ: 04.05.2017 tarih ve 1700132309 sayılı yazınız.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş. Gör. Dr. Fatma ATALAY' ın "Paklitaksel ile İndüklenen Ototoksistide Karvakrolün Protektif Etkisinin Sıçan Modeli Üzerinde İncelenmesi" konulu tezini incelemek üzere tez jürisi 09.05.2017 tarihinde toplanmış ve ilgili tez öğrencisinin tez savunmasını almıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçen tezi jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz. 09.05.2017



Prof. Dr. Bülent AKTAN
Jüri Başkanı

Yrd.Doç.Dr. M. Sedat SAKAT
Jüri Üyesi



Yrd.Doç. Dr. Sevgin KURT
Jüri Üyesi



İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ	ii
TABLOLAR DİZİNİ	iii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	iv
GRAFİKLER DİZİNİ	v
KISALTMALAR	vi
TEŞEKKÜR	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kulak Embriyolojisi.....	3
2.2. Kulak Anatomisi	5
2.3. İç Kulak Histolojisi.....	13
2.4. İç Kulak Fizyolojisi	17
2.5. Santral İşitme Yolları.....	17
2.6. İşitme Fizyolojisi	19
2.7. Sıçan Kulağı Anatomisi	22
2.8. Ototoksisiteye Genel Bakış.....	25
2.9. Paklitaksel.....	26
2.10. Karvakrol	27
2.11. Otoakustik Emisyonlar	28
3. MATERYAL VE METOD	33
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR	58
KAYNAKLAR	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kulak embriyolojisi	4
Şekil 2. Kulak yapılarının koronal kesiti	5
Şekil 3. Malleus, inkus ve stapes	8
Şekil 4. İç kulak yapıları	9
Şekil 5. Kemik ve membranöz labirent	12
Şekil 6. Korti organı	17
Şekil 7. Santral işitme yolları	19
Şekil 8. Sıçan orta kulağı. Lateralde, timpanik membran kaldırılmış halde	23

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışma grupları.....	33
Tablo 2. Histopatolojik inceleme sonuçları	47
Tablo 3. Ortalama SOD, GSH ve MDA seviyeleri.....	48



FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 1. Sıçanların otoskopik muayenesi	34
Fotoğraf 2. Sıçanlarda otoakustik emisyon ölçümü	35
Fotoğraf 3. Otoakustik emisyon ölçüm düzeneği	35
Fotoğraf 4. Grup 1'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normal histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	42
Fotoğraf 5. Grup 1'e ait stria vaskülarisin normal histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400	42
Fotoğraf 6. Grup 2'ye ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	43
Fotoğraf 7. Grup 2'ye ait stria vaskülarisin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	43
Fotoğraf 8. Grup 3'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerde kayıp ile karakterize belirgin dejenerasyon bulguları (ok), H&E, x400.....	44
Fotoğraf 9. Grup 3'e ait stria vaskülariste orta derecede dejeneratif değişiklik (ok), H&E, x400	44
Fotoğraf 10. Grup 4'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	45
Fotoğraf 11. Grup 4'e ait stria vaskülarisin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	45
Fotoğraf 12. Grup 5'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	46
Fotoğraf 13. Grup 5'e ait stria vaskülarisin hafif dejenerasyon bulguları gösteren histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.....	46

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. 3000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)	38
Grafik 2. 3000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak).....	38
Grafik 3. 4000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)	39
Grafik 4. 4000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak).....	39
Grafik 5. 6000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)	40
Grafik 6. 6000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak).....	40
Grafik 7. 8000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)	41
Grafik 8. 8000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak).....	41
Grafik 9. Koklea dokusundaki SOD seviyelerinin karşılaştırılması.....	48
Grafik 10. Koklea dokusundaki GSH seviyelerinin karşılaştırılması.....	49
Grafik 11. Koklea dokusundaki MDA seviyelerinin karşılaştırılması	49

KISALTMALAR

dB	: Desibel
DKY	: Dış kulak yolu
DPOAE	: Distorsiyon ürünü (distortion product) otoakustik emisyon
DTH	: Dış titreşim tüylü hücre
EOAE	: Uyarılmış (evoked) otoakustik emisyon
GSH	: Glutasyon peroksidaz
H&E	: hematoksilin&eosin
Hz	: Hertz
İ.P	: intraperitoneal
İTH	: İç titreşim tüylü hücre
İ.T	: intratimpanik
kHz	: Kilohertz
MDA	: Malondialdehit
OAE	: Otoakustik emisyon
ÖT	: Östaki tüpü
SFOAE	: Stimulus frekansı otoakustik emisyon
SOAE	: Spontan otoakustik emisyon
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPL	: Sound Pressure Level
TEOAE	: Geçici uyarılmış (transient evoked) otoakustik emisyon

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sevgili hocam Yrd.Doç.Dr. Arzu Tatar'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Bülent Aktan, Prof. Dr. Enver Altaş, Prof. Dr. Harun Üçüncü, Prof. Dr. Özgür Yörük, Yrd.Doç.Dr. Vahit Mutlu, Yrd.Doç.Dr. M. Sıtkı Gözeler ve Yrd.Doç.Dr. M. Sedat Sakat'a,

Deney aşamasındaki yardımları için Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalından Arş.Gör. Büşra Dincer'e, Patoloji Anabilim Dalından Yrd.Doç.Dr. Betül Gündoğdu'ya,

Hayatım boyunca yanımda olan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen aileme,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım, asistanlığım süresince kliniği ikinci evim olarak hissettiren asistan doktor arkadaşlarıma, kliniğimizin hemşire, sekreter, odyometrist ve personeline çok teşekkür ederim.

Dr. Fatma ATALAY

ÖZET

Paklitaksel İle İndüklenen Ototoksisitede Karvakrolün Protektif Etkisinin Sıçan Modeli Üzerinde İncelenmesi

Amaç: Ototoksisite, işitme kaybı ve denge bozukluğuna yol açan önemli bir nedendir. Çalışmamızın amacı, Paklitaksel ile indüklenen ototoksisitede, nöroprotektif ve antioksidan bir ajan olan karvakrolün protektif etkisini sıçan modeli üzerinde histopatolojik, biyokimyasal yöntemler ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon kullanarak araştırmaktır.

Materyal ve metod: Deney hayvanları her grupta 8 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Çalışmanın başlangıcında tüm sıçanlara otoskopik muayene ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) ölçümleri yapıldı. Dış kulak yolu, timpan zarı ve işitmesi normal olan sıçanlar çalışmaya dahil edildi. 1. gruptaki sıçanlara çalışmanın sonuna kadar herhangi bir uygulama yapılmadı. 2. gruptaki sıçanlara haftada 1 kez 4 hafta boyunca 25 mg/kg dozunda Karvakrol intraperitoneal olarak uygulandı. 3. gruptaki sıçanlara haftada 1 kez 4 hafta boyunca 5 mg/kg dozunda Paklitaksel intraperitoneal olarak uygulandı. 4. gruptaki sıçanlara haftada 1 kez 4 hafta boyunca 5 mg/kg dozunda Paklitaksel ve 30 dakika sonra 25 mg/kg dozunda Karvakrol intraperitoneal olarak uygulandı. 5. gruptaki sıçanlara haftada 1 kez 4 hafta boyunca 25 mg/kg dozunda Karvakrol ve 1 gün sonra 5 mg/kg dozunda Paklitaksel intraperitoneal olarak uygulandı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında DPOAE ölçümleri tekrarlandı. Daha sonra letal doz ketamin uygulanarak kurban edilen sıçanların temporal kemikleri çıkarıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler yapıldı.

Bulgular: 1, 2, 4, ve 5. gruplarda histopatolojik incelemede, DPOAE ölçümlerinde ve antioksidan parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. 3. grupta ise histopatolojik kesitlerde belirgin hasar, DPOAE ölçümlerinde 6000 ve 8000 Hz’ de istatistiksel olarak anlamlı düşüş, antioksidan aktivitede azalma ve oksidatif hasar belirteçlerinde artış izlendi.

Sonuç: Paklitaksele bağlı ototoksisitede sistemik karvakrol uygulamasının DPOAE, histopatolojik yöntemler ve antioksidan parametreler ile değerlendirildiğinde potansiyel koruyucu bir role sahip olduğunu, antioksidan ve nöroprotektif özelliklerinden dolayı koklear morfolojiyi ve fonksiyonları koruyabileceğini gösterdik.

Anahtar Kelimeler: Karvakrol, ototoksisite, paklitaksel

ABSTRACT

Investigation of Protective Effect of Carvacrol Against Paclitaxel-Induced Ototoxicity on Rat Model

Purpose: Ototoxicity is an important cause of hearing loss and balance system disorders. The aim of our study is to investigate the protective effect of carvacrol, a neuroprotective and antioxidant agent, on paclitaxel induced ototoxicity in rat model by using histopathological and biochemical methods and distortion product otoacoustic emissions.

Materials and Methods: Experimental animals were divided into 5 groups as 8 rats in each group. At the beginning of the study, otoscopic examination and distortion product otoacoustic emission (DPOAE) measurements were performed on all rats. Rats with normal external auditory canal, tympanic membrane and hearing level were included in the study. No application was made to rats in group 1 until the end of study. 25 mg / kg Carvacrol was administered intraperitoneally to rats in group 2 once a week for 4 weeks. 5 mg / kg Paclitaxel was administered intraperitoneally to rats in group 3 once a week for 4 weeks. 5 mg / kg Paclitaxel and after 30 minutes 25 mg / kg Carvacrol administered intraperitoneally once a week for 4 weeks to rats in group 4. 25 mg / kg Carvacrol and after 1 day 5 mg / kg Paclitaxel administered intraperitoneally once a week for 4 weeks to rats in group 5. After 4 weeks, DPOAE measurements were repeated under general anesthesia. The temporal bones of rats sacrificed by the application of lethal dose of ketamine were removed. Histopathologic and biochemical examinations were performed.

Results: There was no statistically significant difference in histopathologic examination, DPOAE measurements and antioxidant parameters in group 1, 2, 4, and 5. In group 3, histopathological sections showed significant damage, DPOAE measurements showed statistically significant decrease at 6000 and 8000 Hz, antioxidant activity decreased and markers of oxidative damage increased.

Conclusion: We demonstrated that systemic carvacrol treatment has a potential protective role on paclitaxel-induced ototoxicity when assessed by DPOAE, histopathological methods and antioxidant parameters and may protect the cochlear morphology and functions due to antioxidant and neuroprotective properties.

Keywords: Carvacrol, ototoxicity, paclitaxel.

1. GİRİŞ

Ototoksisite çeşitli terapötik ajanlar ve kimyasal maddelerle karşılaşma sonucu koklear ve vestibüler organda hasarlanma ile birlikte işitme kaybı, denge bozukluğu ya da her iki semptomu birden ortaya çıkaracak şekilde iç kulak disfonksiyonu oluşmasıdır. Semptomlar kalıcı, geçici, tek veya çift taraflı olabilir. Bir çok ajan ototoksisiteye neden olabilir. İlk olarak 19. yüzyıl başlarında kinin ve salisilatların tinnitus, işitme azlığı ve vestibüler bozukluğa yol açtığı bildirilmiştir. Günümüzde de ototoksisite, işitme kaybı ve denge bozukluğuna yol açan önemli bir nedendir. Çoğunlukla tinnitus en sık görülen semptomdur ve ardından oluşabilecek pek çok toksik etkinin habercisidir. Tinnitus genellikle yüksek perdeli ve 4 ila 6 kilohertz (kHz) arasında değişen frekanstadır. Sıklıkla işitme kaybından önce ortaya çıkar. Tinnitusun tam olarak kaybolması nadirdir. Ancak zamanla nöral elemanların dejenere olması ile tinnitus şiddetinde azalma izlenebilmektedir. Ototoksisitede semptomlar ilaç alımını takiben hemen başlayacağı gibi günler veya haftalar içinde de gelişebilir.¹ Ototoksisitede görülen işitme kaybı daima sensorinöral karakterdedir.²

Ototoksisite sıklıkla otolojinin alanı dışında uygulanan tedaviler sonrasında meydana gelmektedir. Bu nedenle kulak burun boğaz hekimlerinin ototoksik ilaçların etkilerini bilip, tedavi sürecinde ilacın kullanılmasına devam edilmesi, ilacın kesilmesi veya koruyucu bazı ilaçlarla birlikte kullanılması gibi konularda bilgili olması gerekmektedir. Günümüzde antibiyotikler, diüretikler, antienflamatuarlar, antineoplastik ajanlar, antimalaryal ilaçlar ve diğer bazı ilaçların ototoksisiteye neden olduğu bilinmektedir.³ Ancak pek çok yeni ilaç ya da kimyasal maddenin de ototoksik olabileceği daima akılda tutulmalıdır.

Taksan sınıfı bileşikler (paklitaksel ve dosetaksel) son yılların en önemli kanser kemoterapötiklerindendir. Paklitaksel ve yarısentetik türevi olan dosetaksel antitümör etkilerini, hücrede mikrotübüllerin toplanmasını arttırmak ve depolimerizasyonunu önleyerek stabil mikrotübül toplulukları oluşturmak suretiyle göstermektedir.^{4, 5} Over, meme, akciğer ve baş-boyun kanserlerinde erişkin ve pediatrik hasta grubunda tek başına veya diğer kemoterapötiklerle kombine olarak kullanılmaktadır.⁶⁻⁹ En önemli yan etkileri nötropeni ve periferik nöropatidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda paklitakselin ototoksik etkisi, hafif-orta dereceli işitme kaybına neden olduğu ve kokleada dejenaratif değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir.¹⁰

Karvakrol, ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen, Lamiaceae ailesine ait bitkilerden elde edilen monoterpenik bir fenoldür. Kekik ve kekik uçucu yağ fraksiyonunda bol miktarda bulunur.¹¹ Antioksidan, antimikrobiyal, antispazmolitik, antihepatotoksik, antikanserojen ve nöroprotektif özellikleri hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.^{12, 13}

Çalışmamızda taksan grubuna ait bir kemoterapötik olan paklitaksel ile indüklenen ototoksisitede nöroprotektif ve antioksidan etkileri gösterilmiş bir ajan olan karvakrolün protektif etkisini sıçan modeli üzerinde araştırmayı amaçladık. Bu amaçla oluşturduğumuz deneysel çalışma planında, histopatolojik ve biyokimyasal yöntemler ve otoakustik emisyon kullanarak sonuçları değerlendirdik.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Embriyolojisi

Kulağın en önce gelişimini tamamlayan parçası iç kulaktır. Rhombensephalon'un iki yanındaki ektodermden gelişir. 3. haftanın sonunda, embriyo 2-4 mm büyüklüğüne ulaştığı zaman yüzeyel ektodermin kalınlaşması ile otik lamina ortaya çıkar. Lamina otikadaki derin hücrelerin gelişmesi sonucu bu yapı kısa sürede içe doğru çöker. Bu şekilde nöral oluk ve iki tarafında akustikofasyal tümsek ortaya çıkar. Bunların birleşmesiyle iç kulak taslağı yüzey epitelden ayrılır ve vezikül haline gelir.¹⁴

Otik vezikül oluşurken bundan ayrılan bir hücre grubu vezikül ile rhombencephalon arasında statoakustik ganglionu yapar. 4. ve 5. haftalarda statoakustik ganglion üst ve alt olarak iki parçaya bölünür ve spiral ve vestibüler ganglionları oluşturur. Bir taraf işitme duyusu için korti organına, diğer taraf ise denge duyusu için utrikulus ve duktus semisirkularisin içine doğru ilerler. Embriyo 8 mm boyutuna geldiğinde vestibüler ve koklear taslaklar ayrılır. Ventraldeki kısımdan korti organı ve koklea gelişir. Dorsaldeki kısımdan ise utrikulus, kanalis semisirkularis, duktus endolenfatikus ve duktus utrikulosakkularis gelişir. Koklear kanal 6. haftada gelişmeye başlar. 7. haftada kokleanın birinci turu oluşur ve 8. haftanın sonunda 2.5 tur tamamlanır. Bu sırada koklea ile sakkulusun geri kalan kısmı arasındaki bağlantı duktus reuniens halini alır. Daha sonra duktus koklearisin skala vestibüliye bakan tarafında membrana vestibularis (Reissner membranı), skala timpaniye bakan tarafında ise baziler membran oluşur.¹⁴

Korti organının gelişmesi bazalden apekse doğrudur. Korti organı koklear kanalın duvarındaki hücrelerden gelişir. 22. haftada iç titreşim tüylü hücreler (İTH), dış titreşim tüylü hücreler (DTH), destek hücreleri ve hensen hücreleri oluşur. Akustikofasyal ganglion, üst ve alt olarak iki parçaya ayrılır. Üstteki parçadan n.vestibularisin superior dalı, alttaki parçadan ise inferior dalı doğar. 8. kranial sinirin alt kısmı kalınlaşır ve koklear siniri meydana getirir.¹⁴

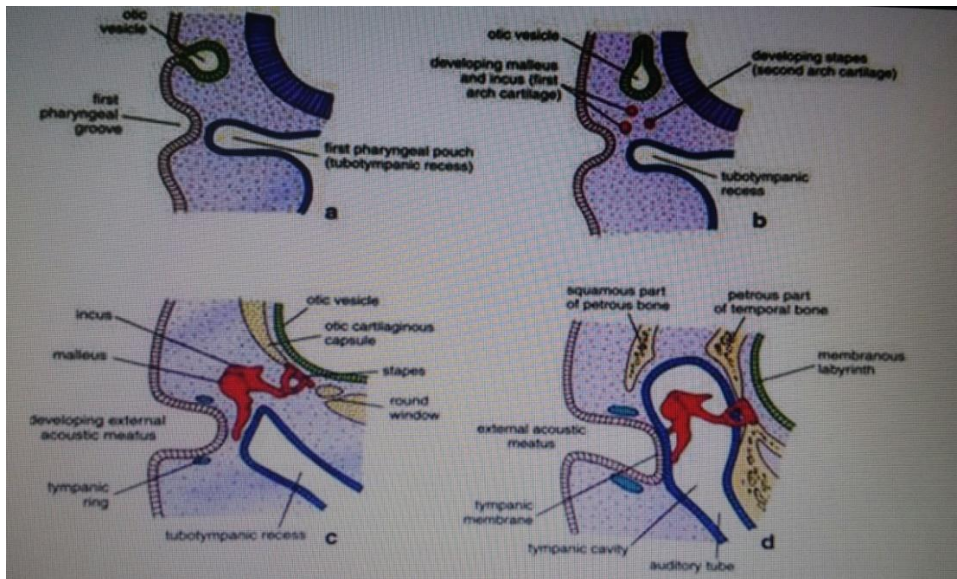
6. haftada otik vezikülün ventral kısmından koklear kanal gelişir. Aynı zamanda dorsal kısmından da iç kulağın denge fonksiyonundan sorumlu kısımlar gelişmeye başlar. Bu aşamada otokistin iç yüzeyinde endolenfatik duktus ortaya çıkar. 14 mm boyutundaki bir embriyoda (6. haftada) vestibüler parçada poşlar görülmeye başlar ve bu poşların periferik parçalarından yarım daire kanalları meydana gelir. 20 mm

boyutundaki bir embriyoda (7. haftada) vestibüler parça utrikül ve sakküle bölünür ve 30 mm boyutundaki bir embriyoda (8. haftada) artık erişkin iç kulak çaplarına erişilmiştir. 9. haftada vestibüler sistemdeki tüylü hücreler iyice şekillenmiştir ve sinir uçlarıyla sinapslar yaparlar.

Yarım daire kanalları 6. haftada gelişmeye başlar. 7. haftada kanalların ampullalarında zar labirentteki epitelden krista ampullaris oluşur. 11. haftada maküladaki duyuşal epitel ve destek hücreleri ayrılır ve otolitler oluşur. 22. haftada gelişme tamamlanır.

Makülalar 14. ile 16. haftalar arasında gelişir. Önce otik vezikülün iç yanı kalınlaşır ve ortak maküla oluşur. Daha sonra maküla iki parçaya bölünür. Üstte bulunan parçadan utrikulus ve üst ve horizontal kanalların makülaları, altta bulunan parçadan ise sakkülus ve posterior yarım daire kanalları meydana gelir. Membranöz labirentin geliştiği otik vezikülün etrafı başlangıçta mezenşimle çevrilidir. Mezenşim zamanla değişerek önce kıkırdak, sonra kemik labirenti (otik kapsül) yapar. Kemik labirent ve zar labirent arasında perilenfatik aralık oluşur.

Membranöz otik kapsül gelişmesini tamamladıktan sonra, otik kapsül kemikleşmeye başlar. Kemikleşme noktaları aynı anda ortaya çıkmaz. Otik kapsülün kemikleşmesi 6. ayın sonunda tamamlanır. Modiolusun gelişmesi otik kapsülden bağımsızdır. Kıkırdak modiolus koklear kanalın iç ucu çevresindeki mezenşimden gelişir ve çevrede oluşan otik kapsül kıkırdak ile birleşir. Kemik spiral lamina ise bazal turdan 23. haftada gelişmeye başlar.¹⁴

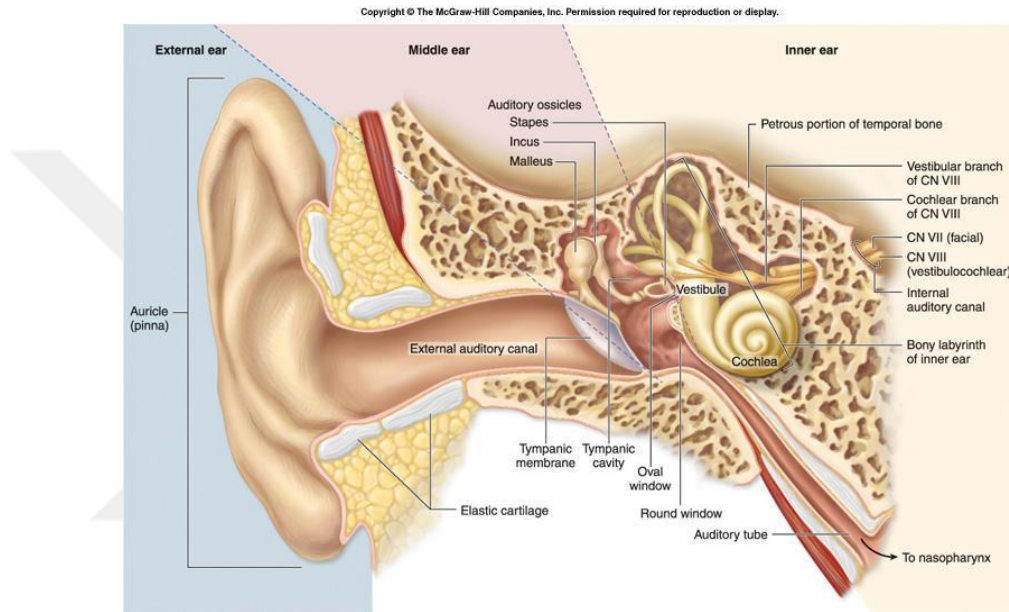


Şekil 1: Kulak embriyolojisi

2.2. Kulak Anatomisi

Kulak işitme ve denge fonksiyonlarının periferik organı olup, temporal kemik içine yerleşmiştir. Görev ve yapı bakımından birbirinden farklı üç parçadan meydana gelir.

1. Dış Kulak
2. Orta Kulak
3. İç Kulak



Şekil 2: Kulak yapılarının koronal kesiti

Dış Kulak

Dış kulak, kulak kepçesi (auriküla) ve dış kulak yolu kanalından (meatus akustikus eksternus) meydana gelir.

Kulak kepçesi kafanın her iki yanında, çene eklemi ile mastoid çıkıntı arasında yer alır. Deri ve perikondriumla çevrilmiş, elastik fibrokartilajdan oluşmuştur. İskeleti dış kulak yolu kıkırdağıyla devam eder. Kulak kepçesi kafaya auriküler bağlar ve kaslar ile tutunur. Kepçenin alt kısmında kıkırdak içermeyen lobül bölümü bulunur.

