T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINDA CARBON MONOXIDE RELEASING MOLECULE-3 (CORM-3) KORUYUCU ROLÜ

İlda TANRISEVER PEHLİVAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Özgür SÜRMELİOĞLU

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TTU-2022-15346 proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2023

TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda eğitime başladığım günden itibaren güçlü bilgi ve cerrahi donanımını aktaran, beraber çalışmaktan onur duyduğum, her vakada varlığıyla bize güç ve güven veren, bilimsel katkılarını ve hoşgörüsünü esirgemeyen, bu çalışmanın ortaya çıkmasında sınırsız yardım ve desteği olan değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Özgür SÜRMELİOĞLU'na

Asistanlık eğitimim boyunca engin bilgi ve birikimleri ile yol gösteren, cerrahi nosyonu kazanmamı sağlayan, fikirlerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, mesleki donanımlarıyla bana örnek olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Mustafa Mete KIROĞLU, Prof. Dr. Ülkü TUNCER, Prof. Dr. Özgür TARKAN, Prof. Dr. Süleyman ÖZDEMİR ve Doç. Dr. Muhammed DAĞKIRAN'a

Cerrahi eğitim süreci boyunca iyi niyet ve hoşgörü ile yaklaşan, destek ve sevgilerini her zaman hissettiğim, beraber çalışma fırsatı bulduğum Uzm. Dr. Çağlar EKER ve Uzm. Dr. Elvan ONAN'a

Asistanlık dönemim boyunca dostluklarını ve desteklerini daima hissettiğim, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, kliniğimizde görev alan tüm hemşire, teknisyen, personel ve odyoloji ekibine,

Tez çalışmamda titizlik ve hassasiyetle yardım eden, katkılarından dolayı sevgili arkadaşım Uzm. Ody. Ahmet ATİLA ve Ody. Esra BUĞRA'ya

Yaşamımın, karakterimin yön bulmasında sonsuz emek, özveri ve sabırları için kıymetli aileme,

Yaşadığım her zorlukta yanımda olan, varlığıyla güç veren, sevgisini ve desteğini esirgemeyen eşim Mehmet PEHLİVAN'a

Sonsuz teşekkür, saygı ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **İ**
İÇİNDEKİLER ..... **İİ**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **V**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **Vİ**
ÖZET ..... **Vİİ**
ABSTRACT ..... **Vİİİ**
1.GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1 Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi 2
2.1.1 Dış Kulak 3
2.1.2 Orta Kulak 3
2.1.3 İç Kulak 4
2.1.3.1 Koklea 4
2.1.3.1.1.1 İç Tüylü Hücre 7
2.1.3.1.1.2 Dış Tüylü Hücre 8
2.1.3.1.1.3 Kokleanın Diğer Hücreleri 9
2.1.4. Santral İşitme Yolları 10
2.2 İşitme Fizyolojisi 11
2.3 Sıçan Kulak Anatomisi ve İşitme Sistemi 12
2.4. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı 14
2.4.1. Gürültü 14
2.4.2. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı 15
2.4.2.1 Geçici Eşik Değişikliği 16
2.4.2.2 Kalıcı Eşik Değişikliği 16
2.4.2.3 Akustik Travma 17
2.4.3. İç Kulakta Gürültüye Bağlı Hasar Mekanizmaları 17
2.4.3.1 Gürültüye Bağlı Mekanik Hasar 18
2.4.3.2 Gürültüye Bağlı Metabolik Hasar 19
2.4.3.2.1 Kokleada Serbest Radikal Oluşumu ve Etkileri 19
2.4.3.3 Glutamat Eksitotoksisitesi 22
2.4.3.4 Kalsiyum (Ca^{+2}) Homeostazı 23
2.4.3.5 Koklear Kan Akımı 24
2.4.3.6 Apopitoz ve Nekroz 25
2.4.3.6.1 Apopitoz 25
2.4.3.6.2 Nekroz 27

2.4.4 Gürültüden Korunma Yöntemleri 28
2.4.4.1 Antioksidan ajanlar 29
2.4.4.2.Karbon Monoksit Releasing Molekül-3 (CORM-3) 30
2.4.5. Objektif Odyolojik Değerlendirme Yöntemleri 33
2.4.5.1. Otoakustik Emisyonlar 33
2.4.5.1.1. Otoakustik Emisyon Türleri 33
2.4.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) 34
2.4.6. Sıçanlarda Odyolojik Değerlendirme 36
3.MATERYAL VE METOD 38
3.1.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları 38
3.2.Veri Toplama Araçları 40
3.3.Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Modelinin Oluşturulması 41
3.4.Anestezi Yöntemi 43
3.5. İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi 43
3.5.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Testi 44
3.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Testi 45
3.6. İlaç Uygulaması 46
3.7.Araştırmanın Planı ve Takvimi 47
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi 48
3.9. Histopatolojik İnceleme 48
3.9.1. Işık Mikroskopi Yöntemi 48
4. BULGULAR 50
4.1. Distorsiyon ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları 50
4.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Bulguları 54
4.2.1. Dalga Morfolojisi 54
4.2.2. Grupların İUBP Eşik Ortalamaları ve Değişimi 55
4.3 Histopatolojik Görüntüleme Bulguları 61
4.3.1 Işık Mikroskopi Bulguları 61
5.TARTIŞMA 68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 76
7.KAYNAKÇA 77
EKLER 85
ÖZGEÇMİŞ 85

KISALTMALAR

ms: milisaniye

mg: miligram

mm: milimetre

cm^3: santimetre küp

mV: milivolt

GBİK: Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

CORM-3: Carbon-monoxide releasing molecule-3

CO: Carbon monoksit

NO: Nitrik oksit

SF: Serum fizyolojik

DKY: Dış Kulak Yolu

ROT: Reaktif Oksijen Türleri

RNT: Reaktif Nitrojen Türleri

İTH: İç Tüylü Hücre

DTH: Dış Tüylü Hücre

İUBP: İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri

MET: Mekano-Elektriksel Transdüksiyon

ATP: Adenozin trifosfat

K^+: Potasyum

Na^+: Sodyum

Ca^{+2}: Kalsiyum

NMDA: N-metil-D-aspartik asit

AMPA: Amino-3-hidroksil-5-metil-4-izoxazol propionate

SOD: Süperoksit dismutaz

GSH-Px: Glutatyon peroksidaz

OAE: Otoakustik Emisyon

DPOAE: Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon

dB SPL: DesiBel Ses Basınç Birimi

kHz: Kilohertz

HE: Hematoksilen-eozin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnsan dış, orta, iç kulak yapıları[13] 3
Şekil 2.Koklea kesiti[14] 6
Şekil 3. Korti organını oluşturan anatomik yapılar[12] 7
Şekil 4.İç ve dış tüylü hücre şematik görünümü. İTH'ler flask yapıda olup geniş afferent ve dolaylı efferent innervasyona sahiptir. DTH'ler ise silindirik yapılıdır, doğrudan afferent ve efferent innervasyona sahiptir.[22] 9
Şekil 5. Kokleadan, temporal lob işitsel kortekse kadar olan işitme yolakları[37] 12
Şekil 6. Laboratuar hayvanları ve insanlardaki işitme frekans aralıkları. Kalın çizgi 10 dB Sound Pressure Level (SPL), ince çizgi ise 60 dB SPL şiddetindeki eşik değerleri göstermektedir.[49] 14
Şekil 7.Gürültüye bağlı gelişen koklear hasar mekanizmaları[10] 18
Şekil 8.Gürültü öncesi ve sonrasında mekanik hasar görmüş DTH'lerin faz-kontrast görünümü 19
Şekil 9.İç kulaktaki hücresel ROT/RNT oluşum yolakları ve detoksifikasyon.[73] 21
Şekil 10. Şiddetli gürültü maruziyetine bağlı gelişen, spiral ligaman kan akımında azalma ve buna bağlı eritrosit birikimi.[64] 24
Şekil 11. Apopitoz aşamaları[54] 26
Şekil 12.CORM tarafından salınan CO metabolizması ve HO yolağı[101] 31
Şekil 13.CORM-3 kimyasal yapısı[101] 32
Şekil 14.Beyinsapı Potansiyelleri Dalgaları ve Köken Aldıkları Nörolojik Yapılar 35
Şekil 15.4 kHz oktav bant gürültüye ait frekans spektrumu 42
Şekil 16.Ratlara uygulanan gürültüye bağlı işitme kaybı modeli 42
Şekil 17.Wistar rata uygulanan intraperitoneal anestezi yöntemi 43
Şekil 18.Wistar ratlara uygulanan DPOAE testi 44
Şekil 19.Wistar ratlara uygulanan İUBP testi 45
Şekil 20.Ratlara uygulanan intaperitonel CORM-3 uygulaması 47
Şekil 21.Tüm grupların sağ ve sol kulaklarındaki DPOAE amplitüdleri 53
Şekil 22.Gürültü maruziyeti öncesi ve sonrası DPOAE testinde sinyal-gürültü oranları 54
Şekil 23.Ratın sağ ve sol kulağındaki 8 kHz frekansında elde edilen İUBP dalga morfolojisi 55
Şekil 24.Gürültü maruziyeti sonrası ratın sağ ve sol kulağındaki 8 kHz frekansında elde edilen İUBP dalga morfolojisi 57
Şekil 25. IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi 60
Şekil 26. Kontrol grubu kohlea HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Spiral ganglion (SG) gösterilmiştir. 61
Şekil 27.Kontrol grubu korti organı HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Spiral ganglion (SG), Tüy hücreleri (TH) gösterilmiştir. Bar: 100 µm 62
Şekil 28. SF grubuna ait korti organının HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Tüy hücreleri (TH) gösterilmiştir. 63
Şekil 29. CORM-3 grubuna ait korti organının HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Tüy hücreleri (TH) gösterilmiştir. Bar: 100 µm 64
Şekil 30. Kontrol grubuna ait spiral ganglion HE boyaması. Ganglion hücreleri (oklar) ve Schwan hücreleri (okbaşı) gösterilmiştir. Bar: 50µm. 65
Şekil 31.Deney grubuna ait spiral ganglion HE boyaması. Okla gösterilen hücrelerde piknotik değişiklikler ve hücre dejenerasyonu izlenmiştir. Sinir liflerinde kayıp (*) ve Schwann hücreleri 66
Şekil 32. CORM-3 grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması. Nöronlarda dejenerasyon (oklar) ve Schwann hücreleri (okbaşı) gösterilmiştir. Bar: 50 µm. 67

