

Współczesne spojrzenie na uszkodzenia słuchu spowodowane lekami

Current views on drug-induced hearing loss

ANDRA E. TALASKA, JOCHEN SCHACHT

Kresge Hearing Research Institute, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

Ostatnie dziesięciolecie przyniosło duże postępy w zrozumieniu mechanizmów leżących u podstaw ototoksyczności. Istotne jest, że wiedza uzyskana z tych badań ma istotne znaczenie dla zrozumienia roli, jaką odgrywają aktywne rodniki tlenowe w licznych patologjach ucha wewnętrznego. Aktywne formy tlenu stanowią wspólną ścieżkę patogenetyczną w uszkodzeniach słuchu spowodowanych nie tylko ototoksycznością aminoglikozydów i cis-platyny, lecz również wywołanych narażeniem na hałas i, być może, ubytkami słuchu związanymi z wiekiem. Praktyczne znaczenie znajomości mechanizmów prowadzi do opracowania zasad leczenia. Zmniejszenie objawów ubocznych aminoglikozydów i cis-platyny ma daleko idące skutki dla bezpiecznego ich stosowania, leków, których skuteczność lecznicza jest niekwestionowana.

Słowa kluczowe: reaktywne formy tlenu, aminoglikozydy, cis-platyna, patomechanizm, apoptoza

Częstość występowania głębokich wrodzonych obustronnych uszkodzeń słuchu wynosi około 1-3 na 1000 urodzeń [1]. Około 60% z nich spowodowanych jest czynnikami genetycznymi, podczas, gdy pozostałe są spowodowanych innymi czynnikami np. infekcjami płodu pochodzącymi od matki, powikłaniami okołoporodowymi lub narażeniem na działanie leków ototoksycznych w okresie płodowym [2]. Jeszcze dziesięć lat temu bardzo niewiele wiadomo było na temat genetycznie uwarunkowanych uszkodzeń słuchu, jednakże w dziedzinie

The past decade has brought great advances in our understanding of the mechanisms underlying ototoxicity. Importantly, the knowledge resulting from these studies is having a significant impact on our understanding of the role of reactive oxygen species in a broad range of inner ear pathologies. Reactive oxygen species appear to provide a common pathway not only for aminoglycoside and cisplatin toxicity but also for noise-induced hearing loss, and perhaps age-related hearing impairment. In practical terms, knowledge of the mechanism will drive the design of novel rational therapeutic interventions. The amelioration of adverse effects of aminoglycosides and cisplatin will have far reaching implications for the safe use of drugs whose primary efficacy is unquestioned.

Key words: reactive oxygen species, aminoglycosides, cis-platin, patomechanism, apoptosis

tej zanotowano zdumiewający postęp, do czego przyczynił się rozwój technologii klonowania, mapowania i skryningu genów. Dotychczas zidentyfikowano około 100 genów związanych z genetycznymi uszkodzeniami słuchu. Do najważniejszych z nich należą różne mutacje kodowania białek koneksyny, które grupują się w okolicy połączeń komórkowych (*gap junctions*) w uchu wewnętrznym; są one odpowiedzialne za największy odsetek głuchot wrodzonych [3].

Nabyte uszkodzenia słuchu, podobnie jak genetyczne i wrodzone, mogą objawiać się w różny sposób, w tym jako nagła głuchota, upośledzenie słuchu fluktuacyjne czy postępujące na przestrzeni tygodni, miesięcy lub lat. Jedną z najczęstszych chorób spowodowanych warunkami pracy są uszkodzenia słuchu spowodowane hałasem, przy czym około 10% osób populacji światowej jest co dzień narażonych na potencjalnie szkodliwe poziomy hałas. Uszkodzenia słuchu spowodowane hałasem oraz ekspozycją na rozpuszczalniki organiczne są przedmiotem badań ze względu na przewlekłość narażenia oraz niemożność wyeliminowania tych czynników szkodliwych