Kulak kepçesinin beslenmesi a. temporalis superficialis ve a. auricularis posterior tarafından sağlanır. Venler arterlere eşlik eder, pterygoid pleksus ve v. jugularis eksternaya dökülürler. Lenfatik akımı preauriküler, postauriküler ve infraauriküler lenf nodlarına olur. Kulak kepçesinin ön yüzünün duyarlılığını, V. kranial

sinirin n. aurikulotemporalis dalı sağlar. Diğer bölgeleri VII. kranial sinir ve 2-3. servikal sinirler inerve eder.^{14, 15}

Erişkinlerde dış kulak yolunun (DKY) uzunluğu kulak zarının oblik yerleşimi nedeniyle, arka üst duvarda 25 mm, ön alt duvarda 30 mm'dir. DKY'nun 1/3 dış kısmını kıkırdak, 2/3 iç kısmını kemik yapı oluşturur. Çocuklarda timpanik kemik parça gelişimini henüz tamamlamadığı için kıkırdak bölüm daha uzundur. Bu nedenle orta kulak enfeksiyonları kolaylıkla dış kulak yolu arka duvarına ve mastoid kemiğe geçebilir.¹⁶⁻¹⁸ DKY'nu örten deride ter, yağ ve serümen bezleri vardır. Kemik kısmı örten deri ise oldukça ince olup periostun üzerini örter ve bu kısım kıl, yağ ve serümen bezleri içermez. DKY nu örten deri kulak zarının dış yüzünü de örter fakat burada sadece epidermis tabakası bulunur, dermis bulunmaz.

DKY'nun beslenmesi. a. aurikularis posterior ve a. temporalis superficialis tarafından sağlanır. Venöz drenajı; v. maksillaris ve v. jugularis eksterna aracılığı ile plexus pterygoideus'a olur. Lenfatik akımı preauriküler, postauriküler ve infraauriküler lenf nodlarına olur. İnervasyonu V. kranial sinir tarafından sağlanır. Ayrıca VII, IX ve X. kranial sinirler ve üçüncü servikal sinir de dal verir. X. kranial sinirden gelen dala Arnold siniri denir ve DKY'nun temizlenmesi sırasında sinirin uyarılması öksürük refleksine neden olabilir.^{15, 19, 20}

Orta Kulak

Orta kulak boşluğu timpanik kavite ve timpanik antrumu içerir. Dış kulak yolundan timpanik membranla ayrılır. Östaki tüpü (ÖT) aracılığı ile nazofarenksle, aditus ad antrum aracılığı ile mastoid hücrelerle ilişki halindedir. Orta kulağın hacmi yaklaşık 2 cc'dir. Anteroposterior mesafesi yaklaşık 15 mm'dir. Orta kulak boşluğu doğumda tam olarak gelişmiştir, erişkin boyutundadır. Orta kulak boşluğunun 6 duvarı vardır.

1- Lateral (dış) duvar: Lateral duvarın büyük kısmını timpanik membran oluşturur. Timpanik membran, timpanik kemiğin sulkus timpanikusuna içine yerleşmiş, anulus timpanikus adlı fibröz halkayla çevrili hemitransparan bir zardır. Kalınlığı 0.1 mm'dir. Uzun eksen 9-10 mm, kısa eksen 8-9 mm uzunluğundadır. Dış yüzde DKY derisinin devamı olan kütenöz tabaka, iç yüzde orta kulak mukozasının devamı olan mukozal tabaka ve arada fibröz tabakadan oluşur. Etrafını çeviren fibröz halka üst kısımda bulunmaz. Geniş olan (7/8) alt bölüm gergindir ve pars tensa adını alır. Ses

dalgaları ile titreşen kısım burasıdır. Fibröz halka içermeyen üst bölüm ise (1/8) gevşektir ve pars flaksida (Schrapnell membranı) adını alır. Timpanik membranın ortasına yukarıdan aşağıya doğru malleusun uzun kolu yapışır. Timpanik membranın en çukur noktasına umbo denir.^{14, 15, 21}

Timpanik membran a. maksillaris interna'nın dalı olan a. aurikularis profundus ile beslenir. Membranın dış kısmı V, IX ve X. kranial sinirler tarafından, iç kısmı ise VII. ve IX. kranial sinirler tarafından inerve olur.¹⁵

2- Labirentin (iç) duvar: Kokleanın bazal kıvrımının orta kulaktaki kabartısı olan promontorium orta kulak boşluğunu iç kulaktan ayırır. Promontorium üzerinde oval pencere ve yuvarlak pencere nişleri bulunur. Oval pencere nişine stapes tabanı yerleşir. Yuvarlak pencere ise membrana timpani secundaria isimli zarla kaplıdır.

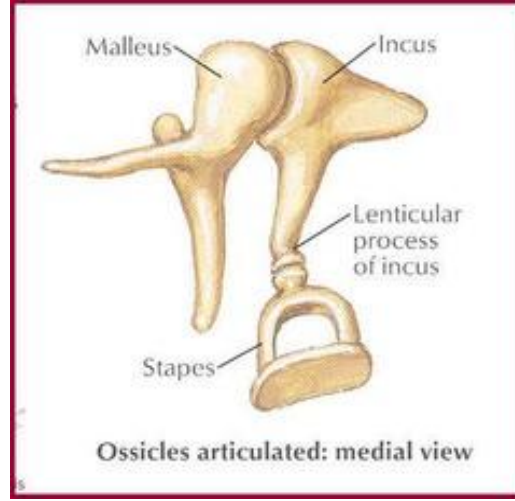
3- Tegmental (üst) duvar: Epitimpaniumun tavanını oluşturur ve orta kranial fossa ile komşudur.

4- Juguler (alt) duvar: Hipotimpaniumun tabanını oluşturur. İnternal juguler ven fossasıyla komşudur.

5- Karotid (ön) duvar: A.karotis interna ile komşudur. Üstte tensor timpani kasının yarı açık kanalı, altta östaki tüpünün timpanik ağzı bulunur.

6- Mastoid (arka) duvar: Mastoid ile ilişkilidir. Arka kısmında ayrıca stapes kasının ve tendonunun yapıştığı eminentia pyramidalis, fasyal sinirin ikinci parçasıyla çok yakın komşuluk gösterir ve hemen lateralinden korda timpani orta kulak boşluğuna girer. Eminentia pyramidalis ile sinüs timpani arasında recessus facialis vardır. Eminentia pyramidalis medialinde sinüs timpani bulunur. Recessus facialis'in arka üstünü sınırlayan fossa incudis içerisinde inkusun kısa kolu yer alır.

Orta kulak boşluğunda dış kulak yolundan gelen ses enerjisini kulak zarından oval pencere yoluyla iç kulağa ileten üç adet hareketli kemikçik vardır. Malleus, inkus ve stapes. Kemikçikler orta kulak boşluğunun üst-arka kısmına yerleşmiştir ve bu boşluğa bağlarla tutunurlar.¹⁴ Birbirleriyle sinovyal eklem yaparlar. Eklem yüzleri artiküler kartilaj ile kaplıdır.²²



Şekil 3: Malleus, inkus ve stapes.

Malleus kemikçikler içinde en dışta bulunan ve en büyük olandır. Manibrium mallei adı verilen kolu, inkus ile eklem yapan baş bölümü ve ikisinin arasında yerleşmiş kollum mallei adı verilen bölümlerden oluşur. M. tensor timpaninin tendonu malleus kollumuna tutunur ve bu kas kasıldığında kulak zarı içeri doğru çekilir.

İnkus, malleusla eklem yapan korpus, stapes ile eklem yapan krus longum ve krus breves bölümlerinden oluşur. Stapesle eklem yapan krus longumun ucundaki genişlemiş kısma prosessus lentikularis denir. İnkusun kısa kolu fasyal sinir kanalının yönünü işaret eder.²³

Stapes vücudun en küçük kemiğidir. Stapes başı inkusun uzun kolu ile eklem yapar. Krus anterior, krus posterior ve oval pencere nişine oturan taban (footplate, basis stapedis) bölümleri vardır. Stapes kas tendonu, eminentia pyramidalis'den çıkar ve stapesin boynuna veya başına yapışır. Stapes kası fasyal sinirin stapedia dalı tarafından innerve edilir ve kasıldığında yüksek şiddetteki seslerin iç kulağa geçişini engelleyerek koruyucu mekanizmaya yardımcı olur.¹⁵

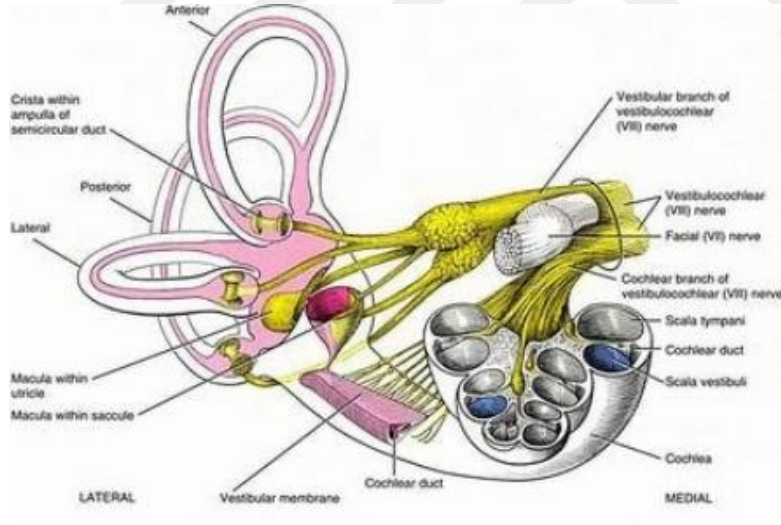
Östaki tüpü orta kulak ile nazofarenksi birbirine bağlar. Erişkinlerde yaklaşık 35 mm uzunluğunda, çocuklarda 17 mm uzunluğundadır. 1/3 lük orta kulak bölümü kemik, 2/3 lük nazofarenks bölümü kıkırdak yapıdadır. Timpanik ağzı orta kulak boşluğunun ön duvarına açılır. Farengeal ağzı ise nazofarenksteki Rosenmüller fossaya açılır. M.tensör veli palatininin kasılmasıyla yutkunma, esneme ve hapşırma esnasında östaki ağzı açılır.

Orta kulağın kanlanması hem internal hem de eksternal karotid arterden sağlanır. Kulak zarı, malleus, inkus ve kavitenin ön bölümüne a. maksillaris interna'nın dalı olan

a. timpanika anterior, arka bölgeye ve mastoid hava hücrelerine a. aurikularis posterior'un dalı olan a. stilomastoidea'dan gelir. İnternal karotid arterin bir dalı olan a. caroticotympanica ön duvarın, a. meningia media'dan ayrılan a. petrosus superficialis dalı ise fasyal sinirin ve genikülat ganglionun kanlanması sağlar. A. temporalis superficialis, a. stylomastoidea ile plexus oluşturarak inkudostapedial ekleme gider. Venöz drenajı; sinüs lateralis, bulbus jugulare, sinüs petrosus superior, plexus pterygoideus ve v. meningea media ile sağlanır. Sempatik ve duyu sinirleri n. glossofaringeus'un dalı n. timpanikus (Jacobson siniri) ve n. caroticotympanicus'tur. Lenfatik akımı, retrofarengeal lenf nodları ve parotis içindeki lenf nodlarına olur.^{20, 24}

İç Kulak

İç kulak, işitme ve dengeyle ilgili reseptörlerin bulunduğu kısımdır ve temporal kemiğin petröz parçasında yerleşmiştir.^{25, 26} Yuvarlak ve oval pencere yoluyla orta kulak ile bağlantılıdır. Koklear ve vestibüler akuaduktuslar yoluyla kafa içi yapılarla bağlantılıdır. Kemik (osseöz) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki bölümden oluşur.^{14, 27}



Şekil 4: İç kulak yapıları

Kemik (osseöz) labirent: Kemik labirenti otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik dokusu oluşturur. Zar labirent bunun içinde yer alır. Aralarında perilenf bulunur.^{19, 28}

Kemik labirent 5 kısımdan oluşur:

1. Vestibulum
2. Kemik semisirküler kanallar

3. Koklea

4. Akuaduktus vestibuli

5. Akuaduktus koklea

Vestibulum: Orta kulağın medial duvarı ile internal akustik kanalın fundusu arasında yerleşir. Boyu 6 mm, çapı 3 mm'dir. Üst ve arka duvarda semisirküler kanallarla birleşir. Dış yan duvarı yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla timpanik kaviteyle; ön duvarı kokleayla komşudur.

Kemik semisirküler kanallar: Süperior, posterior ve lateral olmak üzere üç semisirküler kanal bulunur. Klasik olarak birbirleriyle 90 derecelik açı yaparlar. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadardır ve vestibuluma açılırlar.^{19, 29}

Koklea: Vestibülün anteriorunda yerleşim gösterir. Şekli salyangoza benzeyen kemik bir tüptür. Erişkinde 2.5 dönüşlük bir sarmal yapar ve bu sarmalın toplam uzunluğu yaklaşık 42 mm'dir.³⁰ Modiolus denen spongios kemikten yapılmış bir eksen etrafında yerleşmiştir. Modiolus içindeki ince kanallardan koklear damarlar ve VIII. kranial sinirin lifleri geçer. Bu kanalcıkların hepsi modiolusun spiral şeklinden dolayı modiolusun spiral kanalı adı da verilen Rosenthall kanalına açılırlar. Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen Korti ganglionu bulunur. Kanalis spiralis koklea, modiolusun çevresini iki buçuk defa spiral olarak dolanan kemik bir yoldur. Bu yol, vestibülün ön alt kısmından başlar ve kupula denen kapalı bir uçla sonlanır. Lamina spiralis ossea, modiolustan uzanan kemik bir laminadır. Baziler membran adı verilen fibröz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak kanalis spiralis kokleayı ikiye böler. Vestibuluma açılan üst parçaya skala vestibuli, fenestra koklea aracılığıyla kavum timpaniye açılan alt parçaya skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema denilen delikle birleşir. Lamina spiralis ossea'nın serbest kenarı ile kanalis spiralis kokleanın dış yan duvarı arasındaki baziler membranın üzerinde, korti organı (organum spirale) adı verilen işitme organı bulunur.^{19, 29}

Akuaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlar. Petröz kemiğin fossa subarkuata isimli çukurunda sonlanır. Bu kanalın içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve sakkus endolenfatikus bulunur.^{19, 29, 31}

Akuaduktus koklea: Skala timpaniden başlayıp petröz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. Bu kanal içinde duktus perilenfatikus ve v. kanalikuli koklea vardır.^{19, 29, 31}

Zar (membranöz) labirent: Zar labirent kemik labirentin içinde aynı şekli alır ancak kemik labirenti tamamen doldurmaz. Onun sadece 1/3 'lük kısmını doldurur.

Zar labirent 7 kısımdan oluşur:

1. Utrikulus
2. Sakkulus
3. Duktus semisirkularis
4. Duktus endolenfatikus
5. Duktus perilenfatikus
6. Duktus koklearis
7. Korti organı

Utrikulus: Vestibulumun iç yan duvarındaki eliptikal resepte bulunur. İç yan duvarında makula utrikuli adı verilen kısımda denge hücreleri bulunur ve buradan n. utrikularis başlar. Utrikulusta duktus semisirkularis'lerin açıldığı beş ve duktus utrikulosakkularis'in açıldığı bir adet delik vardır.^{19, 29}

Sakkulus: Vestibulumun iç yan duvarındaki sferikal resepte bulunur. Bunun da iç yan duvarında makula sakkuli adı verilen kısımda denge hücreleri vardır ve buradan n. sakkularis başlar. Sakkulusta bir tane duktus utrikulosakularis'e ait, bir tane de sakkulusu duktus koklearis'e bağlayan duktus reuniense ait olmak üzere iki delik vardır.^{19, 29}

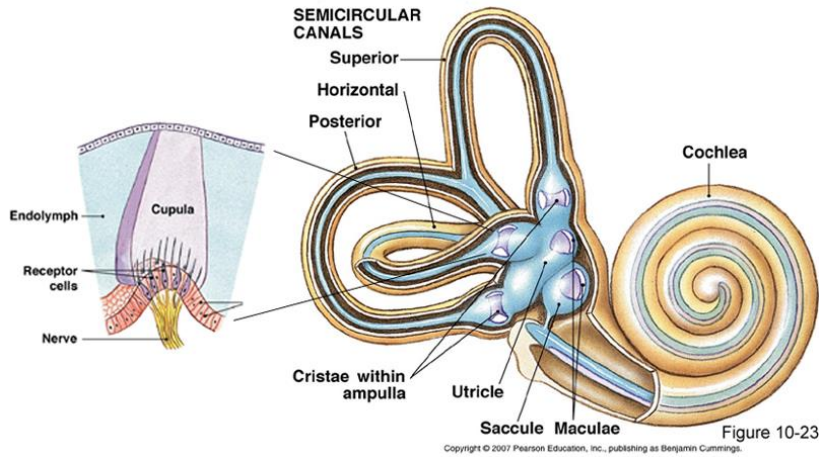
Duktus semisirkularis: Kemik semisirkuler kanalların içinde bulunur. Ancak kemik kanalların 1/5 kalınlığındadır. Diğer 4/5'lik kısım perilenfle doludur. Membranöz kanalların ampullaları içerisinde krista ampullaris isimli kabarık bölgelerde duyu epiteli mevcuttur. Buralardan n. ampullaris anterior, n. ampullaris posterior ve n. ampullaris lateralis başlar. Bu üç n. ampullaris, n. utrikularis ve n. sakkularis ile birleşerek n. vestibularis'i oluşturur.^{19, 29}

Duktus endolenfatikus: Duktus utrikulosakkularisten doğar. Akuaduktus vestibuli adlı kemik kanal içinde ilerler. Fossa subarkuata'daki sakkus endolenfatikus adlı şişlikte dura materin altında sonlanır.^{19, 29}

Duktus perilenfatikus: Akuaduktus koklea içinde bulunur ve skala timpani ile subaraknoid boşluğu birleştirir. İçinde perilenf bulunur.^{19, 29}

Duktus koklearis: İki ucu kapalı üç yüzlü bir boru şeklinde olan duktus koklearisin tepesinde bulunan kör ucuna çekum kupulare, taban kısmındaki kör ucuna ise çekum vestibulare denir. Çekum vestibulareye yakın bölümünden çıkan duktus reuniens aracılığıyla sakkulusa bağlanır. Duktus koklearis koklear kesitlerde üç duvarlı bir yapı olarak görülür. Reissner membranı (membrana vestibularis) duktus koklearisin üst duvarını oluşturur. Skala vestibuli ve skala mediyayı (duktus koklearis) birbirinden ayırır. Ligamentum spirale koklea ise duktus koklearisin dış duvarını oluşturur. Lamina bazillarisin tutunduğu yerdeki çıkıntılı kenarına krista bazillaris; hemen yukarısındaki oluğa sulkus spiralis eksternus; bu oluşumu yukarıdan sınırlayan çıkıntıya prominenta spiralis denir. Dış duvarın iç yüzünde stria vaskularis isimli damardan zengin tabaka vardır.

Korti organı (organum spirale): Duktus kokleanın içinde ve alt duvarını oluşturan lamina bazalisin iç üst bölümü üzerine oturur. Çekum kupulaya kadar uzanır.^{19, 29}



Şekil 5: Kemik ve membranöz labirent

Labirentin arter, genelde a. cerebelli anterior inferior'dan ayrılır ve labirenti besler. Labirentin arter, baziller arterden veya vertebral arterden de çıkabilir. İç kulak kanalına VIII. kranial sinirle beraber girer ve a. vestibularis anterior ve a. cochlearis

communis dallarına ayrılır. Bu dallardan, vestibülü ve kokleayı besleyecek olan a. vestibulocochlearis ve a. cochlearis dalları çıkar.³²⁻³⁴

Vestibulokoklear ve koklear arter, koklear kanalın lateral duvarında stria vaskülaris ve spiral laminada kapiller ağ oluşturarak sonlanır. Koklear arter apekse doğru ilerler ve spiral modiolar arter adını alır. Bu arter bir end arterdir ve obstrüksiyonları sağlırlığa yol açabilmesinden dolayı önemlidir.³² Spiral modiolar arterden arterioller ayrılarak kapiller dallar verirler ve kokleanın beslenmesini sağlarlar.

Kokleada damar sistemi, segmental düzene sahiptir. Spiral kapiller sistem, sarmal yapısı nedeni ile anastomozlara olanak sağlar. Özellikle bazal kıvrımda anastomozlar sıktır ve kapiller alana geçebilecek şantlar mevcuttur.³³

İç kulağın venöz dönüşü v. labirentika ile olur. Bu da sinüs petrosus superior ve inferior, sinüs transversus ve v. jugularis interna'ya dökülür. Lenfatik sistem endolenf ve perilenf olarak kabul edilir ve beyin omurilik sıvısına dökülür.^{29, 35}

Bipolar afferent sinirlerin hücre gövdeleri Rosenthal kanalındaki spiral ganglionu oluşturur. 2 tip nöron vardır. Tip 1 nöronlar myelinlidir, tüm nöronların % 95'ini oluşturur ve iç tüylü hücrelere dağılırlar. Tip 2 nöronlar myelinsizdir, toplamın %5'ini oluşturur ve dış tüylü hücrelere dağılırlar. Lifler kendi myelinlerini kaybettikleri yer olan habenula perforata yoluyla korti organına geçerler. DTH için olan lifler, Deiters hücreleri arasındaki üç grup içerisinde olan spiral ve baziler membran boyunca kortinin tüneline girerler. Terminal dallar spiral liflerden kaynaklanırlar ve çok sayıda dış tüylü hücrelerini inerve ederler. Bunun tersine her bir iç tüylü hücresi çok sayıda tip 1 lifler ile inerve edilirler. Tüm sinir sonlanmaları kadeh şeklinde ve vezikülsüzdür. Granülsüz sonları ile birlikte bu afferent liflere ilaveten granüle olmuş birçok sonlanımlar hem dış tüylü hücreleri ile hem de afferent liflerin terminal sonlanımları ile kontakt yapacak şekilde gözlenmiştir. Bu granüle olmuş sonlar Rasmussen'nin olivokoklear demetindeki beyin kökünden kaynaklanan efferent liflerdir. Hücre gövdeleri süperior olivary kompleks içerisinde yerleşmiştir. Lifler inferior vestibuler sinir ile birlikte ilk olarak beyin kökünde ilerler fakat vestibulokoklear anastamoz şeklinde kokleaya girerler. İntraganglionik spiral demetlerde lifler, internal spinal demetler ile iç tüylü hücreleri inerve eden afferent liflere dağılırlar. Alternatif olarak lifler korti tüneline ortasından geçerler ve iç tüylü hücrelerin gövdelerine dağılırlar. Bu liflerin baskılayıcı olduğu sanılır.³⁶

2.3- İç Kulak Histolojisi

Kokleanın en önemli ve duyuşal reseptör hücrelerinin lokalize olduğu yer olan duktus koklearis şu bölümlere ayrılır.

Reissner membranı: Skala vestibuli ve skala mediayı birbirinden ayıran birer sıra hücre arasına yerleşmiş ince bir bazal laminadan yapılmıştır. Endolenfe bakan hücreler küboid yapıdadır ve apikal mikrovilluslar içerirler. Perilenfe bakan hücreler ise gevşek biçimde birbirlerine bağıdır ve skuamöz bir yapıya sahiptir.

Lateral duvar: Duktus koklearisin yan ve dış duvarını yapar. En dışta çoğunluğu tip 1 fibroblast benzeri hücrelerden oluşmuş spiral ligament bulunur. Spiral ligamentin iç tarafında ise çok katlı yassı epitelden stria vaskülaris bulunur. Stria vaskülaris endolenfteki yüksek potasyum, düşük sodyum iyon potansiyelini sağlayan marjinal hücreler, fagositoz yeteneği olan intermediate hücreler, epitel ve endotelin bazal membranının birleşmesinden oluşan ve molekül geçişine izin vermeyen bazal hücrelerden oluşur. Stria vaskülaris ile bazal membran arasında iyon ileten enzimler içeren çok sayıdaki tip 2 fibroblasttan oluşmuş spiral prominens bulunur.

Baziler Membran: Bağ dokusundan oluşmuş bir membrandır. Membran boyunca genişlik bazalden apikale doğru artar. Baziler membran hareketlerinin frekansa özel olması, frekans analizi ve ses şiddetinin alınabilmesi bu özellik sayesinde olmaktadır. Baziler membranın dış tarafında endolenfle temas eden kübik küçük mikrovilluslu hücrelerden oluşan ve büyük moleküllerin geçişine izin vermeyen Cladius hücreleri bulunur. Cladius hücrelerinin taban kısmı ile baziler membran arasına yerleşmiş, tek katlı küboid hücrelerden oluşan, fibronektin üreten ve karbonik anhidraz içerdüğinden dolayı iyon ve sıvı trasportunda etkili olan Boettcher hücreleri bulunur.³⁴

Korti organı: Baziler membran ve perilenfteki mekanik titreşimleri sinir liflerini uyaran elektrik akımlarına dönüştürür. Korti organı baziler membran, üzerine dayanmış destek hücreleri, spiral şeklinde dizilmiş duyuşal hücreler ve bunların üzerini örten tektorial membrandan meydana gelir.