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.Nekroz ve apopitozun farklı özellikleri. 28
Tablo 2. Gruplara uygulanan işlemlerin zamansal çizelgesi 40
Tablo 3.İUBP testlerinde kullanılan kayıt ve uyaran parametreleri 46
Tablo 4. Araştırma planı ve takvim 47
Tablo 5. Işık mikroskobik doku takip işlemi 49
Tablo 6. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde elde edilen sinyal-gürültü oranları (S/N)- Sağ 51
Tablo 7. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde elde edilen sinyal-gürültü oranları (S/N)- Sol 52
Tablo 8. Çalışma gruplarında elde edilen IUBP dağılımı- Sağ kulak 56
Tablo 9. Çalışma gruplarında elde edilen IUBP dağılımı- Sol kulak 56
Tablo 10. IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi 58

ÖZET

GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINDA CARBON MONOXİDE RELEASİNG MOLECULE-3 (CORM-3) KORUYUCU ROLÜ

GİRİŞ: Gürültü, kalıcı tipte işitme kaybına yol açabilen önemli bir edinsel işitme kaybı sebebidir. Gürültü kaynaklı işitme kaybı en sık rastlanan önlenebilir işitme kaybı nedenlerinden biridir. Gürültünün kaynağının azaltılması veya kişisel korunma ekipmanları kullanılması gibi gürültüye bağlı işitme kaybını azaltmaya yönelik yöntemler bulunmasına rağmen; başarısı kanıtlanmış kabul edilen ortak bir tedavi protokolü henüz tanımlanmamıştır. Bu deneysel çalışmanın amacı, gürültüye maruziyet sonrası Carbon Monoxide Releasing Molecule-3 (CORM-3)'ün işitme sistemine olan olası koruyucu etkilerinin elektrofizyolojik ölçümler ve histopatolojik yöntemlerle gösterilmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Yirmi dört adet albino wistar erkek rat eşit şekilde 3 gruba ayrıldı. Gürültü verilmeyen gruba; 7 gün sürecinde intraperitoneal serum fizyolojik uygulandı. Diğer 2 gruptaki 16 rat, 120 dB SPL şiddetinde, 4 kHz oktav bantta 4 saat gürültüye maruz bırakıldı. Gürültü alan bir gruba intraperitoneal serum fizyolojik, diğerine ise intraperitoneal yoldan 10 mg/kg CORM-3 7 gün boyunca uygulandı. İşitme düzeyleri, başlangıç, 1. ve 7. günlerde, distorsiyon ürünü otoakustik emisyon ve 4, 6 ve 8 kHz'de işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri ile ölçüldü. Son test sonrasında tüm ratların iç kulak yapıları diseke edilerek, koklea yapıları ışık mikroskobisi ile değerlendirildi.

BULGULAR: İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyel test sonuçları tüm frekanslarında CORM-3 grubunda gürültü verilen diğer gruba kıyasla daha iyi işitme eşikleri olduğunu gösterdi. Bu bulgular istatistiksel olarak da anlamlı tespit edildi ($p<0,05$). Gürültü sonrasında distorsiyon ürünü otoakustik emisyon yanıtları kayboldu. Histopatolojik değerlendirmede ise gürültünün kokleada yarattığı hücresel hasar gösterildi.

SONUÇ: Elde edilen verilere göre CORM-3, gürültüye bağlı işitme kaybında koruyucu ve tedavi edici ajan olarak kullanılabilecek faydalı bir molekül olabilir. Ancak bu koruyucu etkinin kanıtlanmasına yönelik ek araştırmalara gereksinim bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akustik travma, antioksidan, Carbon Monoxide Releasing Molecule-3, gürültüye bağlı işitme kaybı, sensörinöral işitme kaybı

ABSTRACT

PROTECTIVE ROLE OF CARBON MONOXIDE RELEASING MOLECULE-3 (CORM-3) IN NOISE-INDUCED HEARING LOSS

INTRODUCTION: Noise is an important cause of acquired hearing loss that can lead to permanent hearing loss. Noise-induced hearing loss is the most common preventable cause of hearing loss. Although there are methods to reduce noise-induced hearing loss, such as reducing noise at its source or using personal protective equipment; a common treatment protocol with proven success has not yet been defined. The aim of this experimental study is to demonstrate the possible protective effects of Carbon Monoxide Releasing Molecule-3 (CORM-3) on the auditory system after exposure to noise by electrophysiological measurements and histopathological methods.

MATERIALS AND METHODS: Twenty-four albino wistar male rats were divided equally into 3 groups. To the group without noise; intraperitoneal saline was applied for 7 days. 16 rats in the other 2 groups were exposed to 120 dB SPL, 4 kHz octave band for 4 hours. Intraperitoneal saline was administered to one group receiving noise, and 10 mg/kg CORM-3 was administered intraperitoneally to the other for 7 days. Hearing levels were measured by distortion product otoacoustic emission and auditory evoked brainstem potentials at 4, 6 and 8 kHz at baseline, days 1 and 7. After the last test, the inner ear structures of all rats were dissected and the cochlea structures were evaluated by light microscopy.

RESULTS: Auditory evoked brainstem potential test results showed better hearing thresholds in the CORM-3 group at all frequencies compared to the other group given noise. These findings were also statistically significant ($p<0.05$). Distortion product otoacoustic emission responses disappeared after noise. In the histopathological evaluation, the cellular damage caused by the noise in the cochlea was shown.

CONCLUSION: According to the data obtained, CORM-3 may be a useful molecule that can be used as a preventive and therapeutic agent in noise-induced hearing loss. However, additional studies are needed to prove this protective effect.

Keywords: Acoustic trauma, antioxidant, Carbon Monoxide Releasing Molecule-3, noise-induced hearing loss, sensorineural hearing loss

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Gürültü, kişiyi fiziksel ve zihinsel olarak etkileyebilen, insan ve toplum üzerinde olumsuz etkiler yaratabilen istenmeyen ses olarak isimlendirilir.[1] Gürültü; iletişim ve uyku bozuklukları, tinnitus, kardiyovasküler hastalıklar, stres artışı, konsantrasyon bozuklukları, işitme kaybı gibi pek çok problemlere yol açabilmektedir. [2,3]

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tüm işitme kaybı vakalarının üçte birinin gürültü maruziyetiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. [4,5] Gürültüye bağlı işitme kaybı, en sık rastlanan önlenebilir işitme kaybı nedenidir. Gelişen şehirleşme ve sanayileşmenin sonucunda, yüksek şiddette sese maruziyetle oluşan ve prevelansı giderek artan, gelişmekte olan ülkelerin en sık rastlanan önlenebilir meslek hastalığıdır. [6,7]

Gürültü, iç kulak yapılarında direkt mekanik hasar ve metabolik hasara yol açabilmektedir. Gürültü maruziyeti sonrası, ilk olarak mekanik etkilenmeye bağlı korti organı ve stria vaskülariste hücresel değişiklikler meydana gelmektedir.[9] Korti organında destek hücrelerinin yanı sıra çoğunlukla dış tüylü hücrelerde dejenerasyon ve hücre hasarına neden olmaktadır.[10]

Metabolik hasar mekanizması ise, serbest oksijen radikallerinin artışı ile oksidatif stres oluşturarak hücrelerde apopitoz ve/veya nekroza yol açmasıdır. Serbest radikaller, koklear kan akımını bozarak DNA hasarlanmasına, lipid ve protein yapılarda kırılmalara ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Serbest radikallerin başlattığı bu apopitotik süreç özellikle yüksek frekanslara duyarlı olan dış tüylü hücrelerde fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Bu durumda işitme eşikleri yükselir ve konuşmayı ayırt etme becerisinde azalma meydana gelir.[11]

Gürültüye bağlı oluşan işitme kaybından korunmada en temel faktör, gürültü şiddetinin kaynağında azaltılması ve koruyucu kişisel ekipmanların kullanımıdır.[8] Gürültü maruziyeti sonrasında gelişen hasardan koruyucu ve tedavi edici protokol henüz geliştirilmemiştir. Bu nedenle gürültüye bağlı işitme kaybından koruyucu ajanlar umut vaad eden çalışmalara zemin hazırlamıştır. Koruyucu ve önleyici farmakolojik uygulamalardaki ana hedef, antioksidan ajanlarla hücrede oluşan oksidatif stres ile mücadele etmektir.