Nadesłano: 13.10.2005

Oddano do druku: 22.02.2006

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Jochen Schacht

Kresge Hearing Research Institute, University of Michigan,

1301 East Ann Street, Ann Arbor MI 48109-0506, USA

tel. (734) 763-3572, fax (734) 764-0014; e-mail: schacht@umich.edu

z otoczenia. Uszkodzenie słuchu związane z wiekiem (*presbycusis*) są następnym rodzajem nabytych uszkodzeń słuchu, które dotyczą prawie wszystkie osoby żyjące wystarczająco długo: prawie połowa populacji wykazuje *presbycusis* w wieku 50 lat, zaś w wieku 80 lat i powyżej jest ono obecne u 90% osób w populacji. Mimo, że *presbycusis* może być objawem ogólnego starzenia się organizmu, ma również najprawdopodobniej podłoże genetyczne.

Duży odsetek nabytych uszkodzeń słuchu może być związany z narażeniem na substancje ototoksyczne, czyli leki i substancje chemiczne, które mogą uszkadzać słuch lub narząd równowagi. Aktualnie lista znanych substancji ototoksycznych ma szeroki zakres – od rozpuszczalników przemysłowych, takich jak toluen i tlenek węgla, do związków chelatujących jak deferoksamina podawana pacjentom z talasemią, u których występuje podwyższony poziom żelaza we krwi oraz leków moczopędnych, włączając diuretyki pętlowe, leki przeciwmalaryczne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i wiele antybiotyków przeciwbakteryjnych. Efekty szkodliwe substancji ototoksycznych różnią się w zależności od miejsca ich działania (droga słuchowa lub układ równowagi), powodowanych objawów chorobowych (szumy uszne, zawroty głowy, utrata słuchu) i ich odwracalności (czasowy lub trwały ubytek słuchu) (tab. I). Poniższy przegląd danych literaturowych obejmuje dwie z najważniejszych i aktualnie stosowanych grup leków tj. antybiotyków aminoglikozydowych i leku przeciwnowotworowego - cisplatyny.

Antybiotyki aminoglikozydowe

Przeciwbakteryjne działanie antybiotyków aminoglikozydowych po raz pierwszy zaobserwowali Waksman i wsp. izolując streptomycynę, pierwszy lek z rodziny aminoglikozydów otrzymany z organizmów ziemi w 1944 roku [4]. Odkrycie to było bardzo istotne i na czasie ze względu na walkę z rosnącym problemem gruź-

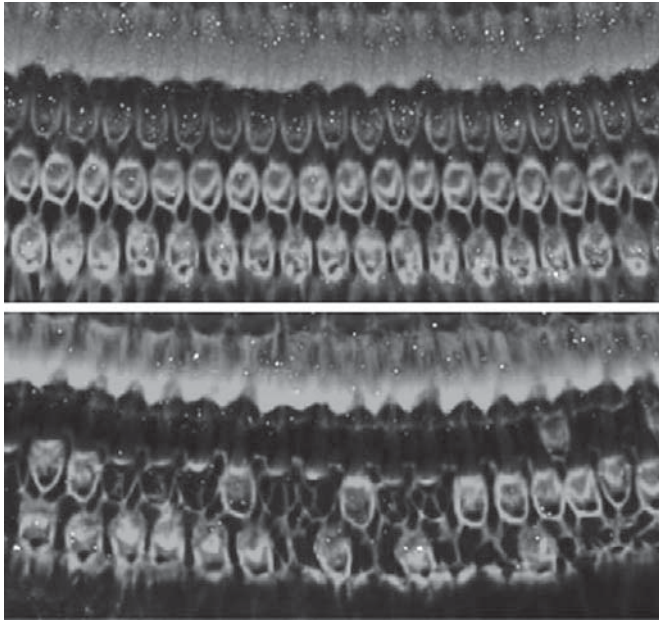
licy, choroby wcześniej nie poddającej się leczeniu. Pomimo, iż po roku od wprowadzenia leku poznano jego ototosyczne i nefrotoksyczne działania uboczne, streptomycyna i odkryte następnie aminoglikozydy (jak kanamycyna, gentamycyna, netlimycyna i inne) były szeroko stosowane ze względu na ich skuteczność w stosunku do szerokiego widma bakterii, szczególnie gramujemnych, takich, jak *Pseudomonas*. Wiele krajów rozwijających się dzisiaj w znacznym stopniu bazuje na tych lekach – często dostępnych bez ewidencjonowania (recepty) – ze względu na ich ogromnie tanią produkcję. Co więcej, aminoglikozydy są integralną częścią terapii zalecanej przez Światową Organizację Zdrowia [5] w przypadku gruźlicy odpornej na inne leki. Dlatego też aminoglikozydy są najczęściej stosowanymi na świecie antybiotykami.