1. Destek Hücreleri

Hensen hücreleri: Korti organının yan sınırını yapar. Koklea apeksine doğru uzunlukları artar. Çekirdekleri sitoplazmanın üst kısmında bulunur. Birkaç dizi halindedirler. Hensen hücreleri ile dış titreşim tüylü hücreler arasında dış korti tüneli bulunur.^{14, 34}

Deiters hücreleri: Dış tüylü hücrelerin destek hücreleridir. Baziler membrana bağlıdır. Dış titrekle tüylü hücrelerin çevresini sararlar. Sadece tabanda açıklık vardır ve buradan sinir lifleri dış titrekle tüylü hücrelere ulaşır. Dış titrekle tüylü hücreler ve Deiters hücreleri parmaklı çıkıntılarla retiküler membranın oluşmasına katkıda bulunurlar.

Sütun hücreleri (pillar hücreler): Dış ve iç olmak üzere iki tip pillar hücre vardır. Retiküler laminanın bazı kısımları ile korti tünelinin oluşmasına katkıda bulunurlar. Destek hücrelerinin tabanları geniş ve çekirdekleri yuvarlaktır. Aktin filamanlar ve mikrotübüllerden oluşurlar. Hücrelerin apikal uzantısı dikdörtgen biçiminde sonlanır ve retiküler laminanın oluşmasına yardım eder. Ayrıca iç korti tünelinin oluşmasında katkıları vardır. Pillar hücrelerin parmaklı çıkıntıları, hem dış titrekle tüylerin ve hem de iç titrekle tüylü hücrelerin yan sınırlarını yapar.

İç sınır ve falangeal (parmaklı) hücreler: İç titrekle tüylü hücrelerle iç sulkus hücrelerini birbirinden ayırır. İç sınır hücreleri korti organının en medial kenarını yaparlar ve membrana tectoria hücreleri ile devam ederler. İç falangeal hücreler, dış tarafta dış titrekle tüylü hücreleri birbirinden ayırırken iç tarafta iç titrekle tüylü hücrelerle iç sulkus hücrelerinin arasına yerleşir. Tabanda iç falangeal hücreler, iç titrekle tüylü hücrelerle birlikte myelinsiz sinir liflerini çevrelerler.

2. Duyusal Hücreler

Stereosilia: Bunlara sensöriyal hücreler de denmektedir. İç ve dış tüylü hücreler, hücre iletimi için önemli olan apikal stereosiliya sahiptirler. Uzunlukları tabandan tepeye doğru ve içten dışa doğru artar. İç tüylü hücre stereosiliyası dış tüylü hücre stereosiliyasından iki kat daha kalındır. Stereosiliyası gerçek silia olmayıp tüylü hücrelerin kütiküler tabakasından uzanan uzun ve sert mikrovilluslardır. Stereosilialar yatay ve dikey bağlantılarla birbirlerine bağlanmıştır. Stereosiliaların rijit yapısı, içindeki polarize aktin filamentlerinin aksiyel olarak bulunmasına bağlıdır. Olgun koklear tüylü hücreler, vestibüler tüylü hücrelerin aksine kinosilium içermezler. Dış tüylü hücrelerin stereosiliaları “V” veya “W” şeklinde dizilmiştir. Tüylü hücrelerin apikal yüzeylerinde altı ya da yedi stereosilia tabakası bulunur.

Dış titrekle tüylü hücreler: Kortik organı içinde, apikal ya da bazal uçlardan Deiters hücrelerine ve bunların parmaklı çıkıntılarına bağlanır. İnsanda ortalama 12000 dış tüylü hücre vardır. Dış tüylü hücreler retiküler lamina içinde medialden laterale

doğru dizilmişlerdir. Hücre uzunluğu apekse doğru artar ve 14 mikrondan 55 mikrona ulaşır. Tüy hücrelerinin apikal yüzündeki parmaklı uzantılara stereosilia denir. En uzun dış tüylü hücrenin stereosiliası, tektorial membranın alt yüzüne bağlanır. İç plazma membranı boyunca Hensen cisimcikleri içeren yüzey altı sisternalar vardır. Bu sisternaların dış tüy hücrelerinin hareketleriyle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Deiters hücrelerinin uzantıları dış tüy hücrelerinin dış ve yan tarafına bağlanır. Dış tüy hücrelerinin taban sonlarında, birkaç küçük afferent sinir ucu ve 10 adet geniş vezikül dolu efferent sinir ucu vardır.

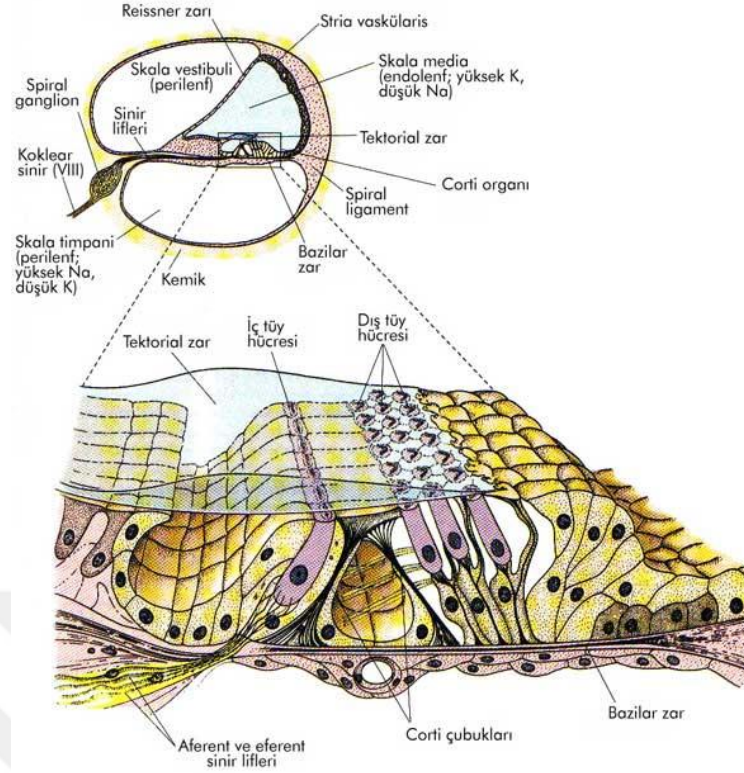
İç titreşim tüylü hücreler: Vestibüler saçlı hücrelere benzerler. Bu hücreler destek hücrelerinin sıkıca sardığı yassı görünümlü tek tabaka oluştururlar. İç tüylü hücrelerin taban kısmında birçok sinaptik sinir sonlanması görülür.

3. İç Sulkus: Dış kenarında spiral limbus, iç kenarında korti organı ve yukarıda tektorial membran ile sınırlı üstü açık spiral bir kanaldır. İç sulkus hücreleri Cladius hücrelerine benzerler. Hücrelerin üst yüzeylerinde mikrovilliler vardır ve hücre arası flamanları ile birbirlerine sıkıca bağlanmıştır.

4. Spiral Limbus: Kemik spiral laminanın iç kenarında bulunan damarsal konnektif doku tabakasıdır. En iç kenarına Reissner membranı tutunur. Dış kenarını, iç sulkus hücrelerinin yaptığı Huschke dişi diye adlandırılan sivri bir çıkıntı oluşturur. Spiral limbusun endolenfatik yüzü tektorial membranın limbal bölümü diye adlandırılan ince ekstrasellüler matriksle örtülüdür. Spiral limbus; bağ dokusu fibroblast benzeri hücreler, damarsal elementler ve ekstrasellüler filamentler içerir.

5. Tektorial Membran: Spiral limbus, iç sulkus ve korti organının üzerini örten hücresiz, ekstrasellüler bir matrikstir. Temelde fibröz materyalden yapılmış ve endolenfle ıslanmış görülür. Limbal tabaka, fibröz matriks, marjinal bant, ağsı örtü, Hensen çubuğu ve Hardesty membranı olmak üzere 6 bölüme ayrılır. Tektorial membran korti organı seviyesinde dış tüylü hücreleri örter.

6. Kemiksi spiral lamina: Modiolustan baziler membranın iç kenarına kadar uzanan ince, spiral bir kemik tabakadır. Spiral laminanın içi korti organına giriş çıkış yapabilen sinir liflerinin myelinizasyonlarını kaybedip korti organına girdikleri yerdeki habenulae perforata denilen kanallarla delinir.



Şekil 6: Korti organı

2.4. İç Kulak Fizyolojisi

İç kulak sıvıları perilenf, endolenf ve kortilenf olmak üzere üçe ayrılır. Perilenf beyin omurilik sıvısından kaynaklanmaktadır. Kimyasal olarak ekstrasellüler sıvıya benzer. Sodyumdan zengin (Na^+ 140mEq/L), potasyumdan fakirdir. (K^+ 5,5-6,25mEq/L). Endolenf stria vaskulariste yapılır. Endolenf, perilenfin aksine potasyumdan zengin (K^+ 140160mEq/L), sodyumdan fakirdir. (Na^+ 12-16 mEq/L).

Kortilenf korti tüneli ve Nuel boşluklarında bulunur. Beyin omurilik sıvısından kemiksi spiral laminanın kanalcıkları içinde seyreden akustik sinirin lifleri boyunca gelir. Endolenfin yüksek potasyum (K^+) içeriği nöral iletiyi engelleyeceği için korti tünelinin içinden geçen dış tüylü hücrelerin lifleri kimyasal olarak perilenfe benzeyen kortilenf ile sarılmıştır.^{37, 38}

2.5. Santral İşitme Yolları

8. kraniyal sinir birkaç daldan oluşur. Bu dallar superior vestibüler sinir, sakküler sinir, inferior vestibüler sinir ve koklear sinirdir. Bu sinirler otik kapsülü geçerek iç kulağa girerler ve buradan n. facialis ve n. intermedius ile birlikte seyrederler.

Koklear çekirdekler: Koklear çekirdekler tüm işitme sinir lifleri için ilk konaktır. Çekirdekler pontomedüller kavşakta bulunur ve simetriktir. Superior olivary kompleks, ponsun gri cevherinin hemen arkasında ve ponsun alt kısmında yerleşmiştir.

Lateral lemniskus: En önemli çıkan yoldur. Beyin sapının yan tarafında bulunur. Koklear çekirdekler superior olivary kompleksi inferior kollikulusa bağlar.

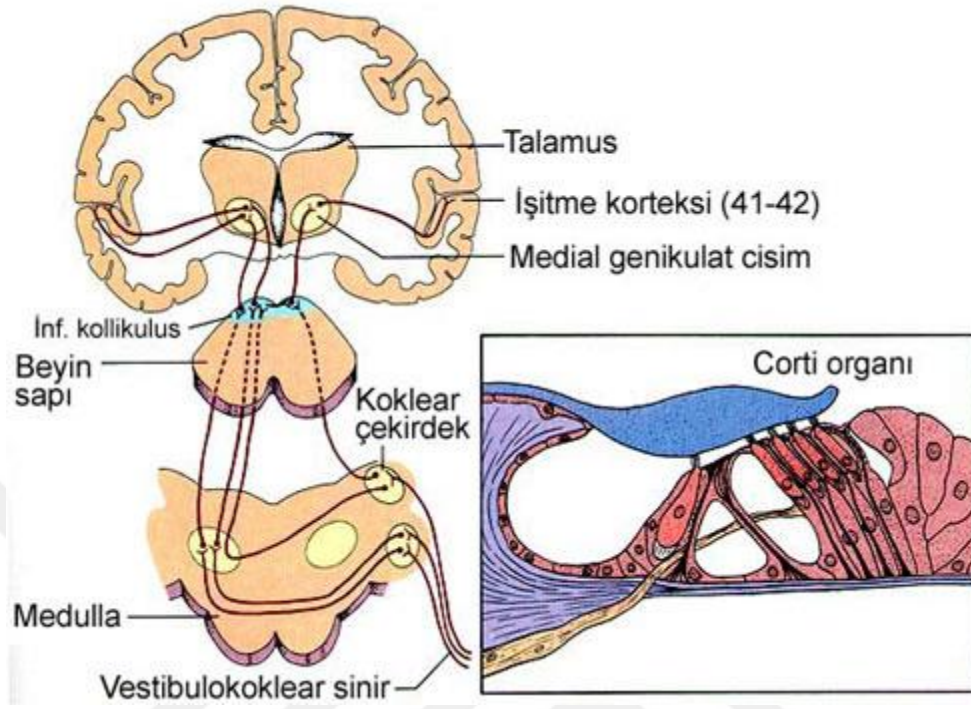
İnferior kollikulus: İki taraflıdır ve mezensefalonda bulunur. Beyin sapının tavanının bir kısmını yapar. Çıkan işitme lifleri için başlıca konaktır ve akustik bilgileri hazırlar. Alt beyin sapından gelenleri üst kısımdaki medial genikulat cisme ve işitme korteksine gönderir.

Medial genikulat cisim: Talamusta bulunur. İnferior kollikulus ile işitme korteksi arasında bir ara duraktır.

İşitme Korteksi: Primer işitme korteksi ve ilişkili sahalar olmak üzere iki kısma ayrılır. İlişkili sahalar hem akustik hem de diğer duysal girdileri alır. Primer işitme korteksi temporal lobun üst kısmında yerleşmiştir. Brodmann sahası adını alır ve 41-42 olarak numaralandırılmıştır. Spesifik ve nonspesifik ilişkili sahalar ile çevrelenmiştir.¹⁴

Korti organında oluşan uyarılar ganglion spiraledeki sinir hücrelerinin dendritleri tarafından algılanır. Bu sinir hücrelerinin aksonları n.cochlearis adını alarak uyarıları ponsdaki koklear çekirdeklere ulaştırır. Koklear nukleuslar, ventral nukleus ve dorsal nukleus olmak üzere iki gruba ayrılır. Ventral nukleuslar da, anteroventral koklear nukleus ve posterolateral koklear nukleus olmak üzere ikiye ayrılır. Koklear nukleuslardan çıkan nöronlar işitme yollarının ikinci nöronunu oluşturur. Bunların çoğu çapraz yaparak karşı taraf superior olivary kompleksine giderler ve az sayıda lif ise ipsilateral superior olivary komplekse ulaşır. Superior olivary kompleks, işitme yolunun ilk merkezidir. Buradan kalkan lifler lateral lemniskusu oluşturarak inferior kollikulusa giderler. Alt beyin sapından gelen uyarıları üst kısımdaki medial genikulat cisme ve işitme korteksine gönderir. İçinde 18 belli başlı hücre tipi ve işitme bakımından özel görevi olan 5 ayrı bölge vardır. Bu bölgenin işitme davranışları ile ilgili olduğu düşünülür. Frekans ve şiddetin birbirinden ayrılması, gürültü ve stereo işitme gibi fonksiyonlarda görev yaptığı düşünülmektedir. Bu bakımdan inferior kollikulusun, işitsel uyarı için bir ara konak olmaktan çok daha önemli merkez olduğu kabul edilmektedir. İnferior kollikulustan kalkan lifler talamusta bulunan medial genikulat

cisme, oradan da işitme korteksine giderler. İşitme korteksi, temporal lobda Sylvian yarığındadır.¹⁴



Şekil 7: Santral işitme yolları

2.6. İşitme Fizyolojisi

Diğer canlılardan farklı olarak insan konuşabilen, anlayabilen ve konuştuğu dili öğrenebilen bir varlıktır. Bu nedenle gelişmiş bir işitme mekanizmasına sahip olması gerekmektedir.

Kulak akustik bilgiyi alıp kodlar ve akustik sinir aracılığıyla sinapslar yaparak santral sinir sistemine gönderir. Bu impulsalar serebral kortekste sesin frekansı, şiddeti ve lokalizasyonu açısından değerlendirilir.

Ses, bir enerji kaynağından yayılan titreşimlerin etkisi sonucu gaz, sıvı ve katı ortamlarda moleküllerin sıkışıp gevşemesi ile ortaya çıkan bir enerjidir. Bu sıkışma ve gevşemeler ortama yayılarak ses dalgalarını oluştururlar. Ses boşlukta iletilmez. Sesin iletimi için en uygun ortam havadır. Su da çok iyi bir iletkenidir. Suda yaşayan canlıların da gelişmiş işitme sistemleri vardır.

Ses dalgasının en basit şeklinin sabit bir yüksekliği (amplitüd) ve tek bir frekansı vardır. Bu dalgaya sinüs dalgası denir.

Sesin frekansı saniyede oluşan siklus sayısıdır ve Hertz (Hz) olarak tanımlanır. Frekans arttıkça ses tizleşir, frekans düştükçe ses pesleşir. İnsan kulağı 20-20000 Hz arasındaki frekanslardaki sesleri işitir. 20 Hz'den düşük olan seslere subsonik sesler, 20000 Hz'den yüksek olan seslere de ultrasonik sesler denir. Konuşma frekansları 500-2000 Hz arasındadır.

Sesin şiddet birimi ise desibeldir (dB). Normal bir insanın kulağı 0-120 dB arasındaki şiddetteki sesleri duyabilir. En rahat dinlediği ses şiddeti ise 50-70 dB arasındadır.

İşitme birbirini izleyen 4 fazda gerçekleşir.

A) İletim fazı: İşitmenin olabilmesi için önce ses dalgalarının atmosferden dış ve orta kulak aracılığı ile korti organına iletilmesi gerekir. Bu mekanik olay sesin kendi enerjisi ile sağlanır. Aurikula ses dalgalarının toplanmasında, dış kulak yolu da bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde görev alır.³⁶

Sesin atmosferden korti organına iletilmesinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici ve şiddetlendirici etkileri vardır. Ses dalgaları başa çarpınca yansır ya da kırılır. Sesin geliş yönüne göre, ses dalgalarının çarptığı kulak tarafında ses dalgalarının basıncı artar, karşı taraftaki kulak bölgesinde basınç düşer. Sesin iki kulağa ulaşması arasında 0.6 m/sn bir fark oluşur. Böylece sesin geliş yönü ayırt edilebilir.

Orta kulak, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarının iç kulaktaki sıvı ortama iletilmesini sağlar. Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken direnci düşük olan gaz ortamdan direnci daha yüksek olan sıvı ortama geçmiş olur ve ortalama 30 dB enerji kaybına uğrar. Orta kulak, bu enerji kaybını önlemek amacı ile empedans (direnc) denkleştirme görevi üstlenir.^{32, 39} Orta kulağın ses yükseltici etkisinde üç mekanizma rol oynar.

1. Kulak zarının işitmede rol oynayan pars tensa kısmı, hem kemik anulus içine sıkıca yerleşmiştir hem de manubrium malleiye sıkıca yapışıktır. Kulak zarı kemiğe sıkı bir şekilde yapıştığı için anulus titreşemez. İnce olan orta kısım titreşir ve titreşim enerjisi manubrium malleide yoğunlaşır. Bu şekilde ses enerjisi iki katına çıkar.

2. Kemikçikler bir kaldıraç gibi etki eder. Bu kaldıraçta, manubrium mallei ve inkusun uzun kolu kaldıracın kollarını, malleus başı da destek noktasını oluşturur. Ses dalgası ile inkudomalleolar kompleks tek bir ünite gibi hareket eder. Bu şekilde kulak

zarını titreştiren ve manubrium üzerinde yoğunlaşan ses enerjisi inkudomalleolar kompleks aracılığıyla stapesin başına 1.3 kat güçlenerek ulaşır.

3. Kulak zarı ve stapes tabanındaki titreşim alanları arasındaki oran yaklaşık olarak 18/1dir. Kulak zarının en periferik bölgelerinin titreşmediği düşünülürse efektif oran 14/1dir. Ses, kulak zarı ile stapes tabanlarının birbirine oranı ile orantılı olarak 14 kat güçlenerek iç kulağa geçer.^{32, 39, 40}

B) Dönüşüm fazı: İç kulakta frekansların periferik analizi yapılır ve korti organında ses enerjisi biyokimyasal olaylarla sinir enerjisi haline dönüştürülür.³⁹

1960 yılında Von Bekesy tarafından kobaylarda stroboskopik aydınlatma ile ses dalgalarının baziler membranda meydana getirdiği değişiklikler araştırılmıştır. Ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziler membranda titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy bu harekete ilerleyen dalga “travelling wave” adını vermiştir. Bazal membran bazal turda dar (0.12 mm), apikal turda daha geniştir (0.5 mm). Bazal turda baziler membran gergindir ve baziler membran genişliği arttıkça gerginlik azalır. Bu fark nedeniyle ses dalgası, bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile iletilmiş olur. Bekesy baziler membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığını da göstermiştir.

Baziler membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslarda bazal membran amplitüdüleri bazal turda en yüksektir. Buna karşılık alçak frekanslarda bazal membran amplitüdüleri apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır.

Kokleada yaklaşık 3500 iç titreşim tüylü hücre ve 12000 dış titreşim tüylü hücre bulunmaktadır. Bu hücreler ses enerjisinin yani mekanik enerjinin, sinir enerjisine dönüşümünde rol alırlar. En uzun dış tüylü hücre stereosiliyası tektorial membranın alt yüzüne bağlanır. Daha kısa silialar ve iç tüylü hücre stereosiliyası tektorial membranın alt yüzüne bağlı olmadığı düşünülmektedir. Bazal membrandaki yer değişimi, tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki DTH'lerini bükerek hareketlendirir. Tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki sıvı kayma hareketi İTH'lerini hareketlendirir. Böylece İTH hız, DTH yer değiştirme algılayıcısı olarak görev görür. Her tüylü hücrenin titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır. Bu durum baziler membran amplitüdüleri için de geçerlidir.^{35, 41, 42}

Kokleada 4 tür elektrik potansiyeli vardır.

1. Endokoklear potansiyel: Stria vaskularis tarafından oluşturulur. Anoksiye ve oksidatif metabolizmayı bozan kimyasal ajanlara aşırı duyarlı olduğu için, varlığı stria vaskularisin aktif iyon pompalama sürecine bağlıdır. Ortalama +80 mV'luk bir değere sahiptir ve istirahat halinde dahi mevcuttur. Ses dalgasından bağımsız bir enerjidir.

2. Koklear mikrofoni: Büyük ölçüde DTH ve bunların meydana getirdiği K⁺ iyonu akımına bağlıdır. Baziler membran hareketleri ve ses uyaranları ile direkt ilişkilidir. DTH harabiyetinde kaybolur.

3. Sumasyon potansiyeli: İTH içindeki elektriksel potansiyelin yönlendirdiği bir akımdır. Ses uyaranına, frekansına ve şiddetine göre değişir.

4. Tam sinir aksiyon potansiyeli: Bu potansiyel işitme siniri tarafından oluşturulmaktadır.

C) Sinir şifresi fazı: İç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriksel akım, kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre korti organında kodlanmış olur. İnsanlarda işitme siniri 30000 liften yapılmıştır. Bu liflerin % 90-95'i miyelinli, bipolar ve İTH'de sonlanan tip I nöron şeklindedir. Buna karşılık % 5-10'u miyelinsiz, unipolar ve DTH'de sonlanan tip II nöron şeklindedir. Tıpkı tüylü hücrelerde olduğu gibi her sinir lifinin duyarlı olduğu bir frekans vardır.