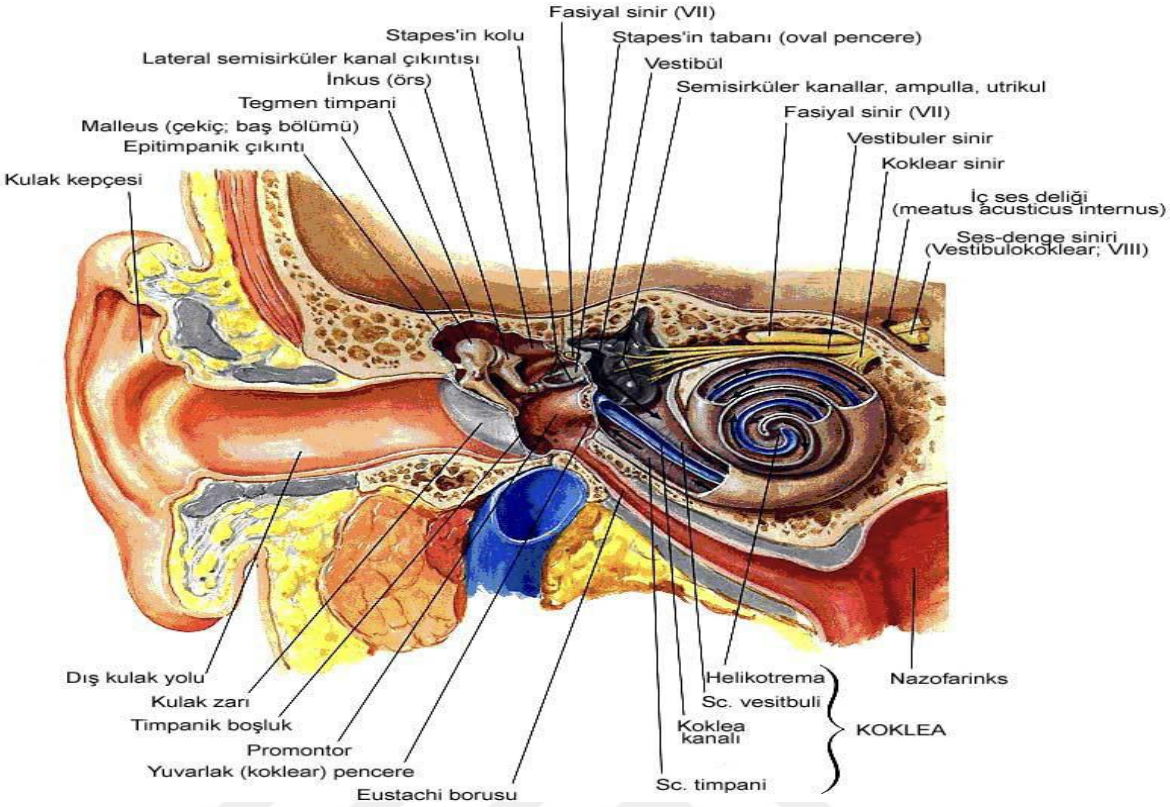
Özellikle kompartman sendromu, akut miyokard enfarktüsü, iskemik inme gibi deney gruplarına sahip, dokularda iskemi sonrası reperfüzyon üzerine araştırmaları konu alan carbon monoxide releasing molecule-3 (CORM-3)'ün son yıllarda önemi artmakta ve başarılı sonuçlar tespit edilmiştir.[96] Ayrıca yapılan çeşitli araştırmalarda CORM-3'ün nöroprotektif, kardiyoprotektif, vazodilatör ve antioksidan etkileri gösterilmiştir.[120,121,122] Literatürde, CORM-3'ün otolojik araştırmalarda etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. CORM ajanlarının kullanımı, CO'nun vazodilatör, antiinflamatuar, antioksidan, antiapopitotik ve anti-iskemik etkilerini daha da destekleyerek, umut verici sonuçlar bildirilmiştir.[92]

Bu hayvan modelli deneysel çalışmada amacımız, gürültü maruziyeti sonrası işitme kaybı tespit edilen ratlarda, CORM-3'ün işitme sistemine olan olası koruyucu etkilerinin elektrofizyolojik ölçümler ve histopatolojik yöntemlerle gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi

İşitme, kulak tarafından ses dalgalarının toplanarak, beyin merkezlerinde anlam ve karakter kazanmasına kadar olan süreçtir.[12] Ses enerjisi kulağa dalgalar halinde girerek, sırayla dış, orta ve iç kulak yapılarında iletilirken dönüşüme uğramaktadır. (Şekil 1) Sonuçta iç kulakta elektriksel enerjiye dönüşerek koklear sinir ve santral işitme yollarından geçerek temporal korteksteki işitme merkezi olan transvers temporal girusa ulaşır.[13]



Şekil 1. İnsan dış, orta, iç kulak yapıları[13]

2.1.1 Dış Kulak

Dış kulak, aurikuladan timpan membrana kadar olan kısımdan oluşmaktadır. Dış kulak yolu ortalama 25 mm uzunluğundadır ve lateral üçte birlik kısmı kartilaj yapıdadır, kıl folikülleri ve serümen bezleri içerir. Kalan medial üçte ikilik kısmı ise kemik yapıda olup medialde timpanik membran ile sonlanır.[14]

Aurikula 135 derecelik sesleri toplayıp dış kulak yoluna yönlendirirken, bu açının dışındaki sesleri yansıtır. Bu durum sesin yön tayininde önem taşır. Dış kulak yolu sesi iletirken 15-20 dB'lik artış sağlamaktadır[12,15].

2.1.2 Orta Kulak

Orta kulak; timpanik membrandan malleus, inkus ve stapes kemikçiklerini içeren 2 cm^3 hacimli boşluktur. Akustik enerjiyi dış kulak yolundaki düşük empedansa sahip hava ortamından, yüksek empedansı olan sıvı ortama ileterek iki ortam arasındaki iletim ve empedans eşleştirme görevi yapar.[16] Böylece 27-34 dB'lik bir kazanç oluşturur.[17]

Timpanik membran; anulus, pars flaksida ve pars tensa olarak üç kısımdan oluşur. Timpanik anulus, membran çevresindeki halka biçimli fibröz dokudur. Orta kulak, anulus pozisyonuna göre hipotimpanum, mezotimpanum ve epitimpanum olarak alt bölümlere ayrılır. Pars flaksida gevşek ve dar yapısından dolayı işitmede aktif rol almasa da östaki hareketine duyarlı olup orta kulakta basınç düzenlenmesine yardımcıdır. Pars tensa ise geniş ve gergin yapıda olup manibrum malleiye tutunur. Burada timpanik membran 3 katlı yapıdadır. İçten dışa doğru, mukoza, fibröz tabaka ve epidermisle örtülüdür. Fibröz tabakada bulunan sirküler, radier, parabolik ve semilunar dizili lifler sayesinde timpanik membranın gerginliğini sağlayarak, rotasyon hareketini yaptırır.[13]

Orta kulaktaki diğer bir önemli anatomik yapı ise nazofarenks ile orta kulak arasında bağlantı kurarak basınç dengeleyen östaki tüpüdür. Esneme ve yutma sırasında açılarak orta kulaktaki sekresyonların drenajını sağlar.[18]

Orta kulakta, stapedius ve tensör timpani adında iki çizgili kas yapısı bulunmaktadır. Tensör timpani, malleusa yapışmaktadır ve malleus uzun kolunu mediale çekerek timpanik membrandaki titreşimi azaltır. Stapedius kası ise stapesi orta kulağa doğru çekip, yüksek şiddetli seslerin iç kulağa girişini engeller. [14,15,18]

2.1.3 İç Kulak

İç kulak temporal kemiğin petröz parçasında yerleşimlidir. Morfolojik olarak membranöz ve kemik labirentten oluşmaktadır. Kemik labirent, vestibül, koklea, ve semisirküler kanallardan oluşur.[19] Sodyumdan zengin perilenfle, işitme ve dengenin duyu hücrelerini barındırır. Membranöz labirent ise korti organı, duktus perilenfatikus, duktus koklearis, duktus semisirkülaris, duktus perilenfatikus, utrikül ve sakkülden oluşmaktadır.[20] Membranöz labirent içinde potasyumdan zengin endolenf bulundurmaktadır.[14,19]

2.1.3.1 Koklea

Kokleanın temel fonksiyonu, akustik enerjiyi santral sinir sistemine iletecek şekilde elektrokimyasal uyarana dönüştürerek işitme sisteminin reseptör organ görevine sahip

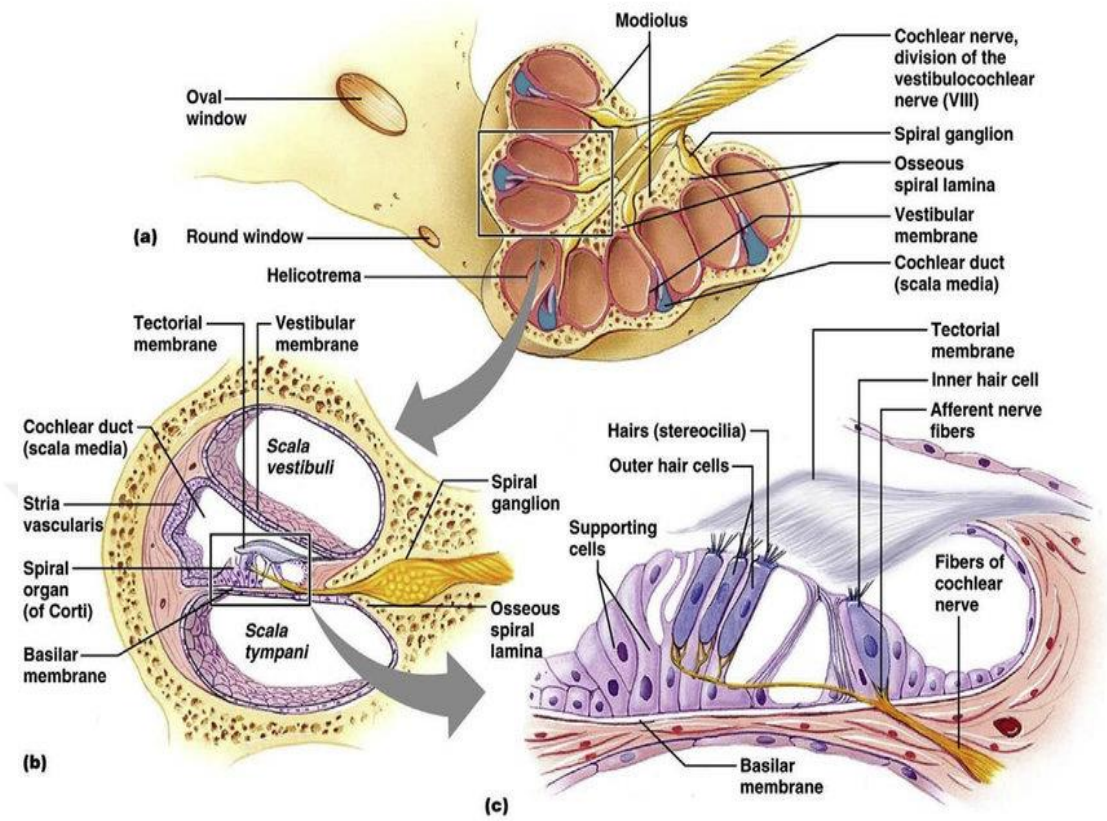
olmasıdır.[14,21] İnsan kokleası skala media, skala timpani ve skala vestibüli adlı üç bölüme ayrılan sarmal yapıdaki kemik kanallardan oluşmaktadır. (Şekil 2) Eksenini modiolusun oluşturduğu, yaklaşık 25 mm uzunluğunda olan, kendi etrafında 2,5 tur dönüşlü, salyangoz gibi sarmal kemik kanallar şeklindedir.[13,22] Bu kanallardan vestibulokoklear (VIII.) kranial sinir lifleri ve koklear damarlar geçer.