Patofizjologia

Ototoksyczność aminoglikozydów jest spowodowana głównie utratą komórek rzęsatych ślimaka i narządu przedsionkowego. Zniszczenia komórek słuchowych ślimaka, nie mających zdolności regeneracji, dotyczą w pierwszej kolejności trzeciego rzędu komórek słuchowych zewnętrznych, poczynając od podstawy ślimaka postępując w kierunku szczytu (ryc. 1). Degeneracja komórek słuchowych wewnętrznych jest obserwowana później i zwykle jest odwracalna. Inne tkanki ślimaka mogą również zostać uszkodzone przez aminoglikozydy, włączając w to prążek naczyniowy i komórki zwoju spiralnego. Czasami, w ciężkich uszkodzeniach, może pojawić się uogólniona dystrofia narządu Cortiego [6, 7]. Mimo, że następująca utrata komórek słuchowych ma znaczenie największe, degeneracja komórek zwoju spiralnego może mieć wpływ na ewentualną rehabilitację na drodze protezowania narządu słuchu. W błędniku utrata komórek zmysłowych rozpoczyna się w szczycie grzebieni baniek oraz w okolicy prążka płamki i rozprzestrzenia się w kierunku obwodowej części receptora narządu przedsionkowego [8]. Komórki zmysłowe typu I są ogólnie bardziej wrażliwe na działanie ototoksyn, niż

Tabela I. Przykłady substancji ototoksycznych i ich działanie na ucho wewnętrzne

Grupa leków	Przykłady	Działanie na ucho wewnętrzne
Leki przeciwmalaryczne	Chinina, Chlorochina	Uszkodzenie słuchu związane prawdopodobnie z działaniem na prążek naczyniowy
Leki przeciwzapalne	Aspiryna, Naproxen	Szumy uszne, czasowe przesunięcie progu słuchu
Leki przeciwnowotworowe	Cis-platyna, Karboplatyna	Uszkodzenie komórek rzęsatych i trwale przesunięcie progu słuchu
Antybiotyki aminoglikozydowe	Streptomycyna, Gentamycyna, Amikacyna, Kanamycyna, Tobramycyna	Degeneracja komórek zmysłowych ślimaka lub błędnika powodująca odpowiednio uszkodzenie słuchu lub zaburzenia równowagi
Inne leki przeciwbakteryjne	Erytromycyna, Minocyclina, Wankomycyna, Chloramphenikol	Odwracalne ubytki słuchu, pojedyncze przypadki uszkodzeń trwałych
Substancje chelatujące	Deferoksamina	Uszkodzenia komórek rzęsatych i trwale przesunięcie progu słuchu
Leki moczopędne pętlowe	Furosemid, Kwas etakrynowy, bumetanid	Czasowe przesunięcie progu słyszenia, nasilenie uszkodzeń słuchu powodowanych przez aminoglikozydy
Rozpuszczalniki przemysłowe	Toluen, tlenek węgla, styren	Przesunięcie progu słuchu, nasilenie działania innych leków ototoksycznych i hałasu