D) Algı birleştirme fazı: Tek tek gelen bu sinir iletimleri, işitme merkezinde birleştirilir ve sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale getirilir.⁴³

Spiral gangliondaki sinir hücrelerinin aksonları n. koklearis adını alarak pontstaki koklear nükleuslara ulaşırlar. Koklear nükleuslar, ventral ve dorsal olmak üzere iki gruptur. Düşük frekanslı seslerle oluşan uyarı ventral nükleusta, yüksek frekanslı seslerle oluşan uyarı dorsal nükleusta sonlanır. Bu liflerin çoğu beyin sapının karşı tarafına geçerek superior olivary komplekse katılırlar. Lifler buradan lateral lemniskus ve inferior kollikulus'a giderler. Inferior kollikulustan çıkan lifler medial genikulat nükleus aracılığı ile temporal loptaki Sylvian fissürüne yerleşmiş işitme merkezine gelirler.^{36, 39}

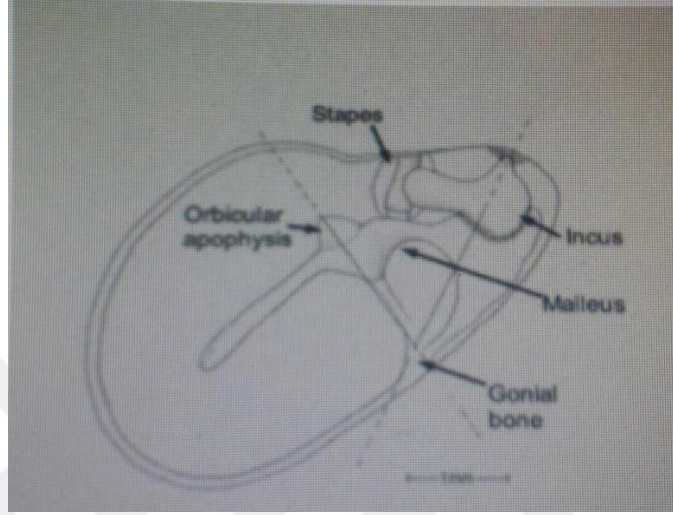
2.7. Sıçan Kulağı Anatomisi

Sıçan orta kulağı insan orta kulağındaki anatomik yapıların tamamını içerir. Sıçandaki kemikçikler insandakilere göre çok daha küçük olup yaklaşık çeyrek

boyutundadır.⁴³ Sıçan orta kulak morfolojisi, Fleischer tarafından 1978’de tanımlanmıştır. Bu dizaynın iki farklı özelliği vardır:

1- Malleus, gonial bone bölgesinde timpanik anulusa yapışıktır.

2- Malleus başı üzerinde orbiküler apofiz olarak adlandırılan geniş bir kütle bulunur.



Şekil 8: Sıçan orta kulağı. Lateralden, timpanik membran kaldırılmış halde.

İnsanlarda, timpanik membranın yüzey alanı yaklaşık 66 mm²’dir. Ancak sıçanlarda bu alan yalnızca 11 mm² civarındadır.⁴⁴ Pars tensa ve pars flaksidanın rölatif boyutları tamamen farklıdır. İnsanlar, timpanik membranın total boyutuna oranla çok küçük bir pars flaksidaya sahiptir, ancak sıçanlarda pars flaksida timpanik membranın 1/4 ila 1/3’ünü oluşturur.

Sıçan orta kulağının genellikle kapalı olan, horizontale yakın pozisyonda östaki tüpü vardır. ÖT mukozası bolca goblet hücresi, daha az miktarda da müköz gland içerir.⁴⁵ Sıçan ÖT açılma basıncı insandakine benzerdir.⁴⁶ ÖT silyalı ve sekretuar iki kanal yoluyla epitimpaniuma bağlıdır. Sıçan ve insan mukozası mukosilyer transport sistemi benzerlik gösterir.⁴⁷ Sıçan orta kulağı temporal kemikte yerleşmiş ve iyi korunmuştur. Ancak timpanik membran muayenesi sıradan bir otomikroskop ile kolayca yapılabilir. Sıçan orta kulağının üç boyutlu yapısı insaninkine benzer. Fakat mastoid hücreler yerine kavite tabanından çıkıntı yapan timpanik bulla mevcuttur.^{48, 49} Pars tensa ve geniş pars flaksidası ile timpanik membran, lateral duvarın tama yakınını oluşturur. Medial duvarda promontoryum, yuvarlak pencere, stapes ile birlikte oval pencere ve ÖT’nün timpanik ağzı bulunur. Silyalı ve sekretuar iki kanal dışında

timpanik kavite, basit, skuamöz-küboidal, silyasız epitelle kaplıdır. Patolojik durumlarda bu basit epitel değişip, silyalı ve sekretuar hücreler kanallar dışında yüksek sayıda görülür.

İnsanlarda, malleus-inkus genellikle, en azından düşük frekanslarda, iki asıcı ligaman doğrultusunda olan rotasyonel aksa sahiptir. Bu asıcı ligamanlar; anterior malleolar ve posterior inkudal ligamanlardır. Fleischer'a göre, mikrotip kulakta, malleusun timpanik anulusa belirgin fiksasyonuna rağmen kompleks halde rotasyon yapabilir. Bu ilişki ve inkus kısa kolunun bağlantısı insandakine benzer rotasyonel aks oluşturur. Sıçanlar ile insanlar arasındaki farklardan biri, sıçanlarda manubriumun, rotasyon aksına paralele yakın yerleşmesidir. Fleischer, genişletilmiş model üzerinde yaptığı çalışmalarda orbiküler apofizin meydana getirdiği ek kitlenin, malleus-inkus kompleksinin yerini değiştirdiğini bulmuştur. Bu da yüksek frekanslarda malleusun transvers bölümü doğrultusunda ikinci bir rotasyon aksı oluşturmaktadır. Sonuçta, mikrotip kulakların iki tane rotasyon aksı olduğu ve malleusların iki adet net olarak tanımlanmış vibrasyon modu olduğu düşünülmüştür.

Denge organı: Sıçanlarda da denge organı osseoz labirentle çevrelenmiş membranöz labirenti içerir. Anterior semisirküler labirentin dorsolaterali gösteren verteksi 7.0 mm uzunluğunda (crus commune 1.3 mm) ve 0.21 mm genişliğindedir. Ampullası 0.83 mm uzunluğunda, 0.61 mm genişliğindedir. Kanal sagittal düzlemde 27.2°, transvers düzlemde 52.7° açı yapmaktadır. Kanalı laterale yönelen posterior semisirküler kanalın verteksi 6.0 mm uzunluğunda ve 0.22 mm genişliğindedir. Ampullası 0.83 mm uzunluğunda ve 0.6 mm genişliğindedir. Krista ampullarisin serbest kenarı kaudodorsal yönündedir. Kanalin düzlemi sagittal düzlemde 27.6° ve transvers düzlemle, 60.7° açı yapar.

Lateral semisirküler kanal laterale kıvrılır; uzunluğu 6.1 mm, genişliği 0.22 mm'dir. Ampullası 0.79 mm uzunluğunda, 0.55 mm genişliğindedir. Cristanın serbest kenarı kaudale yönelir. Horizontal düzlemle (oksipital kemiğin pars horizontalisi) kanal 28.4° açı yapar. Lateral semisirküler kanalın nonampuller ucu iletişimi sağlamak için posterior kanalın ampuller ucuna ulaşır ve birleşir.

Anterior ve posterior semisirküler kanallar 102.3°'lik bir açı oluştururlar, bu açı anterior ve lateral kanallar arasında 89.7°, posterior ve lateral kanal arasında 89.8°'dir.

Utrikulus, bir tarafta anterior ve lateral kanalın ampullasının diğer tarafta commune krusun ve posterior kanalın ampullasının arasında iğ şeklinde vezikül gibi yerleşmiştir. Onun uzun eksen 1.3 mm, vertikal çapı 0.71 mm, horizontal çapı 0.4 mm'dir. Kaudal bölümün medial duvarından (makula utrikulusun yaklaşık 120-150µ arkasından), endolenfatik kanal (endolenfatik kese ile birlikte 3.3 mm uzunluğunda) çıkar. Akuaduktus vestibüli dorsale ve mediale ilerler. Bir valvle desteklenen orijine yakın bölgeden, sakkulusa doğru ventromedial yönde ilerleyen duktus utrikulosakkularisi oluşturur. Makula utrikuli 0.6 mm uzunluğu ve 0.51 mm genişliğiyle neredeyse küre şeklindedir. Utrikulusun ventrolateral duvarında lokalizedir. Yüzeyi dorsomediale yönlenmiştir. Sakkulus, laterale doğru yassılaştırmıştır ve kross kesitte üçgen şeklindedir. Yüksekliği 0.95 mm, horizontal uzunluğu 0.44 mm'dir. Ductus reunions 1 mm uzunluğundadır. Kıvrık yüzeyi laterale yönlenir. Uzunluğu 0.6 mm, genişliği 0.48 mm'dir.⁴⁸

İşitme organı: Kokleanın eksen 1 mm olarak sagittal ve horizontal düzlemde yerleşmiştir. Koklea tarafında yapılan dönüş sayısı 21/4 veya 21/2 olarak belirlenmiştir. Koklear kanalın uzunluğu 12.16 mm'dir. Membranöz kokleanın yapısı diğer memeliler gibidir.⁴⁸

2.8. Ototoksisiteye Genel Bakış

Ototoksisite koklea veya vestibüler sistemin kimyasal etmenler ve teröpatik ajanlar tarafından zarar görmesi ve bunun sonucunda işitme kaybı ve baş dönmesi gibi yakınmaların geliştiği bir durumdur.^{50, 51} Ototoksisite sık kullanılan antibiyotiklerin yanı sıra farklı branşlarda kullanılan pek çok ototoksik ilaç ile de meydana gelebilir.

Ototoksik etkili en sık kullanılan ilaçlar aminoglikozid grubu antibiyotikler, platin bazlı kemoterapötikler (sisplatin, karboplatin), loop diüretikleri, salisilatlar, makrolid grubu antibiyotikler ve antimalaryallerdir.^{52, 53} Bilinen diğer ototoksik maddeler arasında nonsteroid antienflamatuar ilaçlar, propilen glikol, alkol, benzalkonyum klorür, klorheksidin, M-kresil asetat, polimiksin, kloramfenikol, tikarsilin, seftazidim, bifosfanatlar, karbondisülfid, toluen, ksilen, trikloretilen, asetilsalisilik asit, civa, bütül nitrat, stiren, karbonmonoksit, kalay, hekzan, kurşun, trikloretilen manganaz, arsenik, heksadimetrim bromür, fenitoin, etosüksimid ve fenobarbital sayılabilir.⁵⁰

Ototoksik ilaçlar iç kulakta oksidatif stres oluşturarak hücre hasarı yaparlar. Aminoglikozidler dış tüylü hücrelere mekanoelektriksel transducer kanallar aracılığıyla girerler ve demir ile birleşerek kompleks oluşturular. Sisplatin de yine aynı yolu kullanarak girer ve oldukça reaktif olan monohidrat ile kompleks oluşturarak nitrik oksit- 3'ü aktive eder. Bu kompleksler süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen radikallerini aktive eder ve bu radikaller de januskinaz yolağını aktive ederek hücre ölümüne neden olur. Hücre nükleusunda aktifleşen genler mitokondriden sitokrom C salınmasına ve apoptosise neden olan kaspazların aktive olmasını sağlar. Diüretikler ise iç kulakta elektrolit imbalansı oluşturarak ototoksisite yaparlar.^{51, 54}

Ototoksik etkiler koklea bazal kıvrımdaki ilk sıra hücrelerden başlayıp dış tüylü hücrelere doğru ilerler ve korti organ hasarı oluşur. Spiral ganglion ve stria vaskülaris de bu sırada etkilenir. Ototoksisitede görülen işitme kaybı daima sensorinöral karakterdedir. Sensörinöral işitme kayıplarında temel patoloji korti organındaki sensörinöral epitelde lokalize mekanosensitif titretilen tüylü hücrelerin kaybıdır. Bir çok çalışmada işitme kaybının erken evrelerinde yalnızca bu tüylü hücrelerde kayıp olduğu, ilerleyen zamanlarda ise adituar epitelde destek hücrelerinin kaybolduğu ve koklear sinir ve spiral gangliona nöronal dejenerasyon olduğu gösterilmiştir.⁵⁵

İlaçlara bağlı ototoksisitenin en fazla görülen semptomları tinnitus, işitme kaybı ve baş dönmesidir. Çoğunlukla tinnitus en sık görülen semptomdur ve ardından oluşabilecek pek çok toksik etkinin erken habercisidir. Tinnitus genellikle yüksek perdeli ve 4 ila 6 kHz arasında değişen frekanstadır. Sıklıkla işitme kaybından önce ortaya çıkar. Tinnitusun tam olarak kaybolması nadirdir. Ancak zamanla nöral elemanların dejenere olması ile tinnitus şiddetinde azalma olabilir.

Ototoksisite sıklıkla otolojinin alanı dışında uygulanan tedaviler sonrasında meydana gelmektedir. Bu nedenle kulak burun boğaz hekimlerinin ototoksik ilaçların etkilerini bilip, tedavi sürecinde ilacın kullanılmasına devam edilmesi, ilacın kesilmesi veya koruyucu diğer bazı ilaçlarla birlikte kullanılması gibi konularda bilgili olması gerekmektedir.

2.9. Paklitaksel

Paklitaksel, yeni doğal antikanser bileşikler bulmak üzere birçok bitkinin tarandığı bir program kapsamında, ABD' de yetişen *Taxus brevifolia*'nın kabuğundan 1971 yılında izole edilmiştir.⁵⁶ FDA tarafından 1992 yılı içinde ovaryum ve 1994

yılında meme kanserli hastalara verilmek üzere ruhsatlandırılmıştır. Preparatı TAXOL® (Bristol-Myers Squibb Company, New York, NY) olarak isimlendirilmiştir.^{57, 58} 1985 yılında taksolün yarısentez ile temini çalışmaları sırasında, taxotere adı verilen bir taksol analogu sentezlenmiştir. Taxotere 1996 yılında antikanser ilaç olarak ruhsatlandırılmıştır. Preparatı TAXOTERE® (Rhone-Poulenc Rorer Pharmaceutical, Inc., Collegeville, PA.) olarak isimlendirilirken etken maddesine dosetaksel adı verilmiştir.^{57, 58}

Paklitaksel, antineoplastik ilaçların doğal alkaloidler ve taksanlar grubuna ait bir ilaçtır. Günümüzde özellikle over, meme ve küçük hücre dışı akciğer kanserini tedavi etmek için kullanılır.⁵⁹ Bu gruptaki ilaçlar mitoz bölünmenin metafaz evresine özgüdür. Paklitaksel özellikle beta tübüline bağlanarak mikrotübüllerin polimerizasyonunu artırır ve metafaz sırasında mitotik iğcikleri stabilize eder. Böylece tümör hücrelerinin metafazdan geçmesine engel olur, metafaz arrestine yol açar. Hücrede mikrotübüllerin toplanmasını arttırmak ve depolimerizasyonunu önleyerek stabil mikrotübül toplulukları oluşturmak suretiyle etki gösterir.^{4, 5} Sonuçta tübül-mikrotübül dengesi bozulur ve sitotoksik etki ortaya çıkar.⁶⁰

Paklitakselin en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, iştahsızlık, saç dökülmesi, eklemlerde ağrı, ellerde uyuşma, kaşıntı ve baş dönmesidir. Ayrıca nötropeni, nörotoksisite ve periferik nöropati de görülen yan etkilerdendir. Periferik nöropati ve nötropeni dozu kısıtlayan önemli birer yan etkidir.⁶¹ Nöropati kendini hissizlik, karıncalanma, mekanik allodini, nesnel allodini ve ağrı gibi semptomlarla gösterir.⁶²

Özellikle son yıllarda yapılan ototoksisite çalışmalarında Paklitakselin ototoksik etkisi, hafif-orta dereceli işitme kaybına neden olduğu ve kokleada dejeneratif değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Bu etki dozdan bağımsız bir etkidir. Düşük dozlarda bile izlenmiştir ve doz arttıkça işitme kaybının derecesi artmamaktadır.¹⁰

2.10. Karvakrol

Karvakrol, kekik dahil olmak üzere çok sayıda aromatik bitkiden üretilen bir monoterpenik fenoldür. Karvakrol düşük konsantrasyonlarda bir gıda tatlandırıcı bileşen ve koruyucu olarak kullanıldığı gibi kozmetik formülasyonlarda bir koku bileşeni olarak da kullanılmaktadır. Son yıllarda, klinik uygulamalarda potansiyel kullanımı için karvakrolün biyolojik etkilerini belirlemek amacıyla önemli araştırmalar yapılmıştır. İn

vitro ve in vivo çalışmalardan elde edilen sonuçlar, karvakrolün antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antikanser, anti-inflamatuar, hepatoprotektif, spazmolitik ve vazorelaksan gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.⁶³

Karvakrol genellikle tüketim için güvenli olarak kabul edilir. FDA tarafından gıda kullanımları için onaylanmıştır ve Avrupa Konseyi' nin alkollü içecekler, pişmiş ürünler, çiklet, donmuş süt, jelatin, puding, alkolsüz içecekler ve yumuşak şekerlerde bulunan kimyasal tatlandırıcılar listesine dahil edilmiştir.⁶⁴ Karvakrol, gıda bozulması ve gıda kaynaklı patojen bakterilerin büyümesinin kontrolünde etkilidir ve pirinç, zm, domates, elma da dahil olmak üzere çok çeşitli gıda ürünleri için bir koruyucu olarak değerlendirilir.⁶⁵⁻⁷¹

Karvakrol toksikolojisi hakkında bilgi sınırlıdır. Sıçanlarda karvakrolün letal dozunun oral gavajla uygulandığında vücut ağırlığının kg'ı başına 810 mg olduğu bildirilmiştir.⁷² İntervenz veya intraperitoneal olarak uygulanan ortalama letal dozu ise sırasıyla 80 ve 73.3 mg/kg olarak hesaplanmıştır.⁷³

Karvakrolden zengin esansiyel yağların güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu iyi bilinmektedir.^{74, 75} Karvakrol ayrıca gıda ve klinik izolatlardan izole edilen hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı geniş bir antimikrobik aktivite uygular. Örneğin, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus sakei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Streptococcus mutans*, ve *Bacillus subtilis* 'e karşı bakteriyostatik ve bakterisidal etkinlikler uyguladığı gösterilmiştir.⁷⁶⁻⁷⁸

Birçok alışma karvakrolün farklı hastalıklar üzerindeki terapötik potansiyelini göstermiştir. İki çalışmada antitümör etkinliği in-vitro ve in-vivo olarak gösterilmiştir.^{79, 80} Ayrıca farelerde dopaminerjik sistemi etkileyerek antidepresan benzeri etkisi olduğu gösterilmiştir.⁸¹ Bir başka çalışmada ise karaciğeri iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir.⁸²

2.11. Otoakustik Emisyonlar

Normal koklea hem sesi alır, hem de spontan ya da akustik uyaranlara yanıt olarak düşük şiddette ses üretir. Bu seslere otoakustik emisyon (OAE) denir. Bu sesler

kontraksiyon yetenekleri sayesinde dış tüylü hücreler tarafından üretilirler. İşitme kaybının olduğu frekanslarda emisyonların saptanmayıp, işitmenin normal olduğu frekanslarda emisyonun saptanması, OAE'ların koklear orjinli olduğunu gösteren bulgulardandır.⁸³

Ses dış kulak yoluna ulaştığı zaman iletim sistemi sayesinde oval pencereye ve kokleaya iletilir. Kokleaya iletilen bu akustik enerji baziler membranda travelling wave denen dalgayı oluşturur. İlerleyen dalga tepe noktasına yaklaştıkça baziler membran dalgaya enerji ekler. Her dalga baziler membrandaki rezonans bölgesine geldiğinde maksimum amplitüdünü alır ve söner. Bu harekette rol oynayan mekanizma dış tüylü hücreler tarafından sağlanan aktif koklear amplifikasyondur. İnsan kokleasında yaklaşık 12000 adet dış tüy hücresi bulunur ve bunlar baziler membrana yerleşmiş 3 sıralı stereosilyalı hücrelerdir. Dış tüy hücreleri tarafından oluşturulan dalga hem bazale hem apekte doğru ilerler. Bazale doğru ilerleyen dalga timpanik zarı titreşime ve dış kulak yolunda akustik enerji oluşumuna neden olur. Ölçülebilir otoakustik emisyon oluşması için timpanik zarın çok küçük hareketleri bile yeterli olur.

Otoakustik emisyonların ölçülebilmesi için dış kulak yoluna yerleştirilen, ucunda yumuşak probu bulunan yüksek hassasiyetli mikrofonlar kullanılır. Proben dış kulak yoluna hava almayacak şekilde sıkı oturması, dış ortam gürültüsünü engellemesi ve elde edilecek yanıtlar açısından önemlidir. Gürültü seviyesinin 40 dB'in altında olması testin doğruluğu için önemlidir. Hastanın çene hareketleri, yutkunması ve konuşması da kaydı bozacaktır.

Otoakustik emisyonların avantajları şöyle sıralanabilir:

1. Objektiftir.
2. Koklea için spesifiktir.
3. Duyarlı bir yöntemdir, 30 dB üstündeki kayıplarda saptanamaz.
4. Test süresi kısadır.
5. Hastadan bağımsızdır, pasif kooperasyon gerektirir.
6. Noninvazivdir.

Otoakustik emisyonlar 2 ana gruba ayrılır :

1. Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE)
2. Uyarılmış (evoked) otoakustik emisyonlar (EOAE) ⁸⁴

1- Spontan otoakustik emisyon (SOAE): Akustik bir uyaran olmadan dış kulak yolundan ölçülen tonal, düşük dereceli dar bant sinyallerdir. Yenidoğanlar dahil normal işiten kulakların % 50 sinde SOAE' ye rastlanır. İnsanlarda genellikle 1-3 kHz aralığında gözlenir. Amplitüdüleri -10 ile +20 dB SPL (Sound Pressure Level) civarında olan saf tonlardır.^{43, 85} Nadir de olsa 60 dB SPL düzeyinde dışardan duyulabilen SOAE'lar bildirilmiştir.⁸⁶ Yaş ilerledikçe görülme sıklığı ve amplitüdü azalır. Normal kulaklarda belli oranda görüldüğü için koklear fonksiyonu değerlendirmede kullanılmaz. Ancak SOAE varlığı görüldüğü frekansta işitmenin normal sınırdaki olduğunu destekler.

2- Uyarılmış (evoked) otoakustik emisyon (EOAE): EOAE'nın üç tipi vardır:

- a) Stimulus frekansı otoakustik emisyon (SFOAE)
- b) Geçici uyarılmış (transient evoked) otoakustik emisyon (TEOAE)
- c) Distorsiyon ürünü (distortion product) otoakustik emisyon (DPOAE)

a) Stimulus frekansı otoakustik emisyon (SFOAE): Kokleada düşük seviyeli sabit tonlarla akustik stimülasyon ile uyaran frekansında elde edilen akustik enerjilerdir. Frekans spesifiktir fakat uyarılar sürekli verildiği için cevaplarla uyarıların ayrı olarak algılanmasında güçlük vardır. Bu teknik zorluklardan dolayı klinik kullanımı kısıtlıdır.

b) Geçici uyarılmış (transient evoked) otoakustik emisyon (TEOAE): Akustik uyari sonucunda oluşan geniş frekans aralığına sahip yanıtlardır. Akustik uyaran olarak genellikle klik stimulus kullanılır. 80-85 dB SPL arasında uyaranlar kullanılır.

TEOAE'lar yenidoğanlar dahil olmak üzere normal işiten sağlıklı kulaklarda % 98-100 oranında saptanır. Genellikle klik stimulus kullanıldığından geniş bant veri alınır. Yani kokleanın geniş bir kısmına ait değerlendirme yapılabilir. İşitme kaybı 30 dB'i geçtiğinde TEOAE'lar alınamaz.^{26, 84} Yaş ilerledikçe de amplitüdünde düşme izlenir. 60 yaşın üzerinde olan olguların yaklaşık % 35'inde saptanabilir.^{83, 84}

c) Distorsiyon ürünü (distortion product) otoakustik emisyon (DPOAE): İki ayrı frekanstaki pür ton seslerin simültane olarak verilmesi ve bunların interaksyonu sonucu DPOAE elde edilir. Kokleayı stimüle etmek için verilen 2 pür ton F1 ve F2 olarak adlandırılır. F1 düşük frekans, F2 yüksek frekanstır. İntermodülasyon oluşması için F1 ve F2'nin birbirine yakın olması gerekir. F2/F1 oranı frekans oranıdır ve genellikle 1.1-1.3 oranında kullanılır. Bunlara karşılık gelen ses amplitüdüleri ise L1 ve

L2 olarak adlandırılır. İntermodölasyondan dolayı sağlıklı koklea input frekansı haricinde bir seri emisyon üretir. Bunlara distorsiyon ürünü denir. Bunlardan en sık görüleni ve klinikte en yaygın kullanılanı 2F1-F2 aralığına denk gelen frekans noktasıdır.

DPOAE'nun teknik prosedürleri TEOAE'den çok daha kompleksir.⁸⁷ Tüm zorluklara rağmen DPOAE'lar periferik işitme sistemi ile ilgili çok ayrıntılı bilgiler verebilir. DPOAE ile kulağı test etmek için kısa bir geçici ses verilir, verilen uyarıdan kokleanın kendi sesini ayırt etmek için koklea içindeki tepki her bir geçici ses arasındaki sessiz periyotta ölçülür.