Kokleanın orta kısmında, üçgen şeklinde bulunan duktus koklearis (skala media) yer alır. Duktus reuniens aracılığıyla vestibüldeki sakkülle bağlantılıdır. Skala media, baziler membran, kemik spiral lamina ve Reissner membranı ile sınırlandırılmıştır. İçerisinde potasyum (K^+) düzeyi yüksek, intrasellüler sıvıya benzeyen, stria vaskülariste üretilen endolenf bulunur.[14]

Skala timpani ve skala vestibüli ise koklea apeksinde yerleşik olup helikotremada bağlantı kurarlar.[22,23] İçerdikleri perilenf, sodyum (Na^+) iyonları açısından zengin olup kimyasal olarak beyin omurilik sıvına benzer. Perilenfin üretildiği yer ise net değildir. Beyin omurilik sıvısı tarafından üretildiği veya perilenf kapilleriyle gelen bir kan ultrafitratı olduğu varsayılmaktadır.[15]

Stria vaskülarisin çok katlı epitel yapısı, endolenfteki yüksek potasyum, düşük sodyum düzeyini sağlayan marjinal hücreleri, fagositoz işlevinde görevli intermediate hücreleri, epitel ve endotelin bazal membranı birleşimi ile oluşan molekül geçişini engelleyen nazal hücreleri içerir. Stria vaskülaris mitokondriden zengin olması sebebiyle kokleanın enerji kaynağı rolündedir, transdüksiyonda önemli görevi mevcuttur. [15,24] Stria vaskülariste Na+/K+ ATPaz, karbonik anhidraz, adenil siklaz gibi endolenfe sıvı ve iyon transport işlevinde görevli enzimler yoğun bulunmaktadır. Endolenfin potansiyel enerjisi, spiral ligament ve stria vaskülaris mitokondrilerinden sağlanır.[18,24,45]

Akustik enerji, stapes tabanının piston hareketi ile kokleaya ulaşıp skala vestibulideki perilenfle eşleşmektedir. Perilenfe ulaşan enerji, yaklaşık 32 mm uzunluğundaki baziler membranda bazalden apekse doğru dalgalar halinde ilerler.[13,26] Baziler membran genişliği, bazalden apikal kıvrıma doğru giderek artmaktadır. Bu durum ses şiddetinin algılanması ve frekans seçiciliğinde önem taşır. Düşük frekanslı dalgalar baziler membran boyunca ilerlerken, yüksek frekanslılar koklea apikal bölgesine ulaşamaz.[25,27]



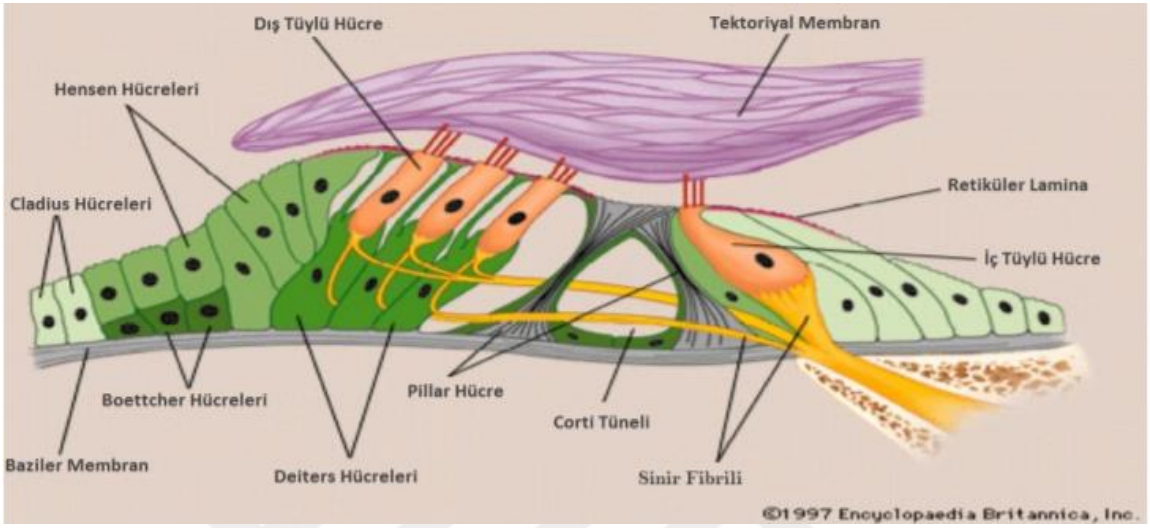
Şekil 2.Koklea kesiti[14]

2.1.3.1.1 Korti Organı

Korti organı, skala mediada yer alan duyu hücreleri ve baziler membran üzerindeki destek hücreleri içeren reseptör organdır.[28] Destekleyici hücreler (Claudius, Deiters, Boettcher, Hensen), retiküler lamina (kutiküler plaka kompleksi) ve tektoriyal membran korti organında yer alan anatomik yapılardır. (Şekil 3)

Duyu hücreleri, dış ve iç tüylü hücreler (DTH, İTH) olarak iki grup halinde bulunur, mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüşümünde görev alırlar.[15,29] DTH'ler düzensiz sıralı, İTH'ler ise tek sıra halinde dizilirler. Tüylü hücrelerin gövde kısmı korti organında bulunurken, kalın bir kutiküler tabaka ve üzerinde streosilyaların bulunduğu üst yüzeyi mevcuttur. Bu stereosilyalar, gerçek silya olmayıp hücre membranıyla sarılı aktin moleküllerinin oluşturduğu büyük mikrovilluslardır.

Tüylü hücreler üst kısımlarından tektoriyal membran ile ilişkilidir, DTH'lerin uzun sterosilyalarının ucu tektoriyal membrana yapışır. Tektoriyal membran, gelen akustik uyaranla tüylü hücrelerin hareketini kontrol ederek baziler membranla birlikte hareketi sağlar.[13,28]



Şekil 3. Korti organını oluşturan anatomik yapılar[12]

2.1.3.1.1.1 İç Tüylü Hücre

Baziler membranın mekanik titreşimini nöral elektriksel uyarıya dönüştüren alıcı hücrelerdir. Tek sıra halinde dizili, etrafı destek hücreleri ile çevrili İTH'ler 12 mikrometre çapında olup insan kokleasında yaklaşık 3500 adet bulunmaktadır.

İşitme sürecinden temel sorumlu olduğu düşünülen bu hücreler, afferent sinirlerle innerve olmaktadır. Kokleadaki afferent sinir sonlanmalarının %95'i iç tüylü hücrelerdedir.[22] Bu sinirler Tip I nöronlar olarak adlandırılmaktadır.[18,30] Sinirin hücre gövdesini oluşturan spiral gangliyondan beyinsapındaki koklear nukleusa akson gönderir, dendritleri ise spiral lamina ile temporal kemiğe ilerlemektedir.

İTH'lerin tepesine dizili stereosilyalarda, mekano-elektriksel transdüksiyon olarak isimlendirilen iyon iletim kanalları mevcuttur. Bu kanallar, stereosilyalar uzun silyuma doğru eğildiğinde açılmaktadır. Kanalların açılmasıyla potansiyel fark oluşarak İTH içerisine K^+ geçişi olur ve depolarizasyon meydana gelir. Depolarizasyon sonucu hücre içi negatif yük azalır ve hücre gövdesindeki voltaj duyarlı kalsiyum (Ca^{+2}) kanalları açılır.