Ryc. 1. Uszkodzenia komórek słuchowych zewnętrznych przez aminoglikozydy
Rycina ilustruje typowe cechy uszkodzeń komórek rzęsatych ślimaka spowodowane przez aminoglikozydy, hałas czy proces starzenia się. Na górnym zdjęciu przedstawiono prawidłowe komórki słuchowe zewnętrzne narządu Cortiego myszy (preparat powierzchniowy). Komórki barwione są palladem rodaminą, co pozwala na zobrazowanie kierunku ułożenia filamentów aktywny na ich szczytowej powierzchni oraz stereocyliów. Na zdjęciu dolnym widoczne są ubytki komórek rzęsatych, zaś w części, gdzie zanikły komórki słuchowe zewnętrzne – tkanki blizny.

komórki typu II. Pomimo, iż u ssaków komórki rzęsate błędnika mają pewne zdolności regeneracyjne, uszkodzenia błędnika mogą być postępujące i trwałe.

Ponieważ zniszczenia komórek rzęsatych powstają pierwotnie w części podstawnej ślimaka, uszkodzenie słuchu w pierwszej kolejności dotyczy wysokich częstotliwości, obejmując następnie częstotliwości niskie. Proces ten może we wczesnym okresie zostać niezauważony, gdyż diagnostyka wymaga zastosowania audiometrii wysokich częstotliwości, nie stosowanych w rutynowym badaniu. Co więcej, uszkodzenia słuchu mogą postępować (a nawet rozwinąć się) nawet po zakończeniu podawania preparatów ototoksycznych, tak więc związek między stosowaniem leków a uszkodzeniem słuchu może nie być od razu rozpoznany. Uszkodzenia błędnika mogą również zostać niezauważone przez pewien czas, z powodu zdolności układu równowagi do kompensacji niewielkich uszkodzeń.

Częstość

Częstość uszkodzeń słuchu spowodowanych lekami różni się w zależności od rodzaju podanych aminoglikozydów (np. uważa się, że neomycyna jest bardziej toksyczna niż gentamycyna) oraz dawki i czasu leczenia. W kilku badaniach klinicznych ustalono, że uszkodzenia ślimaka występują w 20 do 33% przypadków, natomiast błędnika – w 15% przypadków [9-11]. Efekty uboczne

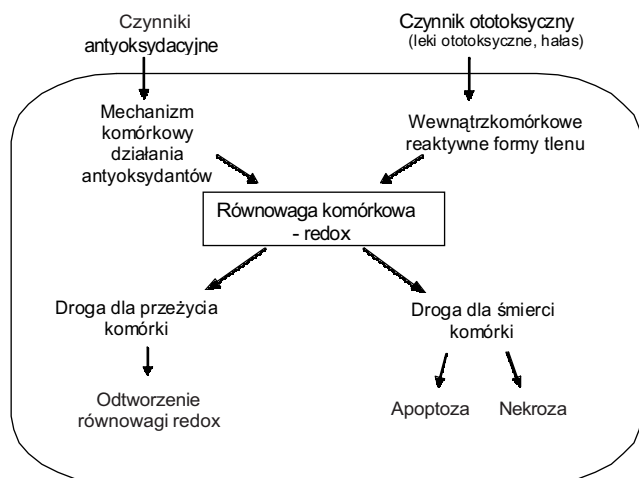
w znaczący sposób wzrastają w długoterminowym leczeniu gruźlicy, prawdopodobnie aż do częstości tak dużej, jak 80% [12].

Mechanizm uszkodzeń

Badania podstawowe prowadzone w ciągu ostatnich 10 lat ujawniły tworzenie w nadmiarze reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species* - ROS) jako główny mechanizm ototoksyczności aminoglikozydów. Reaktywne formy tlenu („wolne rodniki”) są obecne we wszystkich komórkach w niskich stężeniach, a ich powstawanie jest częścią procesów fizjologicznych komórki. Wolne rodniki tlenu są równoważone przez obecne również w komórkach związki antyoksydacyjne. Jednakże produkowany w nadmiarze tlen reaktywny może w efekcie prowadzić do jej rozległych uszkodzeń. Z powodu powtarzających się uszkodzeń równowaga między wytwarzaniem rodników a ich usuwaniem przez związki antyoksydacyjne może zostać zaburzona, co prowadzi do przystosowania czynności komórki i występowania reakcji mających na celu zapewnienie przeżycia bądź prowadzących do śmierci komórki.