DPOAE'lar pür ton işitme eşiklerini değerlendirmek için uygun değildirler. DPOAE'lar normal ve normale yakın orta kulak ve koklear fonksiyonun ispatını gösterir, fakat işitme eşiklerini yansıtmaz.⁸⁸ Kemirgenlerde iki tonla uyaran verilmesi sırasında yüksek seviyeli distorsiyon oluşur.^{89, 90, 91}

Otoakustik emisyonun ölçümü: Otoakustik emisyonlar kokleaya spesifiktir ancak doğru bir kayıt elde edebilmek için sağlıklı koklea tek başına yeterli değildir. Normal OAE kaydı için öncelikle açık bir dış kulak yolu gerekmektedir. Probun dış kulak yoluna sıkı bir şekilde oturması, optimal pozisyonda olması, orta kulak patolojisinin olmaması, fonksiyonel dış tüy hücrelerinin olması ve sessiz bir ortam sağlanması ölçümlerde doğru sonuçlar almak için gerekli koşullardır.

Dış kulak yolu stenozu, otitis eksterna ve media, timpan zar perforasyonu, otoskleroz, ototoksiste, dış tüy hücreleri etkileyen koklear patolojiler OAE'ların negatif saptandığı patolojik durumlardır.⁹²

OAE ölçümleri sessiz ortamda yapılmalıdır. Kulağa takılan prob içinde iki minyatür hoparlör ve bir mikrofon vardır. Hoparlörden verilen klik şeklindeki ses uyarılarına alınan cevaplar, mikrofon aracılığıyla kaydedilir. Kullanılan mikrofon, OAE'ların düşük seviyelerde olduğu hallerde önem kazanır. İyi mikrofon sensitif ve ortam gürültüsünden az etkilenir özelliğe sahip olmalıdır.

Otoakustik Emisyon Kullanım Alanları: Ölçümünün noninvaziv olması ve kokleaya sensitivitesinin yüksek olması otoakustik emisyonların kabul görmesini sağlamıştır. OAE işitmesi normal bireylerde sağ ve sol kulak arasında tamamıyla benzerlik gösterir. Fark olması olası patolojileri akla getirmelidir. En sık kullanıldıkları alanlar şunlardır:

1. İşitme kaybının belirlenmesinde kullanılır. Yenidoğan, süt çocuğı ve çocuklarda tarama amacı ile kullanılır. Davranış odyometrisinde zor karar verilen olgularda, psikojenik işitme kayıplarında kullanılır.

2. Koklea fonksiyonunun moniterizasyonunda kullanılır. Ototoksisite, gürültüye bağı işitme kaybı, prespiakuzi ve ani işitme kaybında kullanılabilir.

3. Koklear lezyonların ayırıcı tanısında kullanılabilir.^{88, 93, 94}



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya başlamadan önce Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan etik onay alındı. Çalışmaya toplam 40 adet sağlıklı Wistar Albino cinsi, ortalama 250-400 gr ağırlığında erkek sıçan ile başlandı. Sıçanlar Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21C° ±1 sıcaklıkta ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Sıçanlar standart laboratuvar yemiyle beslendi. Çalışma süresince herhangi bir yiyecek ve su kısıtlaması yapılmadı.

Hayvanlar her grupta 8 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Çalışmanın başlangıcında tüm sıçanlara intraperitoneal (İ.P) yolla 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile anestezi sağlandıktan sonra otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri yapıldı. Dış kulak yolu, timpan zarı ve işitmesi normal olan sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Patoloji saptanan ve emisyon elde edilemeyen sıçanlar çalışma dışı bırakıldı.

1. grup	8 adet yetişkin sıçan	İlaç uygulanmayan kontrol grubu
2. grup	8 adet yetişkin sıçan	25 mg/kg Karvakrol uygulanan grup
3. grup	8 adet yetişkin sıçan	5 mg/kg Paklitaksel uygulanan grup
4. grup	8 adet yetişkin sıçan	Paklitaksel sonrası 30. dakikada Karvakrol uygulanan grup
5. grup	8 adet yetişkin sıçan	Paklitakselden 1 gün önce Karvakrol uygulanan grup

Tablo 1. Çalışma grupları

1. gruptaki 8 adet yetişkin sıçana genel anestezi altında otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra çalışmanın sonuna kadar herhangi bir uygulama yapılmadı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında DPOAE ölçümleri tekrarlandı. Daha sonra letal doz ketamin uygulanarak kurban edilen sıçanların temporal kemikleri çıkarıldı.

2. gruptaki 8 adet yetişkin sıçana genel anestezi altında otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra, haftada 1 kez 4 hafta boyunca 25 mg/kg dozunda

Karvakrol İ.P olarak uygulandı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında DPOAE ölçümleri tekrarlandı. Daha sonra letal doz ketamin uygulanarak sakrifiye edilen sıçanların temporal kemikleri çıkarıldı.

3. gruptaki 8 adet yetişkin sıçana genel anestezi altında otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra, haftada 1 kez 4 hafta boyunca 5 mg/kg dozunda Paklitaksel (Sindaxel 30 mg/5 mg flakon, Actavis İlaçları A.Ş., İstanbul) İ.P olarak uygulandı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında DPOAE ölçümleri tekrarlandı. Daha sonra letal doz ketamin uygulanarak sakrifiye edilen sıçanların temporal kemikleri çıkarıldı.

4. gruptaki 8 adet yetişkin sıçana genel anestezi altında otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra, haftada 1 kez 4 hafta boyunca 5 mg/kg dozunda Paklitaksel ve 30 dakika sonra 25 mg/kg dozunda Karvakrol İ.P olarak uygulandı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında DPOAE ölçümleri tekrarlandı. Daha sonra letal doz ketamin uygulanarak sakrifiye edilen sıçanların temporal kemikleri çıkarıldı.

5. gruptaki 8 adet yetişkin sıçana genel anestezi altında otoskopik muayene ve DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra, haftada 1 kez 4 hafta boyunca 25 mg/kg dozunda Karvakrol ve 1 gün sonra 5 mg/kg dozunda Paklitaksel İ.P olarak uygulandı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında DPOAE ölçümleri tekrarlandı. Daha sonra letal doz ketamin uygulanarak sakrifiye edilen sıçanların temporal kemikleri çıkarıldı.



Fotoğraf 1. Sıçanların otoskopik muayenesi

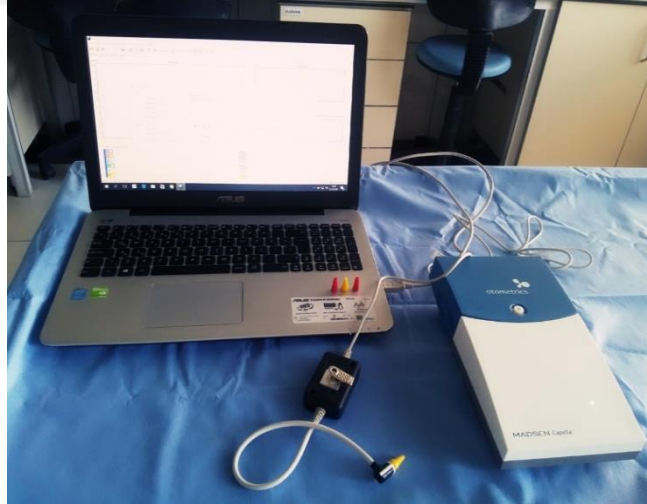
3.2. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Ölçüm Metodu

Bu çalışmada emisyonların incelenmesi için DPOAE kullanılmıştır. Ölçümlere ortam gürültüsünün 40 dB'in altında olduğu sessiz bir ortamda genel anesteziyi takiben

başlandı. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar Otometrics MADSEN Capella cihazıyla, cihazın probunun ucuna en küçük boy kauçuk prob takılarak ölçüldü. Sıçanın kafası yere yatay pozisyona getirildikten sonra prob sıçanın kulağına iyice yerleştirildi. Cihazdaki prob göstergesi ve uyaran dalga formu uygun konfigürasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görüldükten sonra ölçüme başlandı (Fotoğraf 2-3).



Fotoğraf 2. Sıçanlarda otoakustik emisyon ölçümü



Fotoğraf 3. Otoakustik emisyon ölçüm düzeneği

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (2f1-f2 kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) General Diagnostic modunda DPgram ölçümü olarak yapıldı. DPOAE'lar farklı frekans ve şiddetlerdeki uyarılar kullanılarak ölçüldü. DPgram ölçümünde primer uyarı şiddetleri 65 dB'de eşitlendi ($L1=L2$). İki ayrı frekans ($f1$ ve $f2$), en güçlü yanıtların alınabileceği $f2/f1= 1.22$ olacak şekilde düzenlendi. DPgram ölçümleri 996,

1191, 1416, 1679, 2001, 2382, 2832, 3359, 4003, 4755, 5654, 6728, 7998 Hz f2 frekanslarında yapıldı. DPgram fonksiyonlar için gürültü seviyesi DPOAE frekanslarının 50 Hz üzerindeki frekanslarda ölçüldü. Ölçüm sırasında 2f1-f2 frekansında gürültü şiddetinden 3 dB ve üzerinde olan OAE'lar pozitif kabul edildi. Ölçümlerde alınan yanıtlar en yüksek seviyesine kadar kaydedilerek test sonlandırıldı.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

1. ayın sonunda letal doz ketamin uygulanarak kurban edilen sıçanların sağ ve sol temporal kemikleri izole olarak çıkarıldı. Her sıçanın kokleasının bir tanesi histopatolojik çalışma için % 10'luk tamponlu formaldehit çözeltisine konulup 24 saat tespit edildikten sonra % 6'lık nitrik asit inkübasyonu ile oda ısısında dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon tamamlandıktan sonra yaklaşık 30 dk akar su ile yıkanan materyallerden hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Rutin hematoksilin&eosin (H&E) ile boyanarak elde edilen incelemeye hazır hale getirilmiş preparatların ışık mikroskopunda değerlendirilmesi yapıldı. Diğer koklealar ise biyokimyasal analiz için fosfat tamponuna konularak -80° dondurucuda muhafaza edildi.

Işık mikroskobu incelemesinde, dış tüylü hücre sayısı baz alınarak korti organ hasarı ve hücre büzüşme derecesi baz alınarak stria vaskülarisin durumu değerlendirildi.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Deney sonrası sıçanlardan alınan 100 mg koklea dokusu spesifik homojenat tamponunda, buz üzerinde Tissue Lyser ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Her süpernatanttan süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve glutatyon peroksidaz (GSH) seviyeleri manuel ölçüm metodlarıyla ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm koklea süpernatantlarında bütün datalar her mg protein için ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Protein konsantrasyonları ticari protein standartları kullanılarak Lowry metodu ile tespit edildi (Sigma Aldrich, Total protein kit- TP0300-1KT-USA).

3.5. İstatistiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Windows için SPSS istatistik paket programı kullanıldı (SPSS 20.0, Philadelphia, USA).

DPOAE sonuçları değerlendirilirken normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilerde uygulama öncesi ve sonrası her bir grubu kendi içinde karşılaştırmak için parametrik testlerden eşleştirilmiş

T testi kullanıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

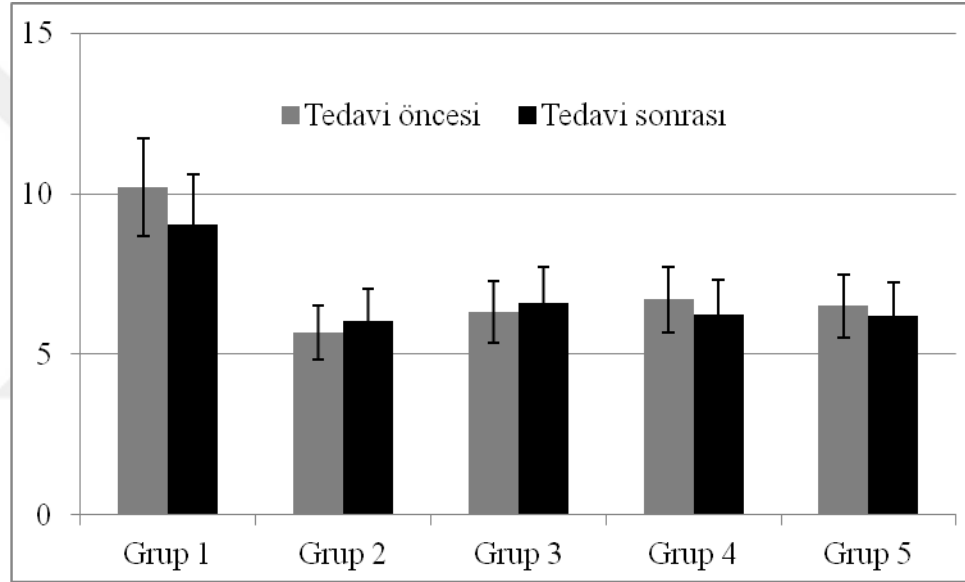
Histopatolojik bulgular değerlendirilirken, korti organ hasarı ve stria vaskülaris hasarının gruplar arasındaki farkını incelemek için Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve $p < 0.001$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek amacıyla kontrol grubuyla diğer gruplar arasında ikişerli Mann Whitney-U testi uygulanarak Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

Biyokimyasal analiz sonuçları değerlendirilirken gruplar arasındaki farkın önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey' e göre yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel farklılıklar, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$ olan gruplar için tek yönlü olarak gösterildi.

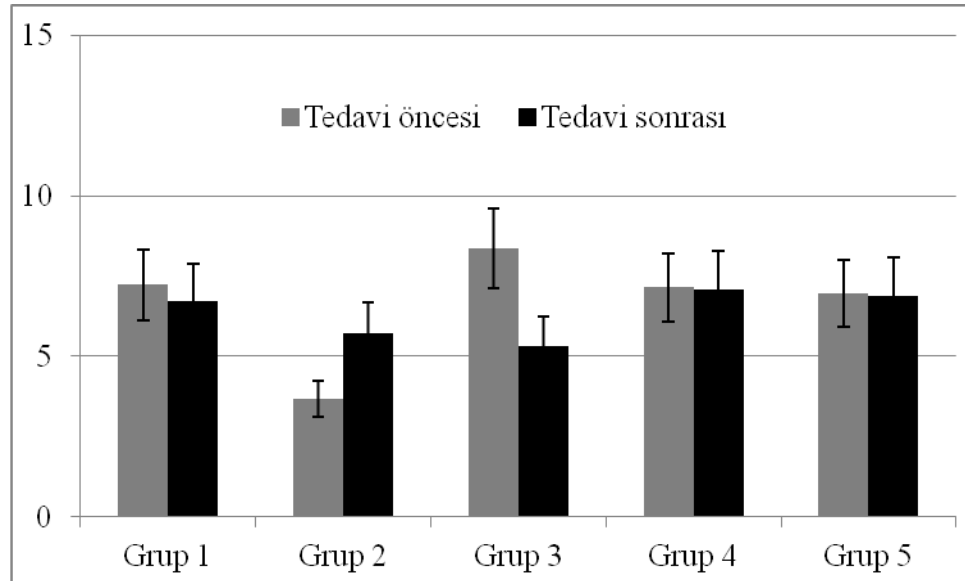
4. BULGULAR

Sıçanlar İ.P Paklitaksel ve Karvakrol uygulamasını rahat tolere ettiler. Çalışma süresince kilo kaybı veya aşırı kilo alımı saptanmadı. Yiyecek ve su tüketiminde bir farklılık görülmedi. Bütün sıçanlar otoskopik muayene yapılarak deneye dahil edildi. Çalışmanın başında ve sonunda DPOAE ölçümleri yapılarak DPgram seviyeleri kaydedildi. DPOAE ölçümleri sırasında anesteziyi tolere edemeyen sıçanlar çalışma dışı bırakıldı. Amplitüd değişiklikleri her grup için tedavi öncesinde, sonrasında ve gruplar arasında karşılaştırıldı.

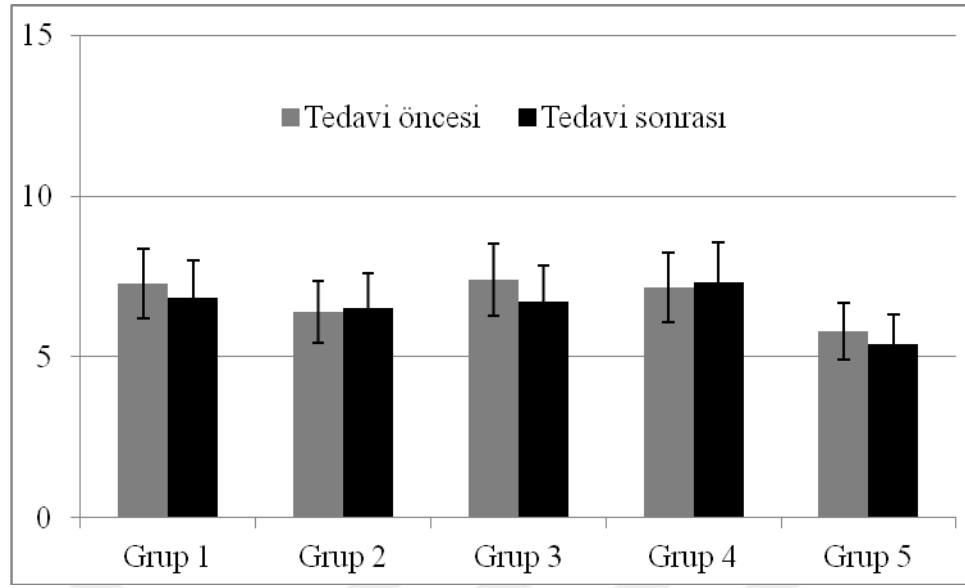
Sıçanların tedavi öncesi ve sonrasında elde edilen ortalama DPgram değerleri Grafik 1-8’de gösterilmiştir.



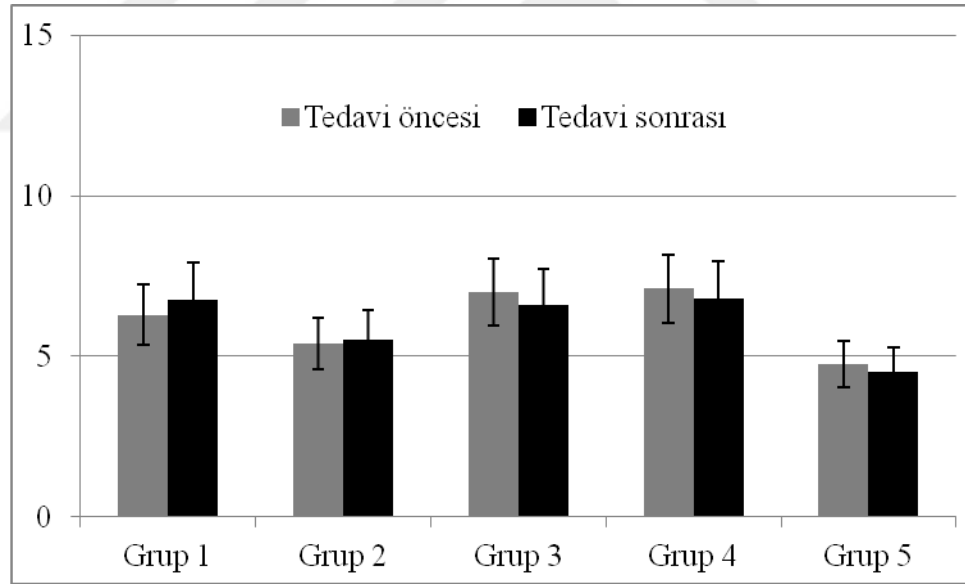
Grafik 1. 3000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)



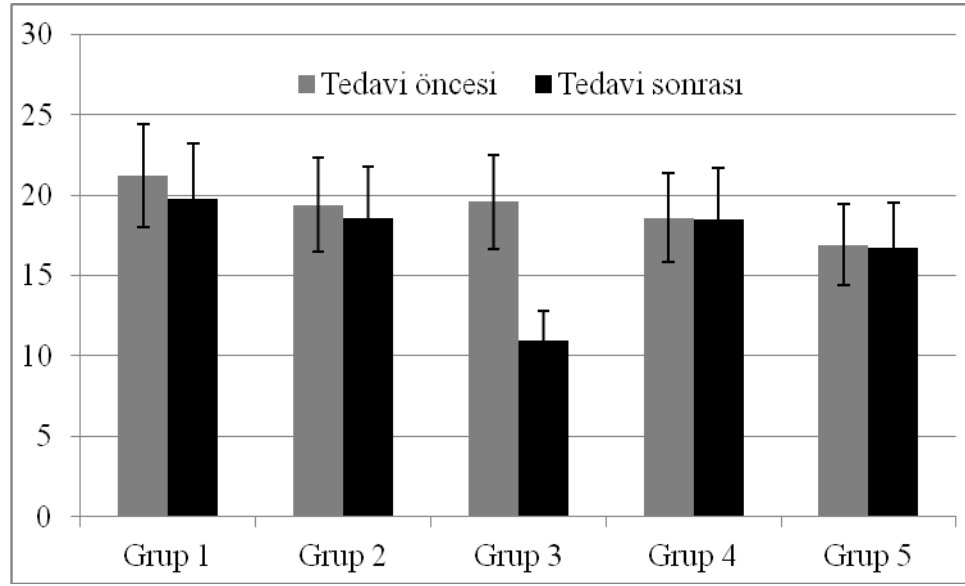
Grafik 2. 3000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak)



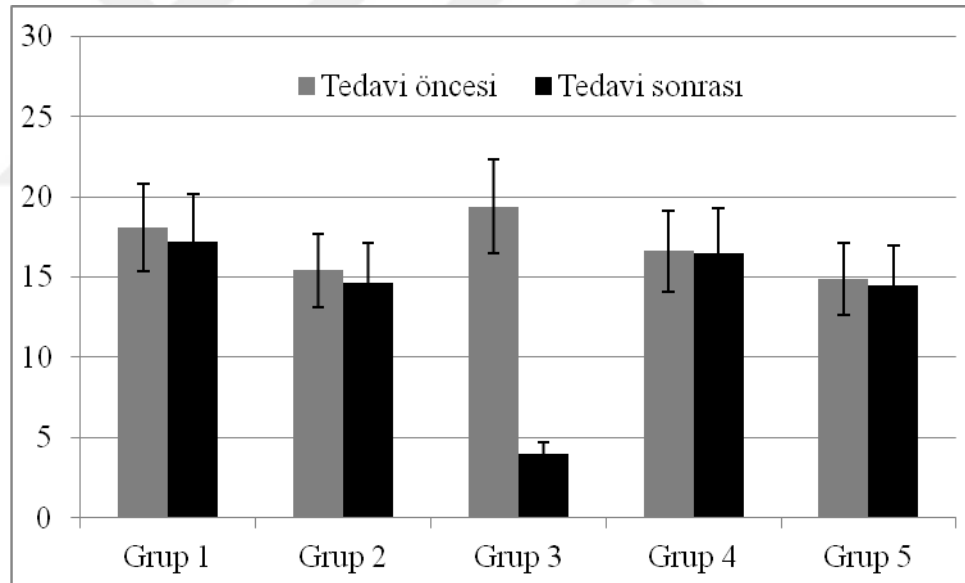
Grafik 3. 4000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)



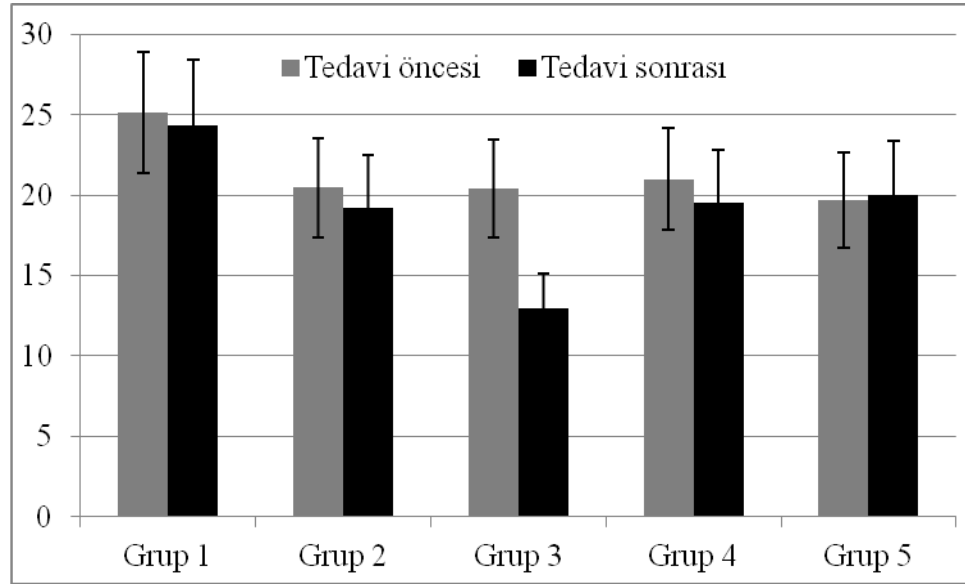
Grafik 4. 4000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak)



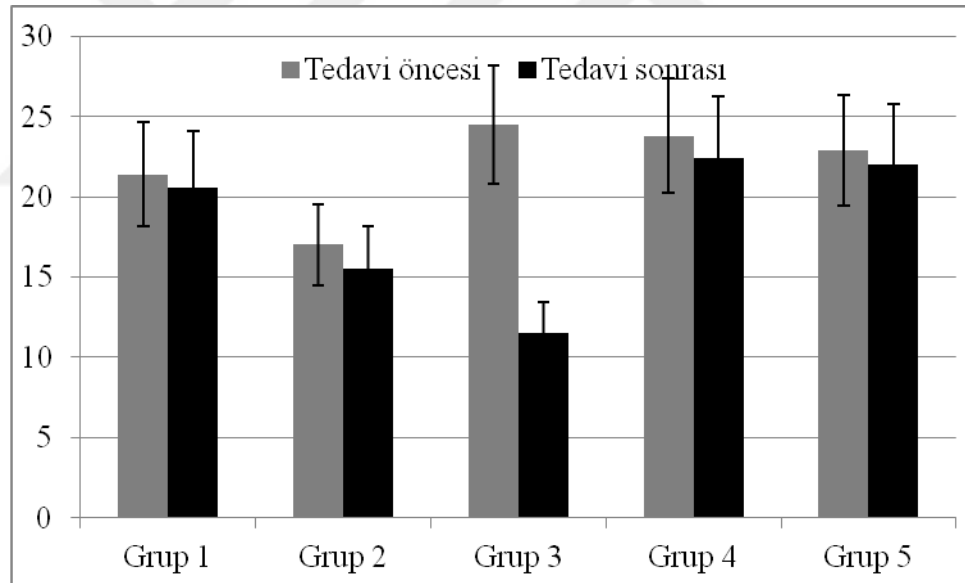
Grafik 5. 6000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)



Grafik 6. 6000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak)



Grafik 7. 8000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sağ kulak)



Grafik 8. 8000 Hz frekansta tedavi öncesi-sonrası DPgram grafiği (sol kulak)

Tedavi öncesinde elde edilen DPOAE ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi.