Hücre içine doğru perilenften Ca^{+2} geçişiyle beraber, sinaptik boşluğa glutamat salınımı gerçekleşir ve afferent fibriller uyarılır. Hücre içi Ca^{+2} artışıyla kalsiyum duyarlı K^{+} kanalları uyarılır, potasyum hücre içinde çıkarak repolarizasyon gerçekleşir. Hücre içinde düzeyi artan Ca^{+2} ise iyon pompası aracılığı ile dışarı atılır. Dinlenim durumunda stereosilyalardaki mekano-elektriksel transdüksiyon kanalları kısmen açık olup, nörotransmitter salınımının az miktarda devam etmesine yol açmaktadır.[13,18,31,32]

2.1.3.1.1.2 Dış Tüylü Hücre

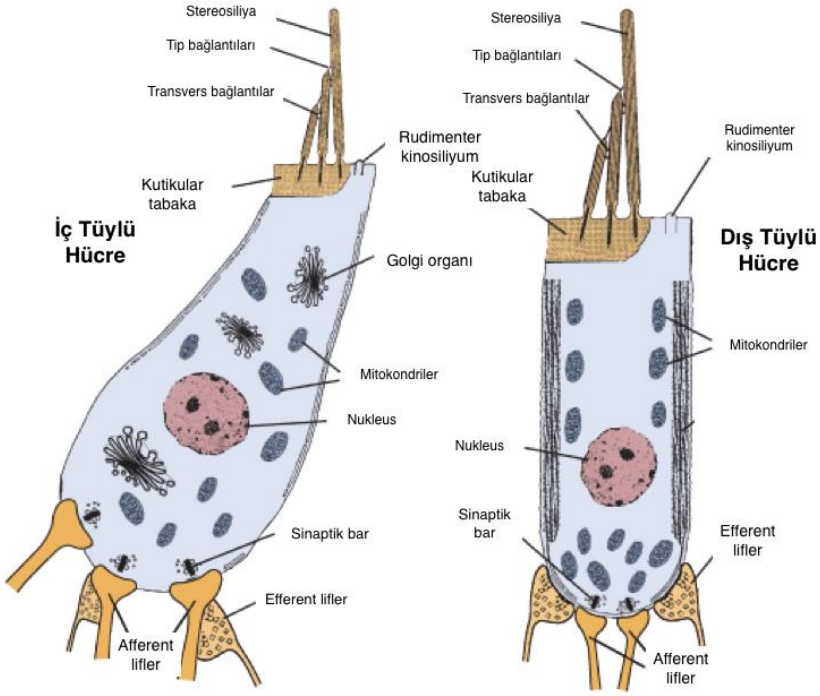
Kokleada 10-80 mikrometre boyunda, yaklaşık 8 mikrometre çapında 13000 civarında DTH bulunmaktadır. Stereosilyaları bazal kıvrımda 'W', ortada 'V', apekste ise düz şekilli olup üç veya dört sıra dizili, tektoriyal membrana gömülü şekilde bulunmaktadır. Dış tüylü hücreler bazal kısmında Deiters, apikalde ise dış pillar, Hensen ve Deiters hücreleri tarafından desteklenir.[13, 29, 33] Hücrede 50-150 kadar bulunan stereosilyaların boyları bazalden apekse doğru uzarken, sayıları azalmaktadır. Baziler membran boyunca frekansa özgü bir titreşim oluştururlar. Frekans ve bu anatomik yerleşim arasındaki ilişkiye 'tonotopik yerleşim' denmektedir. Baziler membran cevabını güçlendirerek, seslerin şiddetinin artırılmasında mekanik bir yükseltici olarak rol alır. Koklear amplifikatör mekanizması, somatik elektromotilite ile açıklanmaktadır. Bu özellik, tüylü hücrelerin nöral uyaranlara yanıt olarak uzama ve kasılma yetenekleridir. Elektromotilitenin güç kaynağı, DTH'lerdeki prestin adı verilen motor proteinidir. DTH hasarında, elektromotilitenin bozulmasıyla 40-60 dB'lik işitme kaybı meydana gelmektedir. [13,15, 33,34]

Tüylü Hücrelerin İnnervasyonu

Koklear sinirde yaklaşık 30000 adet miyelinli sinir lifi bulunur ve tamamı afferent liflerdir. (Şekil 4) Spiral ganglionda yerleşen afferent hücreler duyusal bilgileri taşımakla görevlidir. Afferent lifler modiolustan geçerek spiral kanala uzanır. Bunların terminal dendritleri ise tüylü hücrelerle sinaptik bağlantılıdır. İki tür afferent nöron bulunmaktadır. Tip 1; hücre gövdeleri büyük, miyelinli ve sinir fibrillerinin %95ini oluşturmaktadır. Bunların periferi İTH'lerdeyken, santral kısımları koklear nukleusta

sonlanır.[13,22] Tip II nöronlar ise afferentlerin yaklaşık %5'ini oluşturan, küçük hücre gövdeli, miyelinsiz liflerdir. Tek bir tane Tip II sinir lifi birden çok DTH ile bağlantılıdır.[13]

Efferent sinir fibrilleri beyinsapında yerleşimlidir ve lifleri direkt spiral gangliyondan geçer. Efferent nöronlar superior vestibüler sinir içerisinde bulunmaktadır.[15, 26, 35]



Şekil 4. İç tüylü ve dış tüylü hücre şematik görünümü. İTH'ler flask yapıda olup geniş afferent ve dolaylı efferent innervasyona sahiptir. DTH'ler ise silindirik yapılıdır, doğrudan afferent ve efferent innervasyona sahiptir.[22]

2.1.3.1.1.3 Kokleanın Diğer Hücreleri

Korti organının destek hücreleri; Deiters, pillar, Hensen ve falangeal hücrelerdir. Deiters hücreleri, baziler membrana bağlıdır, DTH'lerin çevresini sararak destek olur. Korti organı yan sınırında Hensen hücreleri bulunur ve apekse doğru uzarlar. Deiters ve Hensen hücreleri hem afferent hem efferent sinirlerle innerve olur. Claudius hücreleri baziler membran boyunca uzanan kübik hücrelerdir, skala timpani ve media arasında hücresel sınır oluşturular. Boettcher hücreleri ise koklea tabanından apekse doğru sayıları

azalan baziler membran apikalinde yer alan tek katlı kübik şekilli hücrelerdir. Baziler membrana fibronektin ve matriks bileşinlerini sağlarlar.[18, 36]

Korti organının en medialini iç sınır hücreleri oluşturur ve tektorial membranla devamlılık halindedir. Falangeal (parmaksı) ve iç sınır hücreler ise İTH'ler ile iç sulkus hücrelerini birbirinden ayırır. İç falangeal hücreler ise dışta DTH'leri birbirinden ayırırken iç kısımda İTH ve iç sulkus hücreleri arasında yerleşim gösterir. Claudius, Deiters ve Hensen hücrelerinin potasyum iyon döngüsünde önemli rol üstlendiği varsayılmaktadır.[18, 25, 36]

2.1.4. Santral İşitme Yolları

Spiral ganglionda yer alan bipolar nöronların santral uzantıları, VIII. sinirin miyelinli, koklear kısmını oluşturmaktadır. Sinir lifleri tonotopik bir organizasyona sahiptir. Düşük frekanslı sesler sinirin merkezinde bulunurken, yüksek frekanslılar sinirin dış yüzeyindeki apikal lifleri sarmaktadır.[15, 37]

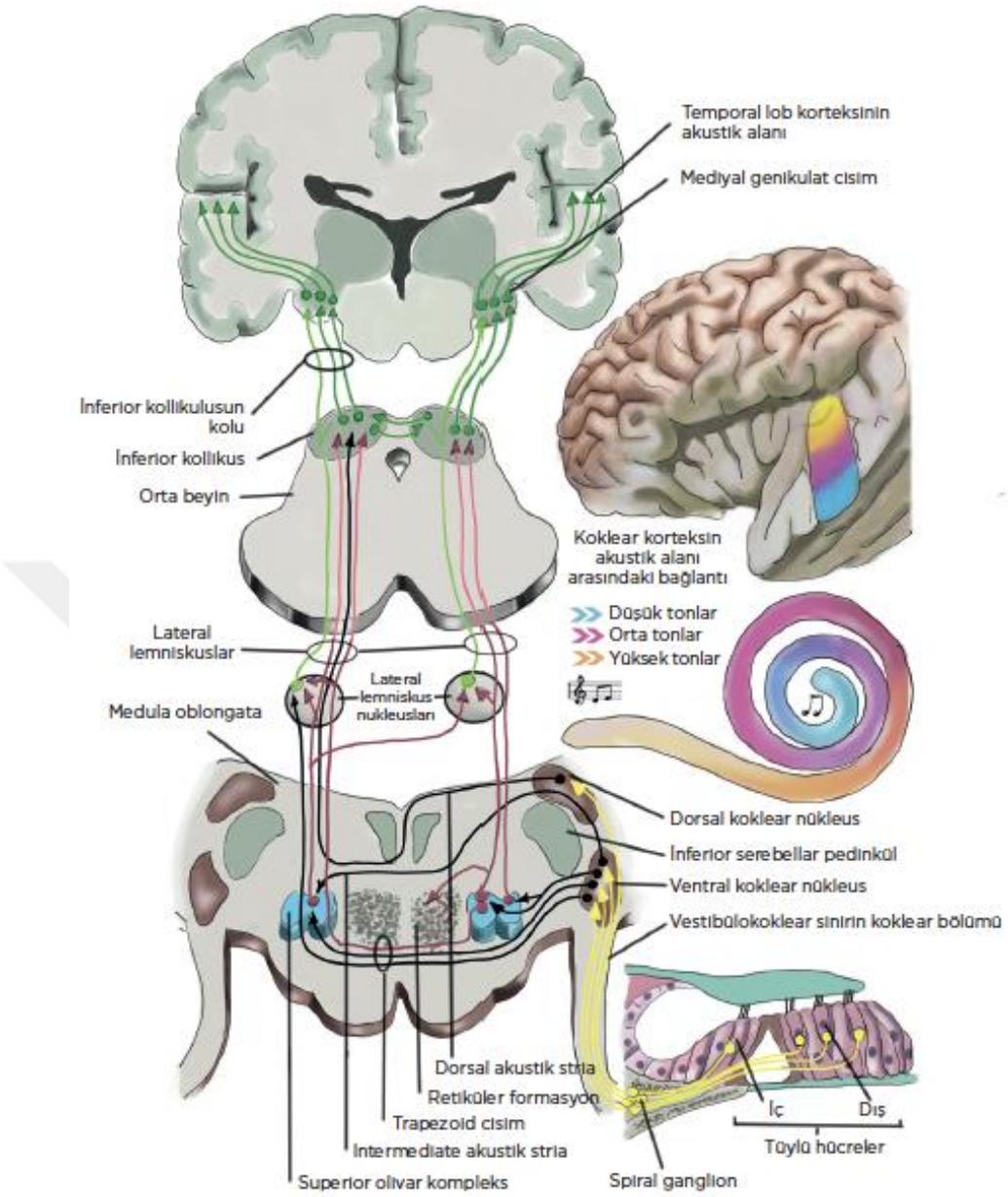
İşitsel bilginin işlenmesinde, santral işitme yollarında yedi ana merkez görevlidir.[38] Aşağıdan yukarıya doğru bu yolaklar, medulla oblangatada bulunan koklear nukleus, ponsta superior olivar kompleks, mezensefalonda yer alan lateral lemniskus, inferior kollikulus ve superior kollikulus, talamusta medial genikulat cisim ve temporal lob işitsel korteksidir.[15, 38]