Udział wolnych rodników w występowaniu skutków ototoksycznego działania aminoglikozydów udowodniony został w wielu badaniach. Glutation, najbardziej wszechobecny związek antyoksydacyjny komórkowy, chroni komórki rzęsate przed uszkodzeniami [13, 14]. Tworzenie wolnych rodników jest też obserwowane po zastosowaniu aminoglikozydów w wypreparowanym uchu wewnętrznym [15, 16]. Myszy, u których występuje nadmiar nadtlenku dysmutazy, kluczowego enzymu przy usuwaniu rodników, są dobrze zabezpieczone przed ototoksycznym działaniem kanamycyny [17]. W końcu istnieją dane, że aminoglikozydy mogą tworzyć wolne rodniki wprost, przez tworzenie kompleksów czwartorzędowych z jonami żelaza i lipidami komórek [18, 19].

Istnieje wiele mechanizmów nasilania przez wolne rodniki procesów prowadzących do śmierci komórek. Po podaniu aminoglikozydów bez wątplenia aktywowane są procesy zarówno apoptozy (kontrolowana, programowana śmierć komórki), jak i nekrozy. Jednakże sposób, w jaki komórki rzęsate są usuwane i zastępowane przez komórki podporowe, nie wykazujący cech zapalenia, sugeruje drogę apoptozy. Faktycznie, istnieje wiele prac wskazujących na występowanie cech apoptozy (np. kondensacja chromatyny i fragmentacja DNA) nasilanej przez aminoglikozydy w hodowlach komórkowych zarówno komórek ślimaka, jak i narządu przedsionkowego [20-22]. Te mechanistyczne badania pozwoliły na lepsze zrozumienie uszkadzającego działania aminoglikozydów oraz ewentualnych mechanizmów ochrony przed nimi. Co więcej, wyznaczono zależności między ototoksycznością aminoglikozydów oraz innych uszkodzeń toksycznych zależnych od wolnych rodników (ryc. 2).



Ryc. 2. Schematyczne przedstawienie zmian molekularnych zachodzących w urazie akustycznym oraz procesów ochronnych

Aby prawidłowo funkcjonować, komórki utrzymują stan równowagi. Przez cały czas są produkowane fizjologicznie ważne, lecz potencjalnie niebezpieczne, reaktywne formy tlenu. Są one równoważone przez układ antyoksydacyjny, składający się z małych molekuł antyoksydacyjnych (np. glutation) oraz układu enzymów wyspecjalizowanych w usuwaniu wolnych rodników tlenowych. Czynniki zewnętrzne, jak leki ototoksyczne i hałas, mogą prowadzić do natężonego wytwarzania reaktywnych form tlenu powodując stan nierównowagi układu redoks i w następstwie śmierć komórki. Komórkowy układ redoks może być wzmocniony przez dostarczenie czynników antyoksydacyjnych z zewnątrz przywracających równowagę i pozwalających na przeżycie komórki poddanej działaniu czynników toksycznych

Cis-platyna

Cis-platyna (cis-diaminodichloroplatyna (II)) uznawana jest za skuteczny lek przeciwko różnym guzom, szczególnie rakom jąder, jajników, głowy i szyi oraz płuc. Jednakże, wraz z działaniem przeciwnowotworowym występują objawy uboczne. Oprócz omawianej ototoksyczności są to nefrotoksyczność i neurotoksyczność, które ograniczają użyteczność kliniczną leku. Częstość uszkodzeń słuchu spowodowanych cis-platyną wynosi od 62% (we wczesnych pracach klinicznych) aż do 84-100% u pacjentów pediatrycznych otrzymujących dawkę skumulowaną 60-100 mg/m [23].