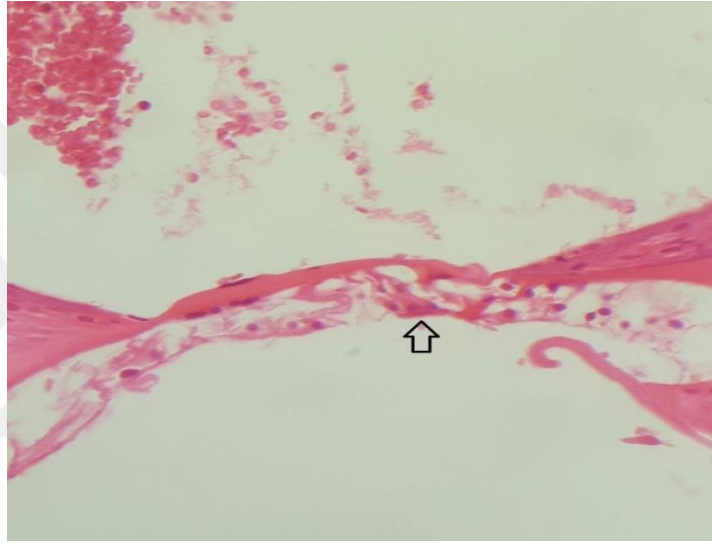
Grup 1, 2, 4 ve 5’de tedavi öncesi ve sonrasında elde edilen DPOAE ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0.05$).

Grup 3’de tedavi öncesi ve sonrasında elde edilen DPOAE ölçümlerinde 3000 ve 4000 Hz frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.05$). 6000 ve

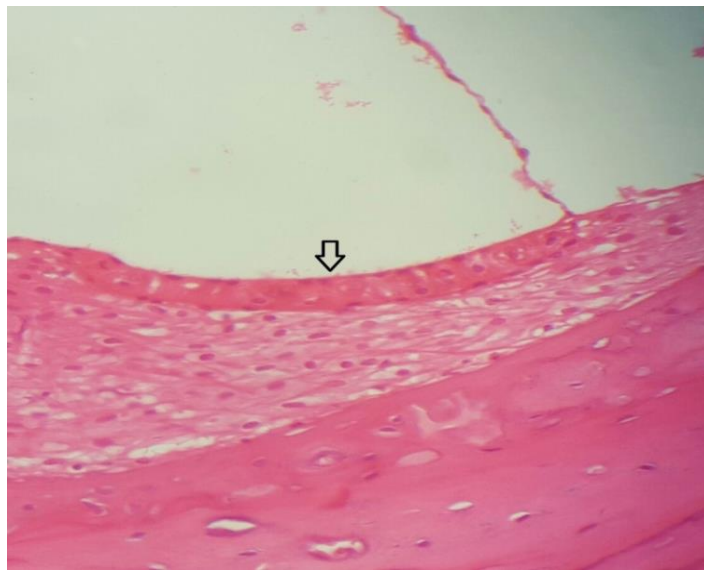
8000 Hz frekanslardaki ölçümlerde ise tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düşüş izlendi ($p<0.05$).

İşitme kaybı açısından yapılan değerlendirmede Grup 3’de tedavi sonrasında DPOAE amplitüdlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş izlenmesi ilacın yüksek frekanslardaki ototoksik etkisini açıklamaktadır. Aynı şekilde Grup 4 ve 5’de istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olmaması Karvakrolün toksik etkiyi azaltmada faydalı olduğunu düşündürmektedir.

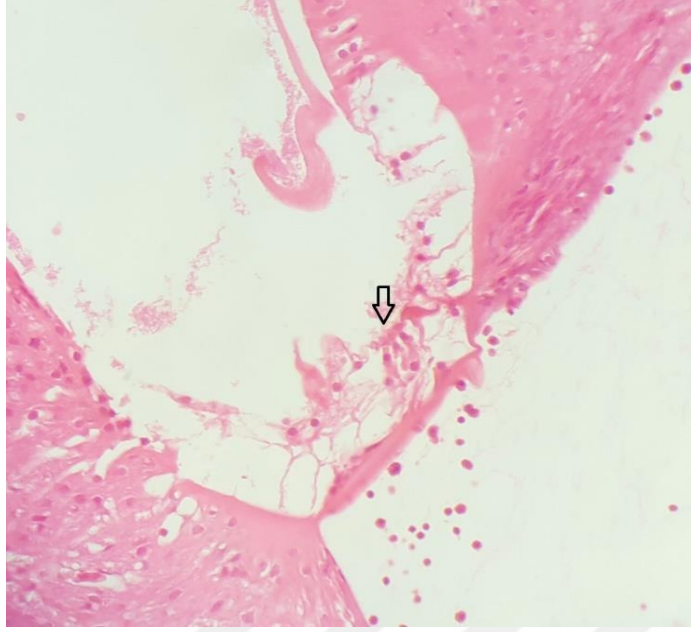
Çalışma sonunda elde edilen histopatolojik bulgular ise Fotoğraf 4-13’de gösterilmiştir.



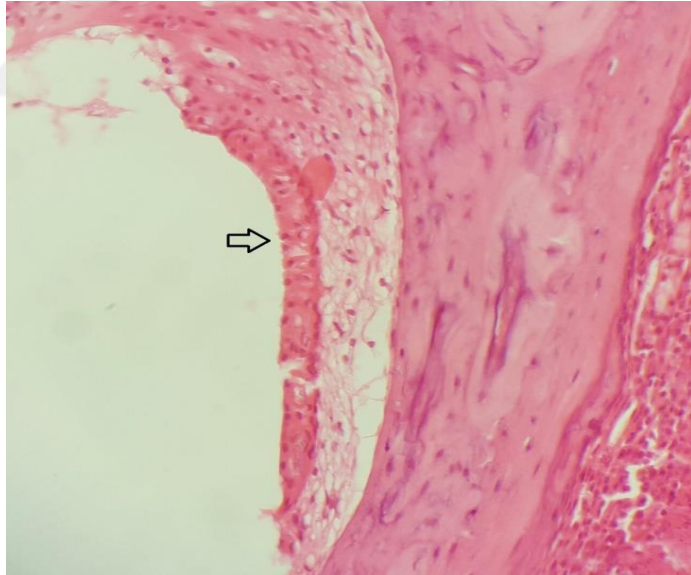
Fotoğraf 4. Grup 1’e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normal histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



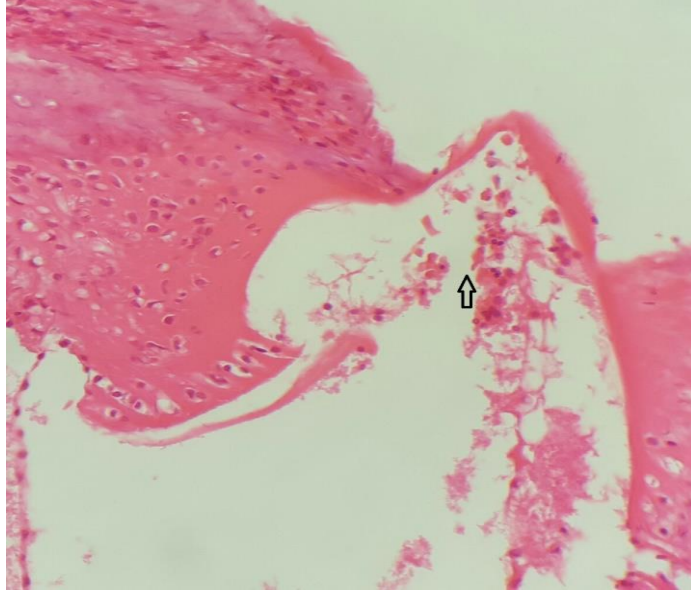
Fotoğraf 5. Grup 1’e ait stria vaskularisin normal histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



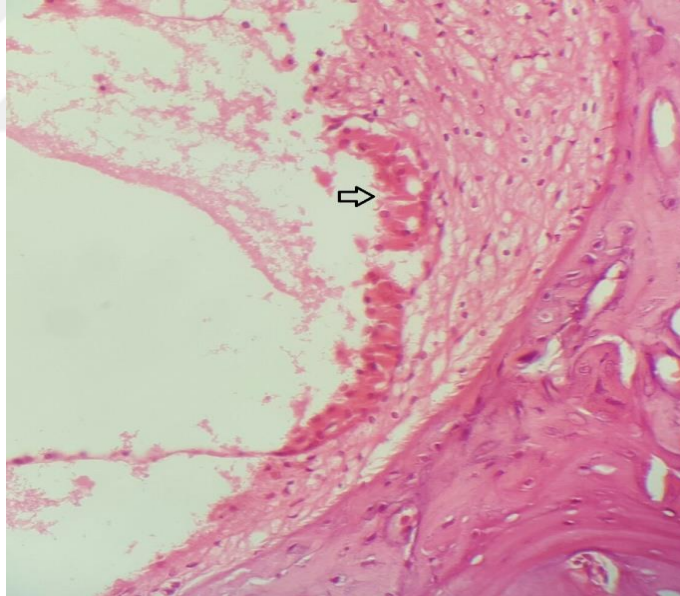
Fotoğraf 6. Grup 2'ye ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



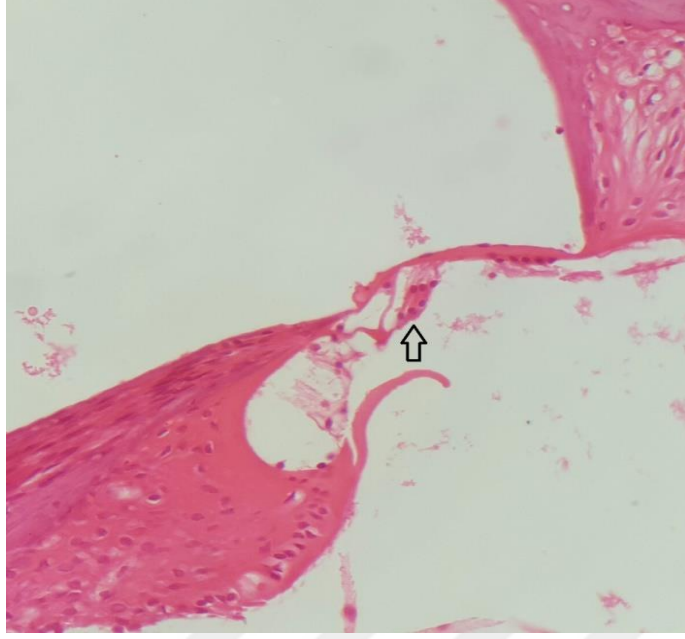
Fotoğraf 7. Grup 2'ye ait stria vaskularisin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



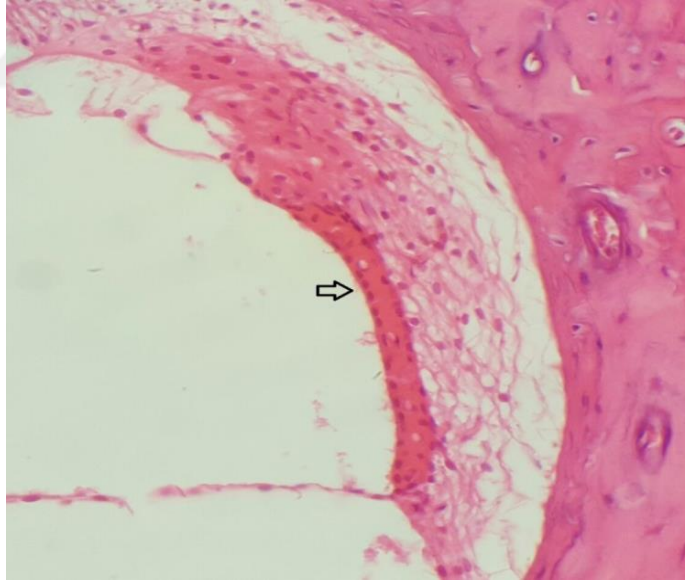
Fotoğraf 8. Grup 3'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerde kayıp ile karakterize belirgin dejenerasyon bulguları (ok), H&E, x400.



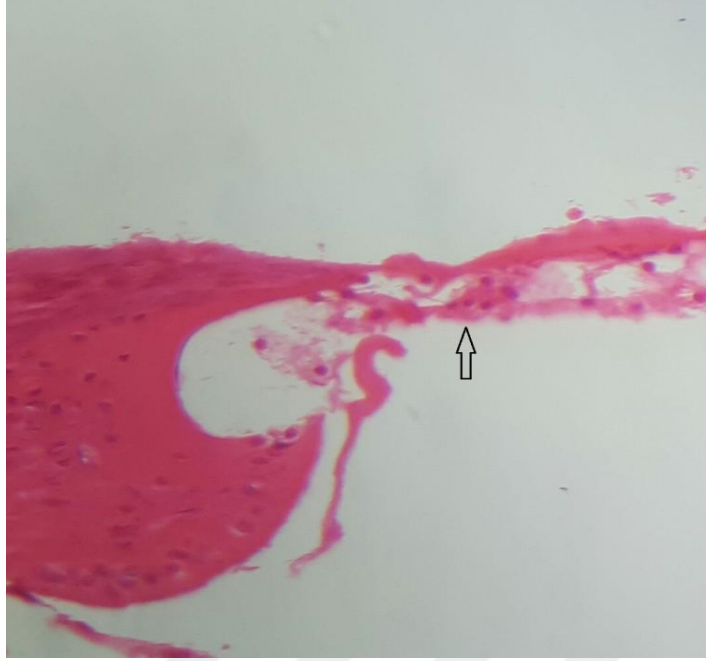
Fotoğraf 9. Grup 3'e ait stria vasküleriste orta derecede dejeneratif değişiklik (ok), H&E, x400.



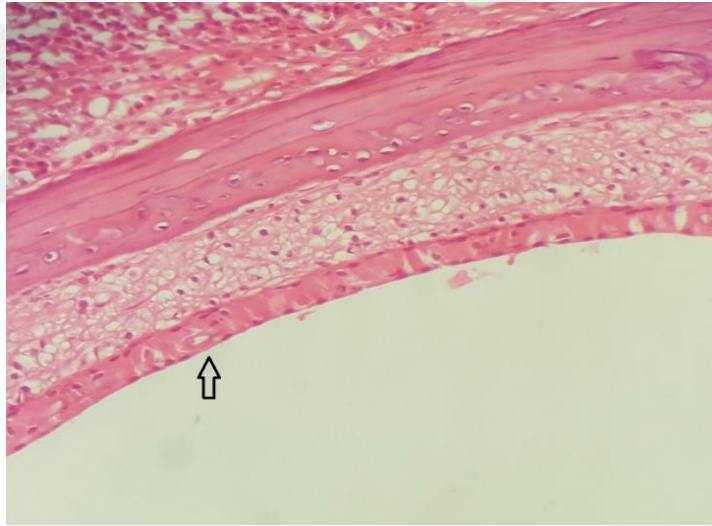
Fotoğraf 10. Grup 4'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



Fotoğraf 11. Grup 4'e ait stria vaskularisin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



Fotoğraf 12. Grup 5'e ait korti organı. Dış tüylü hücrelerin normale yakın histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.



Fotoğraf 13. Grup 5'e ait stria vaskularisin hafif dejenerasyon bulguları gösteren histopatolojik görüntüsü (ok), H&E, x400.

Histopatolojik bulgular değerlendirilirken, korti organ hasarını derecelendirmede Freitas ve arkadaşlarının 4 puanlı skorlama sisteminden faydalanılmıştır. Dış tüylü hücre hasarına göre;

0 = intakt 3 tüylü hücre mevcut

1 = intakt 2 tüylü hücre mevcut

2= intakt 1 tüylü hücre mevcut

3= korti organ kaybı

Stria vaskülaris hasarını derecelendirmede Yazıcı ve arkadaşlarının evreleme sisteminden faydalanılmıştır ve hücre büzüşmesi baz alınmıştır.

0= hasar yok

1= hafif hasar

2= orta hasar

3= ciddi hasar

Histopatolojik bulguların istatistiksel analizi Tablo 2’de gösterilmiştir.

	Kontrol (1.Grup)	2. Grup	3. Grup	4. Grup	5. Grup	p
Korti Hasarı	0 (0-0)	0 (0-0)	3 (3-3)*	0 (0-0)	0 (0-0)	<0.001
SV Hasarı	0 (0-0)	0 (0-1)	2 (2-2)*	0 (0-0)	1 (1-1)	<0.001

Histopatolojik inceleme sonuçları ortanca (minimum - maksimum) olarak verilmiştir.

* : Kontrol grubu ile anlamlı farklılığa işaret eder.

Tablo 2. Histopatolojik inceleme sonuçları

Grup 1, 2 ve 4’e ait kesitler histopatolojik anormallik göstermemektedir. Grup 3’e ait kesitlerde ise korti organında dış tüylü hücrelerde kayıp ile karakterize belirgin dejenerasyon bulguları ve stria vaskülariste orta dereceli dejeneratif değişiklikler izlenmektedir. Grup 5’de dış tüylü hücreler normale yakın histopatolojik görünümdeydi ancak stria vaskülariste hafif dejenerasyon bulguları izlenmektedir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman Grup 2, 4 ve 5’de istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.001$). Grup 3’ de ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0.001$).

Bu bulgular eşliğinde paklitakselin ototoksik etki gösterdiği, paklitakselden 30 dakika sonra karvakrol alan grupta histopatolojik bulgulara belirgin iyileşme olduğu saptanmıştır. Paklitakselden 1 gün önce karvakrol alan grupta ise hafif dejeneratif değişiklikler görülse de bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

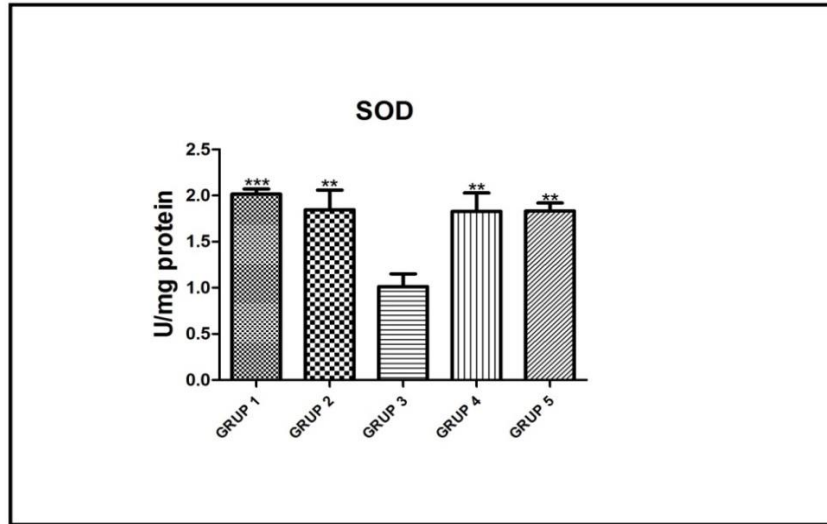
Çalışmamızda ayrıca antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan SOD ve GSH aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ve oksidatif hasarın ortaya konulmasında önemli bir parametre olan MDA düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Biyokimyasal analiz sonuçları Tablo 3 ve Grafik 9-11’de gösterilmiştir.

GRUPLAR	SOD	GSH	MDA
GRUP1	2,02±0,14***	0,76±0,15***	0,27±0,3***
GRUP2	1,85±0,52**	0,65±0,5**	0,28±0,05**
GRUP3	1,01±0,34	0,46±0,4	0,36±0,34
GRUP4	1,83±0,5**	0,63±0,6**	0,28±0,37**
GRUP5	1,83±0,2**	0,62±0,3*	0,27±0,22**

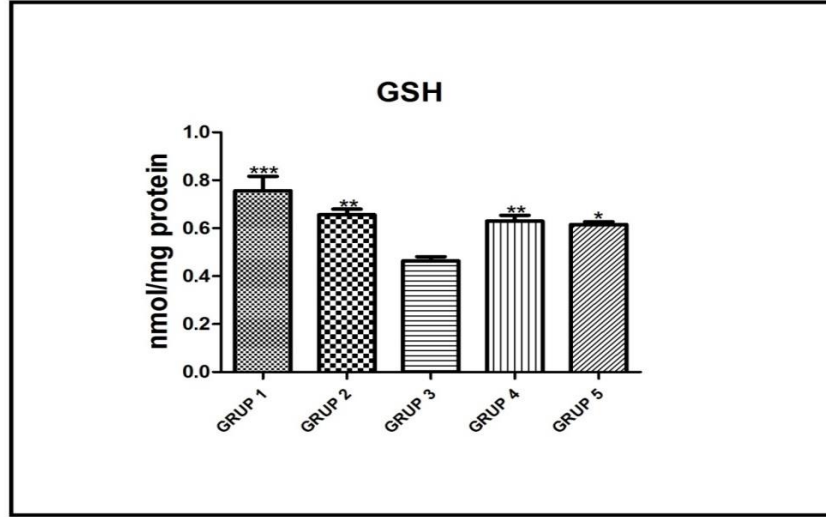
Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerinden Tukey'e göre yapıldı. İstatistiksel farklılıklar, * p <0.05, ** p <0.01 ve *** p <0.001 olan gruplar için tek yönlü olarak gösterildi. (Değerler: Ortalama ± Standart Sapma)

Tablo 3: Ortalama SOD, GSH ve MDA seviyeleri



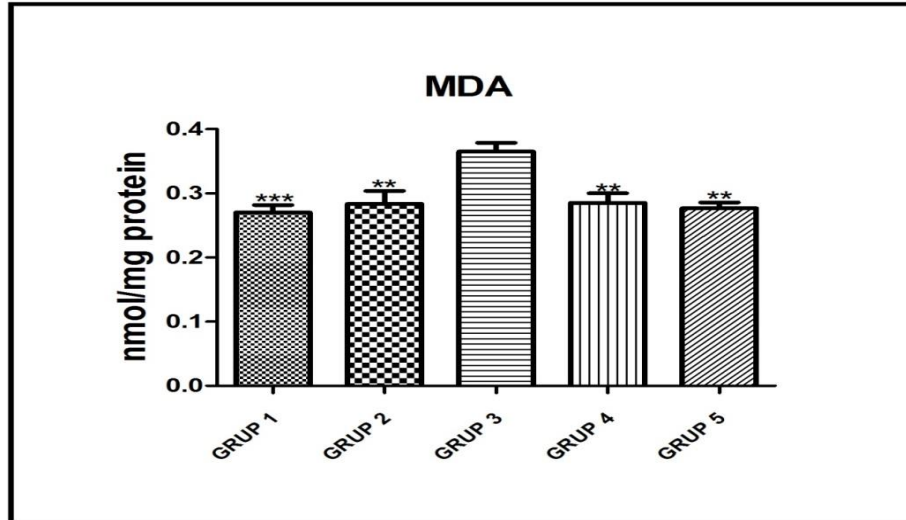
Grafik 9: Koklea dokusundaki SOD seviyelerinin karşılaştırılması

Sadece Paklitaksel verilen Grup 3'deki sıçanların koklea dokusuna ait SOD aktivesinin kontrol grubuna ait değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olduğu tespit edildi (p<0.001). Aynı şekilde Grup 2, 4 ve 5 ile kıyaslandığında da Grup 3'de istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edilmiştir (p<0.01).