Koklear nukleustan çıkan liflerin çoğunluğu kontralateral superior olivar komplekse uzanırken, az sayıda olan diğer lifler ipsilateral superior olivar komplekse ulaşmaktadır. Superior olivar kompleks, her iki kulaktan da gelen bilgilerin birleştiği ilk merkezdir. Superior olivar kompleksin üstünde bulunan işitsel nükleuslar, gelen girdilerle beraber eksitatör veya inhibitör rol üstlenebilmektedir. Karşı kulağın stimülasyonu, genellikle nöron gövdelerinde eksitatör iken, aynı taraf kulağın uyarılması ise inhibitördür. Medial superior olivar kompleks, DTH'lerde çapraz yapan efferent liflerin kaynağıdır. Lateral superior olivar kompleks ise, İTH'lerde sonlanan çapraz yapmayan efferent liflerin kaynağıdır.[22, 37]

2.2 İşitme Fizyolojisi

Akustik uyaran, stapesin oval penceredeki hareketiyle perilenfi skala vestibüli boyunca hareket ettirir. Perilenfte meydana gelen dalgalar, helikotremadan skala timpaniye geçerek oval pencere inferiorunda yerleşen yuvarlak pencerede dışarı doğru itilme oluşturur. Perilenfte oluşan dalgalar hem endolenfte hem de baziler membranda apekse doğru ilerleyen hareket oluşturur. Yüksek frekanstaki seslerin oluşturduğu dalgalar koklea apikaline ulaşamazken; düşük frekanslı ses dalgaları baziler membran boyunca ilerleyebilmektedir.[12,19,28] Bu oluşan dalgalanmalar sonucu, iç tüylü hücre stereosilyaları eğilerek iyon kanallarının açılmasını sağlar. Böylece endolenfteki potasyumlar hücre içine geçer ve depolarizasyon başlar. Depolarizasyonla hücre gövdelerindeki voltaj duyarlı Ca^{+2} kanalları açılmasıyla perilenften kalsiyum akımı gerçekleşir. İTH'lerden sinaptik aralığa glutamat salınır ve afferent lifler stimüle olur. Dış tüylü hücrelerde ise elektromotililte aktifleşir. Stereosilyaların karşı tarafa hareketiyle hiperpolarizasyon gerçekleşir.

Endokoklear potansiyel, endolenf ve perilenf arasındaki 80 mV'luk potansiyel farktır. Kokleanın uyarılmasıyla oluşan veriler VIII. sinir lifleriyle ipsilateral koklear nukleusa, ardından kontralateral superior olivar komplekse taşınır. Lateral lemniskusu geçerek inferior kollikulusa ulaşır. Medial genikulat nukleustan sonra ise her iki temporal lobdaki primer işitsel kortekslere ulaşmaktadır. [39,40]



Şekil 5. Kokleadan, temporal lob işitsel kortekse kadar olan işitme yolakları[37]

2.3 Sıçan Kulak Anatomisi ve İşitme Sistemi

Wistar Albino ratlar, Rodentia takımının Muridae familyasında bulunan beyaz renk tüylü olan sıçan türüdür. Kafaları geniştir ve vücut uzunluğunu geçmeyen kuyrukları bulunmaktadır.[41]

Bakımlarının kolay olması, çabuk üreyebilmeleri, boyutlarının küçük olması ve yaşam sürelerinin kısalığı nedeniyle deneysel çalışmalarda tercih edilirler.[42] Çalışmalarda

en sık tercih edilen hayvanlar arasında bulunan sıçanlar, sağlık bilimi ile ilgili çalışmalarda farmakolojik ajan, tıbbi malzeme, ilaç ve aşıların geliştirilmesi gibi pek çok deneylerde kullanılmaktadır.[43] İşitmeyi konu alan hayvan modellerinde, insan kulağı anatomi ve fizyolojisi ile benzerlik göstermesi nedeniyle ratlar ve guinea pigler sık tercih edilen hayvanlardır.[44]

Ratların kulağı da insandaki gibi dış, orta ve iç kulak olarak üç kısımdan oluşmaktadır.[12,25] Dış kulak yolunun medialinde, insandaki mastoid hücrelere benzeyen bulla bulunur.[25] Timpan membran boyutu insanda ~66 mm^2 olup ratlarda ise ~11 mm^2'dir ve pars flaksida kısmı bulunmamaktadır[45,46].

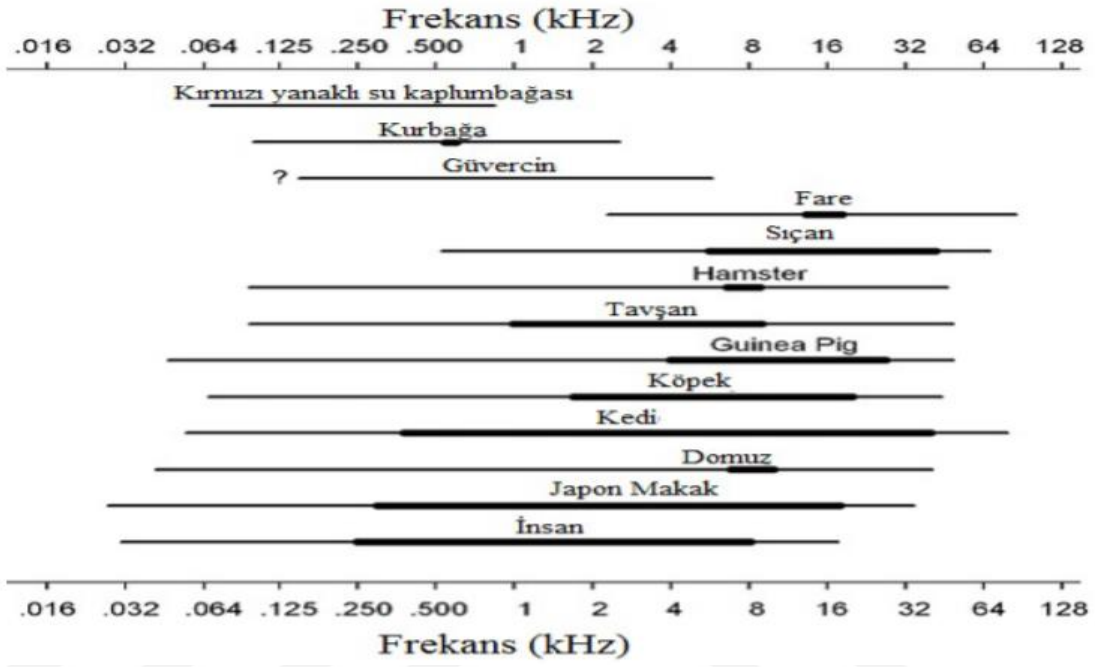
Sıçanların orta kulak yapıları ise insan orta kulak yapısı ile benzer olup temporal kemikte yerleşiktir. Orta kulak kemikçikleri ise epitimpanumda yerleşiktir ve stapes, inkus ve malleus yerine malleoinkudal kompleks ve stapes bulunur, insandakinin dörtte bir boyutlarındadır. [25,46] Östaki tüpü ise tamamen kartilaj yapıdadır.[12, 47]

Ratlarda koklea, 9-11 mm boyutunda olup timpanik bulba içindeki en belirgin anatomik yapıdır ve modiolus etrafında üç tur dönüş yapar; insanda ise bu dönüş sayısı 2.5-2.75'tir.[48] İnsanlarda gibi şekilde skala media, skala vestibüli ve skala timpani bulunur. Endolenf ve perilenf içeriği yine insanlardakine benzer tespit edilmiştir.

Oval pencere skala vestibüliye açılırken; yuvarlak pencere ise skala timpaniye açılmaktadır ve perilenf içerirler. Skala vestibüli ve timpani apikalde birleşir. Skala mediada ise endolenf bulunur. Skala media ve vestibülinin arasında insandaki gibi Reissner membranı yer almaktadır. Skala medianın tabanında ise korti organı yerleşmiştir.[46] Ratlarda DTH sayısı 7000 civarında iken İTH 2000 kadardır.