Patologia

Podobnie, jak w przypadku aminoglikozydów, cis-platyna pierwotnie niszczy komórki słuchowe zewnętrzne zakrętu podstawnego ślimaka, po czym uszkodzenia rozprzestrzeniają się w kierunku szczytu i ostatecznie obejmują również komórki słuchowe wewnętrzne. Mechanizm ten, podobnie jak w odniesieniu do aminoglikozydów, prowadzi do utraty słuchu początkowo w zakresie wysokich częstotliwości, a następnie wraz ze wzrostem dawki lub przedłużaniem leczenia – częstotliwości niskich. Cis-platyna działa również na prążek naczyniowy oraz zmniejsza liczbę komórek zwoju spiralnego

[24, 25]. Prace nad działaniem cis-platyny na układ przedsionkowy dają wyniki niejednoznaczne. W kilku badaniach czynnościowych wykazano zaburzenia równowagi u ludzi leczonych cis-platyną [26], podczas gdy w innych nie stwierdzono zmian u zwierząt [27]. Nawet wysokie dawki cis-platyny nie wywoływały istotnych zmian morfologicznych w nabłonku zmysłowym błędnika świnek morskich [28, 29].

Mechanizm powstawania uszkodzeń

Analogicznie do patogenezы powstawania uszkodzeń powodowanych gentamycyną, mechanizm działania cis-platyny jest oparty na odpowiedzi na stres komórkowy. Leczenie cis-platyną powoduje powstawanie wolnych rodników tlenu w wypreparowanym ślimaku [15], przy czym ototoksyczność cis-platyny jest związana z redukcją poziomu glutationu oraz podwyższeniem poziomu enzymów stresu oksydacyjnego, takich jak dysmutaza i katalaza. Co więcej, w wyniku leczenia cis-platyną wzrasta w ślimaku poziom dwualdehydu malonianu, produktu reakcji oksydacyjnej [30].

Podobnie jak w przypadku antybiotyków aminoglikozydowych, drogi uszkodzania komórek są złożone. W mechanizmach działania wolnych rodników szczególne znaczenie mają kaspazy, mniejszą rolę może odgrywać N-terminalna kinaza c-Jun [31]. W wyniku podania cis-platyny aktywowane są komponenty kaskady kaspaz, podobnie jak czynnika indukującego apoptozę (AIF) oraz białka rodziny Bcl-2 i kaspazy-9 [32]. Mimo, iż istnieją podobieństwa między reakcjami molekularnymi powodowanymi przez te dwa leki, jest pewnym, że dla każdego z nich można znaleźć indywidualną drogę progresji uszkodzeń.

Zapobieganie

Ostatnie prace, pozwalające na zrozumienie mechanizmów ototoksyczności oraz śmierci komórek związanej z reaktywnymi formami tlenu, pozwalają na opracowania racjonalnych i skutecznych programów leczenia. Małe, sztuczne molekuly przeznaczone do hamowania jednego z wielu stopni kaskady apoptozy okazały się skuteczne w ochronie komórek słuchowych w kulturach komórkowych. Jednakże dane te są jedynie pierwszym etapem „projektowania” leczenia, które mogłoby zostać zastosowane w klinice, a które może nie zostać nigdy opracowane, gdyż nawet niewielka zmiana w tak ważnych procesach przekazywania sygnałów między komórkami może mieć daleko idące fizjologiczne konsekwencje. Miejscowa terapia genowa, proces, w którym poprzez wirusy wprowadzamy geny do tkanek ślimaka, takie jak gen kodujący neurotropinę czy enzymy antyoksydacyjne, wydaje się być obiecująca w łagodzeniu ototoksyczności i jest klinicznie bardziej prawdopodobna [33].

Być może z perspektywy klinicznej bardziej istotny jest fakt, że szkodliwe efekty działania aminoglikozydów mogą być osłabione przez jednoczesne podawanie różnych antyoksydantów [34, 35]. Leczenie związkami antyoksydacyjnymi wydaje się dawać dobre efekty zarówno w przypadku ślimaka, jak i błędnika, niezależnie od rodzaju stosowanego aminoglikozydu. Co więcej, ten rodzaj interwencji może działać wprost na reaktywne formy tlenu czyli początkową część procesów apoptozy i dlatego może hamować procesy toksyczne na bardzo wczesnym etapie.