Grafik 10: Koklea dokusundaki GSH seviyelerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Grup 3'e ait GSH aktivesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0.001$). Grup 3'de azalmış olan GSH aktivesinin Grup 2 ve 4 de anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ($p<0.01$). Grup 3 ve 5'i karşılaştırdığımızda ise diğer gruplardaki kadar yüksek anlamlı olmamakla birlikte Grup 5'de anlamlı artış görülmüştür ($p<0.05$).



Grafik 11: Koklea dokusundaki MDA seviyelerinin karşılaştırılması

Grup 3'deki sıçanların koklea dokusundaki MDA seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ($p<0.001$). MDA değerleri Grup 2, 4, ve 5 ile karşılaştırıldığında da Grup 3' de istatistiksel olarak anlamlı artış izlenmiştir ($p<0.01$).

GSH ve SOD'un koklea dokusundaki aktivasyonu paklitaksel alan grupta önemli ölçüde düşerken, karvakrol uygulanan gruplarda kontrol grubu kadar olmasa da yüksek aktivasyon değerleri bulunmuştur. Aynı şekilde paklitaksel, sıçan kokleasında lipid

peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinde artışa neden olurken, karvakrol antioksidatif etki ile bu artışı önleyerek kontrol grubuna yakın seviyelerde tutmaktadır.

Bu veriler ışığında, Paklitakselin antioksidan savunma sistemlerini olumsuz etkileyerek ototoksisite oluşturduğu, Karvakrolün ise antioksidan enzim aktivasyonu ile bu olumsuz etkiyi azalttığını söylemek mümkündür.



5. TARTIŞMA

Taksan sınıfı bileşikler (paklitaksel ve dosetaksel) son yılların en önemli kanser kemoterapötiklerindendir. Paklitaksel ve yarısentetik türevi olan dosetaksel antitümör etkilerini, hücrede mikrotübüllerin toplanmasını arttırmak ve depolimerizasyonunu önleyerek stabil mikrotübül toplulukları oluşturmak suretiyle göstermektedir.^{4, 5} Paklitaksel için 1980' lerin ortalarında Faz 2 klinik çalışmalar yapılmış ve ilk kez 1989' da over karsinomlu bir hastada klinik etkinlik raporu yayınlanmıştır.⁹⁵ O zamandan beri kullanımı giderek artmıştır ve günümüzde over, meme, akciğer ve baş-boyun gibi pek çok kanserin ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.^{6-9, 96} Nöronlar paklitaksel toksisitesine oldukça duyarlıdır. Periferik nöropati iyi bilinen en önemli nonhematolojik yan etkisidir.⁹⁷ Bu etkinin sıklığı ve ciddiyeti yüksek dozda ve kümülatif dozlarda artar. Kullanımını kısıtlayan bir diğer ciddi yan etki ise miyelosupresyondur.

Ototoksisite çeşitli kimyasal maddelerin ve terapötik ajanların iç kulak yapı ve fonksiyonlarında hasar oluşturmasıdır. Bu hasar kokleada ve/veya vestibülde olabilir. Bunun sonucunda da işitme kaybı, tinnitus ve vertigo ortaya çıkar. Tinnitus en sık görülen ve genellikle ilk ortaya çıkan semptomdur. Çoğunlukta bilateralidir. Ardından ortaya çıkan işitme kaybı ise yüksek frekansları tutar. Genellikle bilateral ve simetriktr. Daima sensörinöral karakterdedir. Kalıcı veya geri dönüşümlü olabilir. Vestibüler fonksiyon bozukluğu ise gerçek bir vertigodan ziyade genellikle kendini dengesizlik hissi şeklinde gösterir.^{1, 2}

Paklitaksel ototoksisitesi ile ilgili veriler oldukça kısıtlıdır. Bunun başlıca nedeni ise yeni bir kemoterapötik ajan olması ve genellikle ototoksik etkisi iyi bilinen ajanlarla kombine olarak kullanılmasıdır.⁹⁸⁻¹⁰⁰ Sarafraz ve arkadaşlarının 103 meme ve over karsinomlu hastada yaptıkları prospektif klinik çalışmada taksanların odyovestibüler sistem üzerine etkileri incelenmiştir. Tedavi başında, ortasında ve sonunda hastalar saf ses odyometrisi, konuşmayı ayırt etme skoru ve timpanogram ile takip edilmiş ve taksanların odyovestibüler sistem üzerinde önemli bir yan etkisi saptanmamıştır. Taksanların konuşma frekanslarında işitme üzerine belirgin bir etkisinin olmadığını, bulantı ve kusmanın taksanlara bağlı en sık yan etki olduğunu ve paklitaksel ile tedavi olanlarda bu etkinin daha sık olduğunu bulmuşlardır.¹⁰¹

Ataş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada taksanların ototoksik etkileri sıçan modeli üzerinde histopatolojik yöntemlerle ve ABR yapılarak incelenmiş, aynı zamanda

oluşan toksisitenin doz bağımlı olup olmadığı araştırılmıştır. Paklitakselin hafif-orta dereceli sensörinöral işitme kaybına neden olduğu ve bu etkinin dozdan bağımsız olduğu, minimum dozda ortaya çıktığı ve artan ilaç dozlarında kaybın derecesinin artmadığı görülmüştür. Paklitakselin iyi bilinen nörotoksik etkisi işitme kaybının potansiyel bir nedeni olabilir mi varsayımı üzerinde durulmuş, ancak ABR dalga modellerinde bir anormallik bulunmaması üzerine bu görüş reddedilmiştir. Aynı zamanda paklitakselin kokleada histopatolojik olarak reversible olduğu düşünülen dejeneratif değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Sensörial hücre kaybı izlenmemiştir. Taksanların toksisitesinin morfolojik değişikliklerden ziyade kokleada reversible biyokimyasal ve metabolik değişiklikler oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu bilgiler ışığında hastaların tedavi öncesinde ve tedavi boyunca odyolojik monitörizasyonu tavsiye edilmektedir.¹⁰ Bizim çalışmamızda da Grup 3' e ait histopatolojik kesitlerde belirgin hasar olması paklitakselin koklear patolojiye neden olduğunu, tedavi sonrası DPOAE amplitüdlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş izlenmesi de yüksek frekanslardaki ototoksik etkisini açıklamaktadır.

Paklitakselin antineoplastik etkisinin mekanizması iyi tarif edilmiş olsa da, tüylü hücre kaybına ve korti organ hasarına neden olan hücresel mekanizma iyi anlaşılamamıştır. Ayrıca kokleada paklitaksel alımının ve birikiminin olduğu hücresel alanlar tanımlanmamıştır. Paklitaksel doğrudan serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açabilir veya apoptozis mekanizmalarını tetikleyebilecek reaktif oksijen moleküllerinin mitokondride tutulmasını tetikleyebilir. Sonuç olarak kokleada antioksidan tükenmesi ve lipid peroksidasyonunun sonucu olarak hasar meydana gelmektedir. Sıçan modeli üzerinde yapılan bir çalışmada paklitaksel ile oluşturulan ototoksistide antioksidan özellikleri olan curcuminin koruyucu rolü incelenmiştir. Çalışmada DPOAE, histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak ototoksistite gösterilmiştir ve curcuminin apoptozisin önlenmesinde önemli ölçüde yardımcı olabileceği, antioksidan özelliklerinden dolayı koklear morfolojiyi ve fonksiyonları koruyabileceği sonucuna varılmıştır.^{102, 103}

Bizim çalışmamıza da paklitaksel ile birlikte antioksidan özelliklere sahip karvakrolün verildiği gruplarda DPOAE amplitüdlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptanmaması ve histopatolojik bulgularda belirgin iyileşme saptanması karvakrolün toksik etkiyi azaltmada faydalı olduğunu düşündürmektedir.

Klinik çalışmalarda paklitaseLin hafif-orta dereceli sensörinöral işitme kaybına yol açtığını öne sürülse de tüylü hücre, koklear destek hücreleri ve nöronlar üzerine toksik etkinin doğasını ve yerini aydınlatacak doğrudan kanıt bulunmamaktadır.^{98, 104} Bu amaçla ototoksisitenin araştırıldığı bir deneysel çalışmada ise, düşük doz paklitakselin tüylü hücre sterosilyasına zarar verebilmesine rağmen, kütiküler tabaka üzerinde çok az etkisinin olduğu, buna karşın işitsel sinir lifleri üzerinde önemli hasar ve kayba neden olduğu gösterilmiştir. Daha yüksek dozlarda ise hem tüylü hücrelerde hem de sinir liflerinde önemli ölçüde hasar izlenmiştir. Kokleadaki spiral ganglion nöronu kaybı odyogram ile ölçülen işitme eşiği yükselmesine sebep olmaz. Bu etki de paklitakselin majör bir ototoksik ilaç olarak tanımlanmadığı gerçeğini açıklar.¹⁰⁵

Antineoplastik ajanların sitotoksisitesi ve doku penetrasyonu nedeniyle birçoğu iç kulağa girme ve işitme kaybına sebep olma potansiyeline sahiptir.¹⁰⁶ Antikanser ilaçların kanser hücrelerini öldürdüğü tipik mekanizmalar, çoğalmayan tüylü hücrelerde ve iç kulaktaki nöronlarda hücre ölümünü indükleyen süreçlerden oldukça farklı olabilir. Hirose ve arkadaşları 88 antineoplastik ajanı taramışlardır. Bu ilaçların çoğu kombine tedavide sinerjist olarak tüylü hücre kaybını artırmıştır. Ne yazık ki bu ilaçların işitme kaybına yol açma potansiyelinin klinik bulgulara dayanarak yorumlanması zordur. Çünkü hastalar genellikle çoklu ajanlarla tedavi edilir ve bu da herhangi bir ilaç için ototoksisitenin tespiti zorlaştırır.^{98,107-109}

Paklitakselin toksik mekanizması göz önüne alındığında, β -tübülünün çeşitli izoformları hem tüylü hücrelerde, hem de nöronlarda eksprese edildiğinden, işitsel sinir liflerinde ve spiral ganglion nöronlarında önemli hasar meydana gelmesi şaşırtıcı değildir. Mikrotübüller aksonal transportta önemli rol oynamaktadır ve paklitaksel mikrotübül stabilleyici bir ajan olduğundan aksonal transportu bozarak sinir liflerinin dejenerasyonuna yol açması beklenir.^{110, 111} Paklitaksel ile permeabilite transition porların açılması mitokondrinin çeşitli iyonlara geçirgenliğinin artmasına ve mitokondriden kalsiyum salınımına neden olarak oksidatif stresin artmasına ve apoptotik hücre ölümüne yol açar. Ayrıca paklitakselin kortikal nöronlarda da apoptozisi başlattığı bildirilmiştir.^{112, 113} Bizim çalışmamızda da antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan GSH ve SOD' un koklea dokusundaki aktivasyonu paklitaksel alan grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşerken, oksidatif hasarın göstergesi olan MDA düzeylerinde artış saptanması paklitakselin antioksidan savunma

sistemlerini olumsuz etkileyerek oksidatif hasar sonucu ototoksisite oluşturduğunu göstermektedir.

Ototoksisite ile ilgili pek çok çalışmada dış tüylü hücrelerin ölümünden apoptozis sorumlu gösterilmiştir.¹¹⁴ Bir dizi çalışma ile de antioksidanların, antineoplastikler tarafından oluşturulan ototoksisitede koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.¹¹⁵⁻¹¹⁹ Deneysel bir çalışmada, bir ginko biloba ekstresi olan Egb761 maddesinin koruyucu etkisi üzerinde çalışılmış ve otoprotektif olduğu yönünde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.¹²⁰ Bir diğer çalışmada ise kanamisin ile birlikte tiroksin verilen hayvanlarda daha az tüylü hücre hasarı saptanmış ve bu etkinin tiroksinin hücre oksidasyon mekanizmaları üzerindeki düzenleyici etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür.¹²¹ Aminoglikozidlerin ototoksik etkilerini önlemek amacıyla yapılan bir çalışmada ise glutatyon verilmesi sonucu tüylü hücreler üzerindeki toksik etkinin azaldığı ve işitme kaybının önlendiği sonucuna varılmıştır. Glutatyonun organizmayı serbest oksijen radikallerinin hasarından koruduğu ve serbest radikallerin ototoksisiteye neden olduğu bilindiği için glutatyonun ototoksisitede koruyucu olduğu varsayımı ileri sürülmüştür.¹²²

E vitamininin koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, hem ABR kayıtlarında hem de elektron mikroskopik incelemelerde koklear hasarın daha az olduğu gösterilmiştir ve bir antioksidan olan E vitamininin ototoksisitede koruyucu rol oynadığı ortaya koyulmuştur.¹²³ E vitamini tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan form alfatokoferoldür. E vitamini lipofilik olduğundan membran spesifik bir antioksidandır. Lipid peroksil radikalini ortadan kaldırarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırır ve bu özelliği nedeniyle zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir.¹²⁴

N-asetil sistein (NAC)'in ototoksisitedeki koruyucu etkisi ABR ölçümlerinde anlamlı yanıtlar elde edilerek gösterilmiştir.¹²⁵ Wang ve arkadaşları ise otoprotektif etkisi bilinen bir ajan olan sodyum tiosülfatı intrakoklear perfüzyon şeklinde uygulamışlar ve histolojik kesitlerde dış tüylü hücrelerde tama yakın bir korunma tespit etmişlerdir.¹²⁶ Salisilatın kokleadaki total endojen antioksidan miktarını arttırdığı ve otoprotektif olduğu da çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.^{127,128}

Fetoni ve arkadaşları tioproninin koruyucu etkisini incelemişler ve sisplatin ile birlikte tiopronin alan grupta DPOAE amlitüdlerinde kayda değer bir düşüş

saptamamışlardır. Kokleada da tek başına sisplatin alan gruba kıyasla daha az hasarlanma saptamışlardır.¹²⁹ Diğer bir çalışmada da D-metioninin etkisi incelenmiş ve dış tüylü hücrelerde hasar gelişmemiş ve ABR ölçümlerinde tam bir korunma olduğu görülmüştür. L-metioninin de koruyucu olduğu farklı bir çalışmada raporlanmıştır.^{130, 131}

Ototoksisitede koruyucu etkisi araştırılan ajanlar arasında ebselen ve bir metal şelatörü olan 4-metiltiobenzoikasit (MTBA) vardır. Antioksidan enzim aktivitesindeki düşüşü engellemek ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmek suretiyle otoprotektif etkili oldukları gösterilmiştir.¹³²

Kortikosteroidlerin iç kulakta serbest oksijen radikallerinin oluşumunu sınırladıkları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.^{133, 134} Palmer ve arkadaşları, deksametazon ve hidrokortizonun NO ile indüklenen hücre hasarını azalttığını tespit etmişlerdir.¹³⁵ Farelerin iç kulaklarında steroid reseptörlerinin bulunması steroidin iç kulakta etkilere neden olabileceğini göstermektedir.¹³⁶ Aminoglikozid toksisitesi üzerine yapılan hayvan çalışmalarında da kortikosteroidlerin koruyucu etkileri gösterilmiştir.^{137, 138} Özellikle son yıllarda güncel bir uygulama olan intratimpanik (İ.T) uygulama ile yuvarlak pencere membranından iç kulağa kolaylıkla difüze olabilmekte ve iç kulakta yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedirler. Böylece sistemik uygulamanın yan etkilerinden de kaçınılmış olur.^{136,139-141} Hill ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada İ.T deksametazonun otoprotektif etkilerini incelemişler ve ABR eşik değerleri üzerinde koruyucu etki saptamışlardır.¹⁴²

Doğal bir katkı maddesi ve monoterpenik bir fenol olan karvakrolün antitümör, antimikrobik ve antidepresan benzeri aktiviteleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada orta serebral arterinde oklüzyon olan fare modelinde serebral iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılmış ve infarkt hacmini ve nörolojik defisitleri önemli ölçüde azalttığı ve etkinin doza bağımlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca bir apoptotik süreç belirteci olan kaspaz-3 seviyelerini önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır ki bu da karvakrolün antiapoptotik aktivitesini düşündürmektedir.¹⁴³

Aristatle ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada ise UVB ışınları ile insan lenfositlerinde oluşan DNA hasarı ve oksidatif strese karvakrolün etkisi araştırılmış ve karvakrolün antioksidan özellikte olduğu gösterilmiştir.¹⁴⁴ Karvakrol ve pomegranatın, metotreksat ile indüklenen toksisitede nöroprotektif etkilerinin incelendiği bir

çalışmada, metotreksatin sinir dokusunda belirgin oksidatif stres ve enflamasyon oluşturduğu ve karvakrolün antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca ilk defa hem karvakrolün, hem de pomegranatın proinflatuar yanıtı azalttığı kanıtlanmıştır.¹⁴⁵

Bizim çalışmamızda da antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan GSH ve SOD' un koklea dokusundaki aktivasyonu paklitaksel alan grupta önemli ölçüde düşerken, karvakrol uygulanan gruplarda kontrol grubu kadar olmasa da yüksek aktivasyon değerleri bulunmuştur. Aynı şekilde paklitaksel, sıçan kokleasında lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ve oksidatif hasarın ortaya konulmasında önemli bir parametre olan MDA düzeylerinde artışa neden olurken, karvakrol antioksidatif etki ile bu artışı önleyerek kontrol grubuna yakın seviyelerde tutmaktadır. Bu veriler ışığında paklitakselin antioksidan savunma sistemlerini olumsuz etkileyerek oksidatif hasar sonucu ototoksisite oluşturduğunu, karvakrolün ise antioksidan enzim aktivasyonu ile bu olumsuz etkiyi azaltarak koklear fonksiyonları koruduğunu söylemek mümkündür.

Sağlıklı kokleanın yaydığı akustik enerji dış kulak yolundan objektif olarak ölçülebilir. Kokleanın hassas yapıları olan dış tüylü hücrelerin durumu ve koklear hasar, sensitif bir şekilde otoakustik emisyonlar ile monitörize edilebilir.¹⁴⁶ Otoakustik emisyonlar küçük deney hayvanlarında bile kolaylıkla alınabilmektedir.¹⁴⁷ Doğru emisyon elde edebilmek için dış kulak ve orta kulak yapılarının sağlıklı olması gerekir. Biz de bu nedenle ölçümlere başlamadan önce tüm sıçanlara otoskopik muayene yaparak buşon ve orta kulak patolojisi olmayan sağlıklı sıçanları çalışmaya dahil ettik.

Ototoksik ilaçlar dış tüylü hücrelere hasar vererek emisyonların oluşmasını engellerler. Otoakustik emisyonlar frekans spesifiktir. Eğer ilaç koklea hasarı yapmışsa o frekanstaki emisyon hemen etkilenir.²⁴ Bizim çalışmamızda da sadece paklitaksel alan grupta 6000 ve 8000 Hz frekanslarında düşüş olması ilacın yüksek frekanslardaki ototoksik etkisini göstermektedir.

Ototoksisiteden korunmanın yollarını bulmak için yıllardır pek çok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya da devam etmektedir. Ototoksisitenin önlenmesi amacıyla şu ana kadar tedavi öncesinde ve sonrasında geçerli bir önlem saptanmamıştır. Otoprotektif amaçla kullanılabilecek ajanlar hakkında bir fikir birliği bulunmamaktadır.

Biz daha önce pek çok çalışmada antioksidan ve nöroprotektif etkileri gösterilmiş, ancak ototoksisitede koruyucu etkisi henüz bildirilmemiş bir ajan olan

karvakrolün otoprotektif etkisini araştırdık. Sonuçlar paklitaksele bağlı ototoksisitede sistemik karvakrol uygulamasının DPOAE, histopatolojik yöntemler ve antioksidan parametreler ile değerlendirildiğinde potansiyel koruyucu bir role sahip olduğunu, antioksidan ve nöroprotektif özelliklerinden dolayı koklear morfolojiyi ve fonksiyonları koruyabileceğini gösterdi.



6. SONUÇLAR

1. Sadece Paklitaksel verilen gruptaki DPOAE ölçümlerinde 6000 ve 8000 Hz frekanslarında tedavi sonunda istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edilmiştir ($p<0.05$).
2. Paklitaksel ile birlikte karvakrol verilen gruplarda DPOAE ölçümlerinde tedavi sonunda istatistiksel fark saptanmamıştır ($p>0.05$).
3. Sadece Paklitaksel verilen gruptaki sıçan kokleasında istatistiksel olarak anlamlı histopatolojik hasar meydana gelmiştir ($p<0.001$).
4. Paklitaksel ile birlikte karvakrol verilen gruplardaki sıçan kokleasında histopatolojik bulgular kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p>0.001$).
5. Sadece Paklitaksel verilen gruptaki sıçan kokleasında oksidatif hasar belirteci olan MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış, antioksidan enzimlerden SOD ve GSH aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş izlenmiştir ($p<0.001$).
6. Paklitaksel ile birlikte karvakrol verilen gruplarda MDA düzeyleri , sadece paklitaksel alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük, SOD ve GSH seviyeleri ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$).

KAYNAKLAR

1. Chiodo AA, Alberti PW. Experimental, clinical and preventive aspect of ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1994; 251 (7): 375-92.
2. Stringer SP, Meyerhoff WL, Wright CG. Ototoxicity. In: Paparella MM, Shumrick DA (eds). *Otolaryngology, Vol II*, Philadelphia, WB. Saunders Company, 1991: 46, 1653-1669.
3. Kerr AG, Booth JB. *Scott-Brown's Otolaryngology*. London, Butterworth International Editions, 1987: 465.
4. Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature*, 1979, 277: 665-667.
5. Ringel I, Horwitz SB. Studies with RP 56976 (Taxotere): A semisynthetic analogue of taxol. *J. Natl. Cancer Inst*, 1991, 83: 288-291.
6. Schwab CL, English DP, Roque DM, Santin AD. Taxanes: their impact on gynecologic malignancy. *Anticancer Drugs*, 2014, 25: 522-535.
7. Bachegowda LS, Makower DF, Sparano JA. Taxanes: impact on breast cancer therapy. *Anticancer Drugs*, 2014, 25: 512-521.
8. Joshi M, Liu X, Belani CP. Taxanes, past, present, and future impact on non-small cell lung cancer. *Anticancer Drugs*, 2014, 25:571-583.
9. Misiukiewicz K, Gupta V, Bakst R, Posner M. Taxanes in cancer of the head and neck. *Anticancer Drugs*, 2014, 25: 561-570.
10. Atas A, Agca O, Sarac S, Poyraz A, Akyol MU. Investigation of ototoxic effects of Taxol on a mice model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2006, 70: 779-784.
11. Ultee A, Kets EP, Smid EJ. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65: 4606-4610.
12. Guarda A, Rubilar JF, Miltz J, Galotto MJ. The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *Int J Food Microbiol*, 2011, 146: 144-150.
13. Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des*, 2008, 14: 3106-3119.