Çoğu memeli hayvanda işitmenin ortak özelliği, 12 kHz ve üzeri frekanslardaki sesleri duyabilmesidir. İşitmenin üst sınır frekansı, insanlarda 18-20 kHz'e, ratlarda ise 70 kHz'e kadar çıkabilmektedir.[49] Ratların işitme düzeyi yüksek frekanslarda, alçak frekanslardan daha iyidir. İşitmelerinin en duyarlı olduğu ise 8 ve 32 kHz frekanslarıdır. İşitmelerinin en iyi olduğu aralık ise 8-32 kHz arası olup, 32 kHz'den sonra işitmeleri kötüleşir.[34, 49]

Ratların kokleası da insandaki gibi tonotopik organizasyon gösterir. Düşük frekanslı sesler apikalde, yüksek frekanslılar ise bazalde yerleşim gösterir. Fakat bu organizasyon işitilen frekansların farklı olması sebebiyle insandakiyle benzer değildir.[27]



Şekil 6. Laboratuar hayvanları ve insanlardaki işitme frekans aralıkları. Kalın çizgi 10 dB Sound Pressure Level (SPL), ince çizgi ise 60 dB SPL şiddetindeki eşik değerleri göstermektedir.[49]

2.4. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

2.4.1. Gürültü

Gürültü, periyodik olmayan frekanslardan oluşan, belirgin bir yapısı olmayan, istenmeyen sesler olarak tanımlanmaktadır. Nitelik ve niceliği bozulmuş ögeleriyle, kişilerde ruhsal ve bedensel olarak zararlara yol açabilmektedir.[2,50] Gürültü, iletişim problemlerine, kişide stres ve sinirlilik haline, verim düşüklüğüne, konsantrasyon bozukluğuna, kardiyovasküler hastalıklara, tinnitusa, geçici ve kalıcı işitme kaybına neden olabilen ciddi bir mesleki tehlike olarak kabul edilir.[26, 51]

Teknolojinin gelişmesi modern hayatın parçası olarak yaşamı kolaylaştırmakta; ancak beraberinde gürültüyü de içeren olumsuz etkileri getirmektedir. Gürültü, iş

yerlerinde, eğlence alanlarında, silahlı kuvvetlerde ve endüstride karşılaşılan önemli bir toplumsal sorundur.[52]

2.4.2. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

İşitme kaybı, dünya çapında hızla büyüyen önemli bir sağlık problemidir. Dünyada ortalama 600 milyon insanın çeşitli nedenlerle işitmede kayıp yaşadığı ve bu sayının 2050 yılına kadar 1.2 milyar olacağı öngörülmektedir.[53] Presbiakuziden sonra en sık görülen önlenebilir işitme kaybı olmasının yanı sıra meslek hastalığı olarak görülmesi de oldukça yüksektir.[6, 52] DSÖ, işitme kaybı vakalarının üçte birinin gürültü maruziyeti ile ilişkili olduğunu bildirmiştir.[3,5] GBİK'ya yol açan risk faktörleri arasında fabrikada, inşaatta veya madende çalışıyor olmak, yüksek gürültülü ortamlarda bulunmak ve yüksek sesli müzik dinlemek, yaş, bilinen kulak hastalığı, hipertansiyon ve diyabet gibi ek komorbid hastalık varlığı olarak sıralanabilir.[54]

Kokleada gelişen hasar ve buna bağlı oluşan işitme kaybının düzeyi gürültünün süresi, frekansı, şiddeti ve temporal lob karakteristiğine bağlıdır.[55,56] Bunların yanında; gürültüye günlük maruziyet süresi, yaş, kişisel duyarlılık genetik ve kimyasal faktörler (ilaçlar), işitme kaybının tipi, işitme kaybının mevcudiyeti, otolojik sorunlar, gürültülü ortamın yapısı, gürültü kaynağına olan mesafe ve kulakların gürültüye göre konumu da etkili faktörlerdir.[55, 57]

İç kulakta gelişen hasar, işitme kaybının yanında tinnitus, hiperakuzi, perde algısında bozulmalara yol açabilmektedir. GBİK'nın ilk belirtisi tinnitus olarak kendini gösterebilir.[50] Gürültüye bağlı gelişen işitme kaybının oluştuğu frekansın, uyaran frekansından yaklaşık 1,5 oktav üzerinde olduğu kabul edilmektedir.[50,58] İnsanda 3-6 kHz (genellikle 4kHz) arasında çentik görülerek, 2 kHz altında ve 8 kHz üzerindeki frekanslarda işitme düzelmektedir. Çevresel gürültü çoğunlukla geniş bant gürültüdür; ancak maksimum uyarım genellikle 1,5-2 kHz'de gerçekleşmektedir. GBİK'da 4 kHz civarında çentik oluşmasının bir sebebi gürültünün karakteri olsa dahi; DKY'nin rezonans frekansı başka bir önemli sebebi olarak gösterilmektedir. Dış kulağın rezonans frekansı, DKY'nin uzunluğuna göre değişmekle birlikte genellikle 2-4 kHz arasında olup; gelen uyarılar rezonans frekansında yaklaşık 15-25 dB şiddetlendirir bu sebeple 4 kHz civarında etkilenme daha fazla oluşur.[59,60] Gürültüye maruziyet ile işitme kaybı ilk olarak yüksek frekanslarda, daha sonra alçak frekanslarda kendini gösterir. İşitmenin bu belirli

frekanslarda etkilenmesinde, bazalden apekse doğru kan akımının azalmasının ve koklea dönüş açısının da etkili olduğu düşünülmektedir. [50,61]

Gürültüye bağlı gelişen işitme kayıpları 3 kategoride sınıflandırılabilir. Bunlar; geçici eşik değişikliği, kalıcı eşik değişikliği ve akustik travmadır.

2.4.2.1 Geçici Eşik Değişikliği

Geçici eşik değişikliği, gürültünün frekansı, şiddeti ve maruziyet süresine göre değişmekle birlikte 3– 6 kHz arası frekanslardaki işitme eşiklerinin düşmesi ile karakterize durumdur. Genellikle 70-80 dBA civarındaki akustik uyaranlara kısa süreli maruziyet sonrası işitsel yorgunluk olarak kendini gösterir. Gürültünün şiddeti ve frekansı geçici eşik kayması üzerindeki belirleyicilerdir ve işitmeye etkisi yaklaşık 30 dB kadardır. Dolayısıyla kişide işitme kaybı şikayeti olmadan yalnızca tinnitus gelişebilmektedir.[50, 56]

DTH'deki kanalların kısa süreli kapanması sonucu korti organında mekanik duyarlılıkta azalma ya da İTH'lerin aşırı uyarılması ile nörotrasmitter salınımı artışıyla birlikte koklear kan akımında azalma, destek hücrelerinde ise burkulmalar, iyon dengesinde bozulmalar oluşur ve 'Geçici Eşik Değişikliği' meydana gelmektedir.[6, 62]

İşitme hassasiyetinin azalmasıyla karakterize bu durumda kokleadaki fiziksel değişimler ve işitmedeki kayıp, 24-48 saatte tamamen normale dönebilmekte ancak sinir dejenerasyonuna neden olduğu ve artan yaşla birlikte presbiakuzi riskini arttırdığı kabul edilmektedir.[56, 63]

2.4.2.2 Kalıcı Eşik Değişikliği

Kalıcı eşik kayması, genellikle geçici eşik kaymasının devamı olarak oluşan ve iç kulakta geri dönüşümsüz hasar meydana getiren eşik değişiklikleridir. Steriyosilyaların ayrılması, tüylü hücrelerde kayıp, spiral ligamanda fibrosit ve spiral ganglionda hücre kaybına ek destek hücreler aracılığıyla skar dokusu oluşumu ile karakterizedir.[56,64]

Yüksek sese uzun süre ve yoğun maruziyet sonucunda, hücrelerde artan metabolik aktivite DTH'lerin elektromotilitesini bozar. Bu bozulma sonucu enerji ihtiyacını

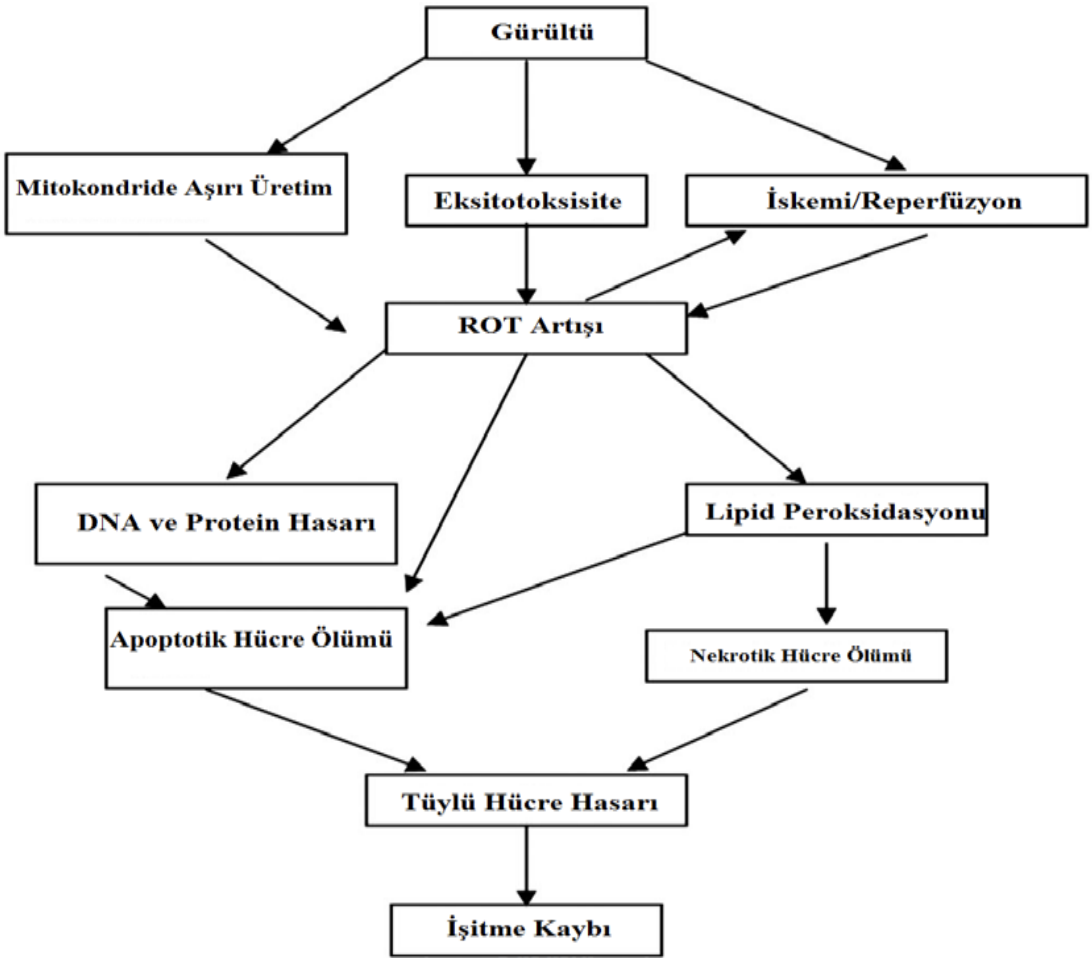
karşılamak amacıyla DTH mitokondrilerinde oksijen kullanımı artmasıyla, ortamda reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT) yani serbest radikallerin oluşumu başlar. Serbest radikallerin artışı, oksidatif stres mekanizmasıyla hücrede lipid, protein moleküllerinde parçalanmalara, hücre içeriği ve DNA'da hasar meydana getirip, metabolik bozulma süreci başlatmaktadır. Hücrede nekroz ve apopitoz gerçekleşir. Memelilerdeki tüylü hücrelerde rejenerasyon gerçekleşmediğinden, kayıp geri dönüşümsüz boyuta ulaşır. Bu artık kalıcı işitme kaybı gerçekleşme sürecidir.[56, 60, 64] Gürültünün kümülatif etkisi de olduğundan, tüylü hücre kaybı gürültü yokluğuna rağmen bir süre daha devamlılık gösterir.[50,65]