Szczególnie interesujące dla dalszych badań klinicznych są niektóre substancje, których skuteczność wyka-

zano na modelach zwierzęcych, jako że są one dostępne w postaci leków, leków bez recepty (nie ewidencjonowanych) lub suplementów żywnościowych, jak D-metionina, tiosulfat, witamina E czy salicylany [36, 37]. Wstępne wyniki badań klinicznych są zachęcające i sugerują, że objawy uboczne aminoglikozydów i cis-platyny mogą zostać ograniczone [38, 39].

Podziękowania

Badania dr J. Schachta nad uszkodzeniem słuchu powodowanym działaniem leków są finansowane przez grant R01 DC03685 z National Institute of Deafness and Other Communication Disorders, NIH.

Piśmiennictwo

1. American Academy of Pediatrics: Task Force on Newborn and Infant Hearing. Newborn and infant hearing loss: detection and intervention. *Pediatrics* 1999;103: 527-530.
2. Doyle KJ, Ray M. The Otolaryngologist's role in management of hearing loss in infancy and childhood. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* 2003; 9: 94-102.
3. Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabedian E-N, Petit C. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counseling. *The Lancet* 1999; 353(9161): 1298-1303.
4. Schatz A, Bugie E, Waksman SA. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. *Proc Soc Exp Biol Med* 1944; 55: 66-69.
5. World Health Organization. WHO Report 2005. Global Tuberculosis Control: Surveillance, planning, financing. Geneva. World Health Organization. 2005.
6. Forge A, Fradis M. Structural abnormalities in the stria vascularis following chronic gentamicin treatment. *Hear Res* 1985; 20: 233-244.
7. Forge A, Schacht J. Aminoglycoside Antibiotics. *Audiol Neurootol* 2000; 5: 3-22.
8. Hawkins JE, Rahway NJ, Lurie MH. The Ototoxicity of Dihydrostreptomycin and neomycin in the Cat. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1953; 62: 1128.
9. Fee WE. Aminoglycoside ototoxicity in the human. *Laryngoscope* 1980; 40: 1-19.
10. Moore RD, Smith CR, Lietman PS. Risk factors for the development of auditory toxicity in patients receiving aminoglycosides. *J Infect Dis* 1984; 149: 23-30.
11. Lerner SA, Schmitt BA, Seligsohn MR. Comparative-study of ototoxicity and nephrotoxicity in patients randomly assigned to treatment with amikacin or gentamicin. *Am J Med* 1986; 80: 98-104.
12. Brouet G, Marche J, Chevallier J, Liot F, Le Meur G, Bergogne Mme. (1959). Étude expérimentale et clinique de la kanmycine dans l'infection tuberculeuse. *Re Tub Pneum* 1959; 23: 949-988.
13. Garetz SL, Altschuler RA, Schacht J. Attenuation of gentamicin ototoxicity by glutathione in the guinea pig in vivo. *Hear Res* 1994; 77: 81-87.
14. Lautermann J, McLaren J, Schacht J. Glutathione protection against gentamicin ototoxicity depends on nutritional status. *Hear Res* 1995; 86: 15-24.
15. Clerici WJ, Hensley K, DiMartino DL, Butterfield DA. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hear Res* 1996; 98: 116-124.
16. Hirose K, Hockenberry DN, Rubel EW. Reactive oxygen species in chick hair cells after gentamicin exposure in vitro. *Hear Res* 1997; 104: 1-14.
17. Sha SH, Zajic G, Epstein CJ, Schacht J. Overexpression of copper/zinc-superoxide dismutase protects from kanamycin-induced hearing loss. *Audiol Neurootol* 2001; 6: 117-123.
18. Sha S-H, Schacht J. Formation of reactive oxygen species following bioactivation of gentamicin. *Free Radical Biology and Medicine* 1999a; 26: 341-347.
19. Lesniak W, Pecoraro VL, Schacht J. Ternary complexes of gentamicin with iron and lipid catalyze formation of reactive oxygen species. *Chem Res Toxicol* 2005; 18: 357-364.
20. Forge A. Outer hair cell loss and supporting cell expansion following chronic gentamicin treatment. *Hear Res* 1985; 19: 171-182.
21. Li L, Nevill G, Forge A. Two modes of hair cell loss from the vestibular sensory epithelia of the guinea pig inner ear. *J Comp Neurol*. 1995 May 8; 355: 405-417.
22. Nakagawa T, Yamane H, Takayama M, Sunami K, Nakai Y. Apoptosis of guinea pig cochlear hair cells following aminoglycoside treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1998; 255: 127-131.
23. Schweitzer VG. Ototoxicity of chemotherapeutic agents. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26: 759-789.
24. Tange RA, Vuzevski VD. Changes in the stria vascularis of the guinea pig due to cis-platinum. *Arch Otorhinolaryngol* 1984; 239: 41-47.
25. Gabaizadeh R, Staecker H, Liu W, Kopke R, Malgrange B, Lefebvre PP i wsp. Protection of both auditory hair cells and auditory neurons from cisplatin induced damage. *Acta Otolaryngol* 1997; 117: 232-238.
26. Prim MP, de Diego JI, de Sarriá MJ, Gavilán J. Vestibular and oculomotor changes in subjects treated with cisplatin. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2001; 52(5): 367-370.
27. Myers SF, Blakley BW, Schwan S. Is cis-platinum vestibulotoxic? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 108: 322-328.
28. Schweitzer VG, Rarey KE, Dolan DF, Abrams GE, Sheridan C. Vestibular morphological analysis of the effects of cisplatin vs. platinum analogs, CBDCA (JM-8) and CHIP (JM-9). *Laryngoscope* 1986; 96: 959-974.