14. Akyıldız N. *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi*. Cilt 1. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2002: 1-87.
15. Aslan A, Belgin E. Kulak anatomisi ve işitme fizyolojisi. İçinde: Koç C (editör). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi*, Ankara, Güneş Tıp Kitapevi, 2004: 45-71.
16. Aslan A. Timpanoplastide cerrahi anatomi, varyasyonlar. İçinde: Uzun C (editör). *Temel Timpanoplasti*. Edirne, Trakya KBB ve BBC Derneği Yayınları 1, 2008: 1-10.
17. Aslan A. Temporal kemik anatomisi. İçinde: Koç C (editör). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. Ankara, Güneş Kitapevi, 2004: 45-56.
18. Gulya AJ. *Anatomy of the temporal bone with surgical implications*. 3rd. ed. New York, Informa Healthcare, 2007: 31-136.
19. Austin DF. Kulak anatomisi. In: Ballenger JJ, Snow JB (eds). Hafız G. çev. ed. *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2000: 838-57.
20. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (eds). *Otolaryngology Head & Neck Surgery*, 3rd ed. St Louis, Mosby-year Book, 1998: 2533-2546.
21. Janfaza P, Nadol JB. Temporal kemik. In: Janfaza P, Nadol JB, Gala R, Fabian RL, Montgomery WW (eds). Cansız H, çev. ed. *Baş Boyun Cerrahi Anatomisi*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 420-479.
22. Berkovitz BKB (Ed.). External and middle ear. In: Standring S (ed). *Gray's Anatomy*, 39th ed. Edinburgh, Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 38: 649-661.
23. Goycoolea MV, Marting G, Marting G. Anatomy of the ear. In: de Souza C, Goycoolea MV, Ruah CB (eds). *Textbook of the Ear Nose and Throat*. New York, Orient Longman, 1995: 4-12.
24. Lafreniere D, Smurzynski J, Jung MS, Leonard G, Kim DO. Otoacoustic emissions in full -term newborns at risk for hearing loss. *Laryngoscope*, 1993, 103: 1334-41.

25. Akalın HE. Aminoglikozidler. *Antibiyotik bülteni*, 1992, 2: 3-9.
26. Erdem T. Otoakustik emisyonların klinikte kullanım alanları (Çeşitli tiplerde işitme kaybı gösteren veya işitme taraması yapılan 166 olgunun 287 kulağı üzerinde yapılan çalışma). Uzmanlık Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 1998.
27. Karasalihoğlu AR. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*, 3. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2003.
28. Sha S, Schacht J. Salicylate Attenuates Gentamicin-Induced Ototoxicity. *Lab Invest*, 1999, 79: 807-813.
29. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi 1. cilt*. Ankara, Güneş Kitabevi, 1997: 752-811.
30. Erixon E, Högstorp H, Wadin K, Rask-Anderson H. Variational anatomy of the human cochlea: Implications for cochlear implantation. *Otol Neurotol*, 2009, 30: 14-22.
31. Ömür M, Dadaş B. *Klinik Baş ve Boyun Anatomisi 1.cilt*. İstanbul, Ulusal Tıp Kitabevi, 1996.
32. Donaldson JA. The ear: adult anatomy. In: Donaldson JA, Duckert LG, Lambert PM, Rubel EW (eds). *Surgical Anatomy of the Temporal Bone*, New York, Raven Pres, 1992: 143-75.
33. Ickleys OJ. Physiology of the ear. In: Wright D (ed). *Scott-Brown's Otolaryngology*, 5th ed. London, Butterworths - Heinemann, 1998: 47-80.
34. Santi PA, Mancini P. Cochlear anatomy and central auditory pathways. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (eds). *Otolaryngology Head & Neck Surgery*, 3 rd ed. St. Louis, Mosby-Year Book, 1998: 2803- 2826.
35. Lee KJ. *Anatomy of the ear. Essential Otolaryngology*. Connecticut, Appleton&Lange Company, 1999.
36. Donaldson JA, Duckert L. Anatomy of the Ear. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (eds). *Otolaryngology*, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1991: 23-58.
37. Dirckx JJ, Daemers K, Somers T, Offeciers FE, Govaerts PJ. Numerical assessment of TOAE screening results: currently used criteria and their effect on TOAE prevalence figures. *Acta Otolarygol*, 1996, 116: 672-79.

38. Lawrence M. Introduction to inner ear (Fluid) physiology. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhof WL (eds). *Otolaryngology*, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1991: 199-217.
39. Doyle KJ, Rodgers P, Fujikawa S, Newman E. External and middle ear effects on infant hearing screening test results. *Otolaryngol Head and Neck Surg*, 2000, 122: 477-81.
- 40- Bonfils P, Avan P. Distortion product otoacoustic emissions values for clinical use. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1992, 118: 1069-76.
41. Bluestone CD. Physiology of the Middle Ear and Eustachian Tube. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (eds). *Otolaryngology*, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1991: 163-97.
42. Brenda L, Lonsbury-Martin, Martin GK, Luebke AE. İşitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. In: Ballenger JJ, Snow JB (eds). Şenocak D, çev. ed. *Otolaringoloji Baş Boyun cerrahisi*, 15. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996: 879-929.
43. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1997, 117: 438-47.
44. Zimmer WM, Deborah FR, Saunders JC. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anat Rec*, 1994, 239: 475-484.
45. Daniel HJ, Fulghum RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1982, 91: 82-89.
46. Hellström S, Stenfors LE. The pressure equilibrating function of pars flaccida in middle ear mechanics. *Acta Physiol Scand*, 1983, 118: 337-41.
47. Albiin N, Hellström S, Stenfors L-E, Cerne A. Middle ear mucosa in rats and humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1986, 126 (Suppl): 2-15.
48. Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy of the laboratory rat*. Baltimore, Williams & Wilkins Co, 1976.
49. Hellström S, Salen B, Stenfors L-E. Anatomy of the rat middle ear. A study under the dissection microscope. *Acta Anat*, 1982, 112: 346-52.

50. Özçağlar HÜ, Güzel P. Ototoksisite. *Türkiye Klinikleri J.E.N.T Special Topics*, 2015, 8 (3): 67-70.
51. Rybak LP, Ramkumar V. Ototoxicity. *Kidney Int*, 2007, 72: 931-935.
52. Beeck KO, Schacht J, Camp GV. Apoptosis in acquired and genetic hearing impairment: The programmed death of the hair cell. *Hearing Research*, 2011, 281: 18-27.
53. Yorgason JG, Fayad JN, Kalinec F. Understanding drug ototoxicity: molecular insights for prevention and clinical management. *Expert Opin Drug Saf*, 2006, 5(3): 383-99.
54. Schacht J, Talaska AE, Rybak LP. Cisplatin and aminoglycoside antibiotics: hearing loss and its prevention. *AnatRec (Hoboken)*, 2012, 295 (11): 1837-50.
55. Park YH. Stem cell therapy for sensorineural hearing loss, still alive? *J Audiol Otol*, 2015, 19 (2): 63-7.
56. Wani MC, Taylor HL, Wall ME, Coggon P, McPhail AT. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc*, 1971, 93: 2325-2327.
57. Arbuck SG, Blaylock BA. Taxol: Clinical results and current issues. In Suffness M (ed). *Taxol: Science and Applications*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1995: 379-415.
58. USPDI, 19th Ed., Micromedex Inc., Syracuse Way, 1999.
59. Rodriguez-Antona C. Pharmacogenomics of paclitaxel. *Pharmacogenomics*, 2010, 11(5): 661-663.
60. Levent E. Akciğer kanserinde uygulanan kemoterapötiklerin farmakodinamisi ders notu. Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı.
61. Chaudhry V, Rowinsky EK, Sartorius SE, Donehower RC, Cornblath DR. Peripheral neuropathy from taxol and cisplatin combination chemotherapy: clinical and electrophysiological studies. *Ann. Neurol*, 1994, 35: 304-311.
62. Flatters SJL, Bennett GJ. Studies peripheral sensory nerves in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy: Evidence for mitochondrial dysfunction. *Pain*, 2006, 122: 245-257.

63. Evangelic A, Kallpousos G, Karkaponnas S, Liasko R, Nonni A, Stefanou D, Kallistratos G. Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants, anticarcinogenesis on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. *Cancer Lett*, 1997, 115: 105-111.
64. De Vincenzi M, Stamatati A, De Vincenzi A, Silano M. Constituents of aromatic plants: carvacrol. *Fitoterapia*, 2004, 75: 801-804.
65. Ultee A, Slump R.A, Steging G, Smid E.J. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *J Food Prot*, 2000, 63: 620-624.
66. Ultee A, Bennik M.H, Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68: 1561-1568.
67. Roller S, Seedhar P. Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in freshcut melon and kiwifruit at 4 degrees and 8 degrees C. *Lett Appl Microbiol*, 2002, 35: 390-394.
68. Olasupo NA, Fitzgerald DJ, Narbad A, Gasson MJ. Inhibition of *Bacillus subtilis* and *Listeria innocua* by nisin in combination with some naturally occurring organic compounds. *J Food Prot*, 2004, 67: 596-600.
69. Lu Y, Wu C. Reduction of *Salmonella enterica* contamination on grape tomatoes by washing with thyme oil, thymol, and carvacrol as compared with chlorine treatment. *J Food Prot*, 2010, 73: 2270-2275.
70. Kisko G, Roller S. Carvacrol and p-cymene inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *BMC Microbiol*, 2005, 5: 36.
71. Guillen F, Zapata PJ, Martinez-Romero D, Castillo S, Serrano M, Valero D. Improvement of the overall quality of table grapes stored under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds. *J Food Sci*, 2007, 72: 185-190.
72. Hagan EC, Hansen WH, Fitzhugh OG, Jenner PM, Jones WI, Taylor JM, Long EL, Nelson AA, Brouwer JB. Food flavourings and compounds of related structure. II. Subacute and chronic toxicity. *Food Cosmet Toxicol*, 1967, 5: 141-157.
73. Andersen A. Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol,

- isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. *Int J Toxicol*, 2006, 25 Suppl 1: 29-127.
74. Alma MH, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26: 1725-1729.
 75. Radonic A, Milos M. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L. *Free Radic Res*, 2003, 37: 673-679.
 76. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against *Vibrio cholerae* in food. *J Biosci Bioeng*, 2010, 110: 614-619.
 77. Ravishankar S, Zhu L, Reyna-Granados J, Law B, Joens L, Friedman M. Carvacrol and cinnamaldehyde inactivate antibiotic-resistant *Salmonella enterica* in buffer and on celery and oysters. *J Food Prot*, 2010, 73: 234-240.
 78. Rivas L, McDonnell MJ, Burgess CM, O'Brien M, Navarro-Villa A, Fanning S, Duffy G. Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. *Int J Food Microbiol*, 2010, 139: 70-78.
 79. Jayakumar S, Madankumar A, Asokkumar S, Raghunandhakumar S, Gokula dhas K, Kamaraj S, Divya MG, Devaki T. Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Mol Cell Biochem*, 2012, 360: 51-60.
 80. Arunasree KM. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*, 2010, 17: 581-588.
 81. Melo FH, Moura BA, de Sousa DP, de Vasconcelos SM, Macedo DS, Fontales MM, Viana GS, de Sousa FC. Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement of dopaminergic system. *Fundam Clin Pharmacol*, 2011, 25: 362-367.
 82. Canbek M, Uyanoglu M, Bayramoglu G, Senturk H, Erkasap N, Koken T, Uslu S, Demirustu C, Aral E, Husnu Can Baker K. Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver. *Phytomedicine*, 2008, 15: 447-452.

83. Martin GK, Probsts R, Lonsbury-Martin BL. Otoacoustic emissions in human ears: normative findings. *Ear Hear*, 1990, 11: 106-20.
84. Özturan O, Lew H, Jerger J. Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. *KBB İhtisas Dergisi*, 1994, 2: 194-205.
85. Kemp DT. Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms. *Hear Res*, 1986, 22: 95-104.
86. Köhler W, Fritze W. A long-term observation of spontaneous oto-acoustic emissions. *Scand Audiol*, 1992, 21: 55-8.
87. Lonsbury-Martin BL, Martin G. The clinical utility of distortion product otoacoustic emissions. *Ear Hear*, 1990, 11: 144-54.
88. Robinette MS, Glatke TJ. Otoacoustic Emissions. In: Roeser RJ, Valente M, HosfordDunn H. *Audiology: Diagnosis*. New York, Thieme Medikal Publishers, 2000: 503-526.
89. Kemp DT, Brown AM. Ear canal acoustic and round window electrical correlates of 2f1f2 generated in the cochlea. *Hear Res*, 1984, 13: 39-46.
90. Larsen H, Angelborg C, Hultcrantz E. The effect of glycerol on cochlear blood flow. *Arch Otolaryngol*, 1981, 44: 101-107.
91. Whitehead M, Lonsbury-Martin BL, Martin G. Evidence for two discrete sources of 2f1f2 distortion product otoacoustic emissions in rabbit. Differential dependence on stimulus parameters. *J Acoust Soc Am*, 1992, 91: 1587-607.
92. Chang KW, Vohr BR, Norton SJ, Lekas MD. External and middle ear status related to evoked otoacoustic emission in neonates. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1993, 119: 276-282.
93. Kileny PR, Zwolan TA. Diagnostic and rehabilitative audiology. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE (eds). *Otolaryngology Head & Neck Surgery*, 3rd ed. St. Louis, Mosby-Year Book, 1998: 2875- 2893.
94. O'neal J, Finitzo T, Littman TA. Neonatal hearing screening: Follow-up and diagnosis. In: Roeser RJ, Valente M, Hosford-Dunn H. *Audiology: Diagnosis*. New York, Thieme Medical Publishers, 2000: 527-544.

95. McGuire WP, Rowinsky EK, Rosenshein NB, Grumbine FC, Ettinger DS, Armstrong DK, Donehower RC. Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasms. *Ann Intern Med*, 1989, 111: 273-279.
96. Hsieh IC, Hsieh MJ, Chang SH, Wang CY, Lee CH, Lin FC, Chen CC. Acute and long-term outcomes of ostial stentings among bare-metal stents, sirolimus-eluting stents, and paclitaxel-eluting stents. *Coron Artery Dis*, 2013, 24: 224-230.
97. Siau C, Xiao W, Bennett GJ. Paclitaxel- and vincristine-evoked painful peripheral neuropathies: loss of epidermal innervation and activation of Langerhans cells. *Exp Neurol*, 2006, 201: 507-514.
98. Tibaldi C, Pazzagli I, Berrettini S, De Vito A. A case of ototoxicity in a patient with metastatic carcinoma of the breast treated with paclitaxel and vinorelbine. *Eur J Cancer*, 1998, 34: 1133-1134.
99. Cavaletti G, Bogliun G, Crespi V, Marzorati L, Zincone A, Marzola M, Rota S, Galli A, Tredici P, Tredici G. Neurotoxicity and ototoxicity of cisplatin plus paclitaxel in comparison to cisplatin plus cyclophosphamide in patients with epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol*, 1997, 15: 199-206.
100. Wandt H, Birkman J, Denzel T, Schafer K, Schwab G, Pilz D, Egger H, Both A, Gallmeier WM. Sequential cycles of high-dose chemotherapy with dose escalation of carboplatin with or without paclitaxel supported by G-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells: a phase I/II study in advanced ovarian cancer. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 23: 763-770.
101. Sarafraz M, Ahmadi K. Paraclinical evaluation of side-effects of Taxanes on auditory system. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*, 2008, 28: 239-242.
102. Bucak A, Özdemir Ç, Ulu Ş, Gonul Y, Aycicek A, Uysal M, Cangal A. Investigation of Protective Role of Curcumin Against Paclitaxel Induced Inner Ear Damage in Rats. *Laryngoscope*, 2015, 125: 1175-1182.
103. Somani SM, Husain K, Whitworth C, Trammell GL, Malafa M, Rybak LP. Dose-dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: antioxidant defense system. *Pharmacol Toxicol*, 2000, 86: 234-241.

104. Gogas H, Shapiro F, Aghajanian C, Fennelly D, Almadrones L, Hoskins WJ, Spriggs DR. The impact of diabetes mellitus on the toxicity of therapy for advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 1996, 61: 22-26.
105. Dong Y, Ding D, Jiang H, Shi JR , Salvi R , Roth JA. Ototoxicity of paclitaxel in rat cochlear organotypic cultures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2014, 280: 526-533.
106. Cummings CW. Experimental observations on the ototoxicity of nitrogen mustard. *Laryngoscope*, 1968, 78: 530-538.
107. Hirose Y, Simon JA, Ou HC. Hair cell toxicity in anti-cancer drugs: evaluating an anti-cancer drug library for independent and synergistic toxic effects on hair cells using the zebrafish lateral line. *J. Assoc. Res. Otolaryngol*, 2011, 12: 719-728.
108. Moss PE, Hickman S, Harrison BR. Ototoxicity associated with vinblastine. *Ann. Pharmacother*, 1999, 33: 423-425.
109. Attili VS, Bapsy PP, Anupama G, Lokanatha D. Irreversible sensorineural hearing loss due to Imatinib. *Leuk Res*, 2008, 32: 991-992.
110. Hallworth R, Luduena RF. Differential expression of beta tubulin isotypes in the adult gerbil cochlea. *Hear Res*, 2000, 148: 161-172.
111. Jensen-Smith HC, Eley J, Steyger PS, Luduena RF, Hallworth R. Cell typespecific reduction of beta tubulin isotypes synthesized in the developing gerbil organ of Corti. *J Neurocytol*, 2003, 32: 185-197.
112. Kidd JF, Pilkington MF, Schell MJ, Fogarty KE, Skepper JN, Taylor CW, Thorn P. Paclitaxel affects cytosolic calcium signals by opening the mitochondrial permeability transition pore. *J Biol Che*, 2002, 277: 6504-6510.
113. Figueroa-Masot XA, Hetman M, Higgins MJ, Kokot N, Xia Z. Taxol induces apoptosis in cortical neurons by a mechanism independent of Bcl-2 phosphorylation. *J. Neurosci*, 2001, 21: 4657-4667.
114. Rizzi MD, Hirose K. Aminoglycoside ototoxicity. *Curr Op Otolaryngol Head neck Surg*, 2007, 15: 352-357

115. Feghali JG, Liu W, Van De Water TR. L-n-acetyl-cysteine protection against cisplatin-induced auditory neuronal and hair cell toxicity. *Laryngoscope*, 2001, 111: 1147-1155.
116. Choe WT, Chinosornvatana N, Chang KW. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otol Neurotol*, 2004, 25: 910-915.
117. Church MW, Kaltenbach JA, Blakley BW, Burgio DL. The comparative effects of sodium thiosulfate, diethyldithiocarbamate, fosfomycin and WR-2721 on ameliorating cisplatin-induced ototoxicity. *Hear Res*, 1995, 86: 195-203.
118. Campbell KC, Rybak LP, Meech RP, Hughes L. D-methionine provides excellent protection from cisplatin ototoxicity in the rat. *Hear Res*, 1996, 102: 90-98.
119. Rybak LP, Whitworth C, Somani S. Application of antioxidants and other agents to prevent cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope*, 1999, 109: 1740-1744.
120. Huang X, Whitworth C, Rybak LP. Ginko Biloba Extract (Egb 761) Protects Against Cisplatin-Induced Ototoxicity in Rats. *Otology Nuerotology*, 2007, 28(6): 828-833.
121. Schacht J. Biochemical basis of aminoglycoside ototoxicity. *Otolaryngologic Clin N Am*, 1993, 26 (5): 845-56.
122. Lauterman J, McLaren J, Schacht J. Glutathione protection against gentamicin ototoxicity depends on nutritional status. *Hear Res*, 1995, 86:15-20.
123. Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduced cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope*, 2004, 114 (3): 538-542.
124. Teranishi MA, Nakashima T. Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2003, 67(2): 133-9.
125. Dickey DT, Muldoon LL, Kraemer DF, Neuwelt EA. Protection against cisplatin induced ototoxicity by N-acetylcysteine in a rat model. *Hear Res*, 2004, 193: 25-30.
126. Wang J, Lloyd Faulconbridge RV, Fetoni A, Guitton MJ, Pujol R, Puel JL. Local application of sodium thiosulfate prevents cisplatin-induced hearing loss in the guinea pig. *Neuropharmacology*, 2003, 45: 380-93.

127. Minami SB, Sha SH, Schacht J. Antioxidant protection in a new animal model of cisplatin-induced ototoxicity. *Hear Res*, 2004, 198: 137-43.
128. Li G, Sha SH, Zotova E, Arezzo J, Van de Water T, Schacht J. Salicylate protects hearing and kidney function from cisplatin toxicity without compromising its oncolytic action. *Lab Invest*, 2002, 82: 585-96.
129. Fetoni AR, Quaranta N, Marchese R, Cadoni G, Paludetti G, Sergi B. The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. *Int J Audiol*, 2004, 43(8): 465-70.
130. Korver KD, Rybak LP, Whitworth C, Campbell KM. Round window application of Dmethionine provides complete cisplatin otoprotection. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2002, 126(6): 683-689.
131. Li G, Frenz DA, Brahmbhatt S, Feghali JG, Ruben RJ, Berggren D, Arezzo J, Van de Water TR. Round window membrane delivery of L-methionine provides protection from cisplatin ototoxicity without compromising chemotherapeutic efficacy. *Neurotoxicology*, 2001, 22: 163-76.
132. Rybak LP, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Am J Otol*, 2000, 21: 513-20.
133. Kolls J, Xie J, LeBlanc R, Malinski T, Nelson S, Summer W, Greenberg SS. Rapid induction of messenger RNA for nitric oxide synthase II in rat neutrophils in vivo by endotoxin and its suppression by prednisolone. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1994, 205(3): 220-229.
134. Nagura M, Iwasaki S, Wu R, Mizuta K, Umemura K, Hoshino T. Effects of corticosteroid, contrast medium and ATP on focal microcirculatory disorders of the cochlea. *Eur J Pharmacol*, 1999, 366: 47-53.
135. Palmer RM, Bridge L, Foxwell NA, Moncada S. The role of nitric oxide in endothelial cell damage and its inhibition by glucocorticoids. *Br J Pharmacol*, 1992, 105: 11-2.
136. Hargunani CA, Kempton JB, DeGagne JM, Trune DR. Intratympanic injection of dexamethasone: time course of inner ear distribution and conversion to its active form. *Otol Neurotol*, 2006, 27: 564-569.

137. Himeno C, Komeda M, Izumikawa M, Takemura K, Yagi M, Weiping Y, Doi T, Kuriyama H, Miller JM, Yamashita T. Intra-cochlear administration of dexamethasone attenuates aminoglycoside ototoxicity in the guinea pig. *Hear Res*, 2002, 67: 61-70.
138. Park SK, Choi D, Russell P, John EO, Jung TT. Protective effect of corticosteroid against the cytotoxicity of aminoglycoside otic drops on isolated cochlear outer hair cells. *Laryngoscope*, 2004, 114: 768-771.
139. Parnes LS, Sun AH, Freeman DJ. Corticosteroid pharmacokinetics in the inner ear fluids: an animal study followed by clinical application. *Laryngoscope*, 1999, 109: 1-17.
140. Chandrasekhar SS, Rubinstein RY, Kwartler JA, Gatz M, Connelly PE, Huang E, Baredes S. Dexamethasone pharmacokinetics in the inner ear: comparison of route of administration and use of facilitating agents. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2000, 122: 521-8.
141. Bird PA, Begg EJ, Zhang M, Keast AT, Murray DP, Balkany TJ. Intratympanic versus intravenous delivery of methylprednisolone to cochlear perilymph. *Otol Neurotol*, 2007, 28 :1124-30.
142. Hill GW, Morest DK, Parham K. Cisplatin-induced ototoxicity: effect of intratympanic dexamethasone injections. *Otol Neurotol*, 2008, 29(7): 1005-11.
143. Yu H, Zhang Z-L, Chen J, Pei A, Hua F, Qian X, He J, Liu CF, Xu X. Carvacrol, a Food-Additive, Provides Neuroprotection on Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. *Plos one*, 2012, 7(3): e33584. doi: 10.1371/journal.pone.0033584.
144. Aristatile B, Al-Numair KS, Al-Assaf AH, Veeramani C, Pugalendi KV. Protective Effect of Carvacrol on Oxidative Stress and Cellular DNA Damage Induced by UVB Irradiation in Human Peripheral Lymphocytes. *J Bioche Molecular Toxicology*, 2015, 29(11): 497-507.
145. Çelik F, Göçmez C, Bozkurt M, Kaplan I, Kamasak K, Akıl E, Doğan E, Güzel A, Uzar E. Neuroprotective effects of carvacrol and pomegranate against methotrexate-induced toxicity in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2013, 17: 2988-2993.

146. Kızılay A, Özturan O, Erdem T, Kalcıoğlu MT, Miman MC. Effects of chronic exposure of electromagnetic fields from mobile phones on hearing in rats. *Auris Nasus Larynx*, 2003, 30: 239-45.
147. Brown AM. Acoustic distortion from the rodent ears: A comparison of responses from rats, Guinea Pigs and Gerbils. *Hear Res*, 1987, 31: 25-38.