29. Sergi B, Ferraresi A, Troiani D, Paludetti G, Feroni AR. Cisplatin ototoxicity in the guinea pig: vestibular and cochlear damage. *Hear Res* 2003; 182: 56-64.
30. Ravi R, Somani SM, Rybak LP. Mechanism of cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Pharmacol Toxicol* 1995; 76: 386-394.
31. Ylikoski J, Xing-Qun L, Virkkala J, Pirvola U. Blockade of c-Jun N-terminal kinase pathway attenuates gentamicin-induced cochlear and vestibular hair cell death. *Hear Res* 2002; 163: 71-61.
32. Wu YJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. The chemoprotective agent N-acetylcysteine blocks cisplatin-induced apoptosis through caspase signaling pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312: 424-431.
33. Kawamoto K, Sha S-H, Minoda R, Izumikawa M, Kuriyama H, Schacht J i wsp. Antioxidant gene therapy can protect hearing and hair cells from ototoxicity. *Molec Ther* 2004; 9: 173-181.
34. Song B-B, Schacht J. Variable efficacy of radical scavengers and iron chelators to attenuate gentamicin ototoxicity in guinea pig in vivo. *Hear Res* 1996; 94: 87-93.
35. Song B-B, Sha S-H, Schacht J. Iron chelators protect from aminoglycoside-induced cochleo- and vestibulotoxicity. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 189-195.
36. 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.
37. Sha S-H, Schacht J. Salicylate attenuates gentamicin-induced ototoxicity. *Lab Invest* 1999b; 79: 807-813.
38. Huang W, Chen Y, Zha D, Qiu J, Wang J, Sha S-H i wsp. Prevention of aminoglycoside-induced hearing loss by Aspirin: Preliminary data from a clinical study. *Abs Assoc Res Otolaryngol* 2002; 25: 262.
39. Neuwelt EA, Brummett RE, Doolittle ND, Muldoon LL, Kroll RA, Pagel MA i wsp. First evidence of otoprotection against carboplatin-induced hearing loss with a two-compartment system in patients with central nervous system malignancy using sodium thiosulfate. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 77-84.