2.4.2.3 Akustik Travma

Akustik travma, patlama gibi çok yüksek şiddetteki kısa süreli akustik uyaranlar sonrası meydana gelen bir tablodur.[50] Akustik refleks sayesinde, iç kulağın gürültü etkisinden kendini kısmi koruma özelliği mevcuttur. 90 dB üzeri uyaran varlığında stapedius ve tensor timpani kaslarındaki kasılma, iç kulağa sesin girişine karşı dirence yol açar. Yüksek şiddetteki, kısa süreli ani gürültü ise akustik refleksin gerçekleşmesinden önce kokleaya ulaşır. Akustik travma sonucunda İTH ve DTH'lerde kalıcı hasarın yanı sıra, destek hücreleri ve tektoriyal membranda da etkilenme meydana gelmektedir.[66]

2.4.3. İç Kulakta Gürültüye Bağlı Hasar Mekanizmaları

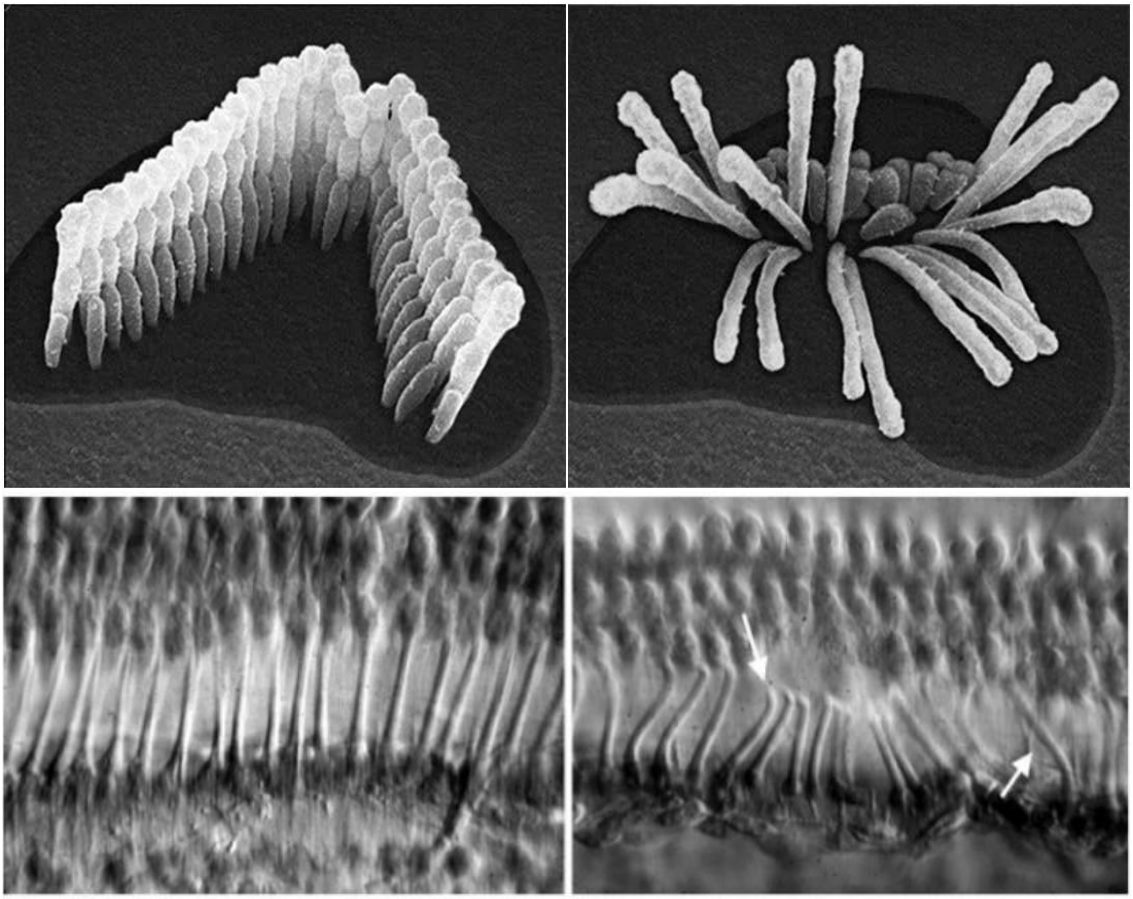
Yüksek şiddetli akustik uyaran, koklea yapısında mekanik ve metabolik hasar yaratmaktadır. Önceleri, gürültünün oluşturduğu hasar yalnızca dış ve iç tüylü hücrelerde, destek hücrelerinde ve korti organında direkt mekanik travma olarak bilinirken, günümüzde koklear kan akımında azalması ve hücrede gürültüyle birlikte metabolik aktivite artışı sonucu reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin oluşmasıyla oksidatif stres gibi metabolik süreçlerin meydana geldiği gösterilmiş ve bu konuda çalışmalar yapılmaktadır.[28, 29] (Şekil 7)



Şekil 7.Gürültüye bağlı gelişen koklear hasar mekanizmaları[10]

2.4.3.1 Gürültüye Bağlı Mekanik Hasar

Yüksek şiddetli akustik uyarana uzun süreli maruziyet veya patlama tarzındaki ani, kısa süreli gürültüye maruz kalma sonucu orta ve iç kulak yapılarında direkt mekanik hasar meydana gelebilmektedir.[67] (Şekil 8) Bunlar; timpanik membranda perforasyon, orta kulakta kemikçikler arası kopukluk, iç kulakta ise tüylü hücrelerde tektoriyal membran ile bağlantı kopukluğu, endolenf ve perilenfin birbiri ile karışması, korti organı ve destek hücrelerinde dejenerasyon ve skar gelişimi olarak kendini gösterir.[68]



Şekil 8.Gürültü öncesi ve sonrası mekanik hasar görmüş DTH'lerin faz-kontrast görünümü[100]

2.4.3.2 Gürültüye Bağlı Metabolik Hasar

Gürültüye bağlı işitme kaybı gelişiminin büyük bölümünden, hücrelerde oluşan biyokimyasal mekanizmaların aracılık ettiği tüylü hücre hasarı sorumludur. Önceleri daha az tanımlanan bu metabolik süreçler, hücre ölümü ve sağ kalım mekanizmaları üzerine yoğun çalışmalar yapan ve tedavi arayışlarının önem taşıdığı deneysel araştırmalar sayesinde aydınlatılmaya başlanmıştır.[69]

2.4.3.2.1 Kokleada Serbest Radikal Oluşumu ve Etkileri

Serbest radikaller, pek çok fizyolojik ve patolojik metabolizma sonucu oluşan elektron bulunduran yüksek enerjili, kimyasal aktivitesi yüksek, stabil olmayan bileşiklerdir.[65,72] Organizmada oksijen kullanarak gerçekleşen metabolik tepkimeler sonucunda, kimyasal tepkimeye girme potansiyeli olan reaktif oksijen türleri oluşur.[73]

Vücuttaki oksijenin %3-5'i, oksijen radikallerine dönüştürüldüğünden reaktif oksijen türevleri hücrelerde sürekli üretilmektedir.

Hücrelerin mekanik veya metabolik olarak aşırı uyarılması sonucu reaktif oksijen/nitrojen türleri ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin bozulmasıyla oksidatif hasarla sonuçlanan oksidatif stres meydana gelmektedir.[70] Oksidatif stres, birçok hastalığın patogenezinde olduğu gibi gürültüye bağlı işitme kaybında da kritik rol oynamaktadır.[70,71]

Serbest oksijen radikalleri, akustik travmanın hemen sonrasında koklear dokuda tespit edilmiş ve morfolojik hasar oluşmasından önce dahi tüylü hücrelerde serbest radikaller saptanmıştır. Bu durumun da hasar başlamasında rolü olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, serbest radikallerin, kokleada sese maruziyet sonrası 7-10 günlük sürede bazaldan apekse doğru yayıldığı saptanarak; oksidatif stresin ilerleyici koklear hasarı tetiklediği gösterilmiştir.[69]

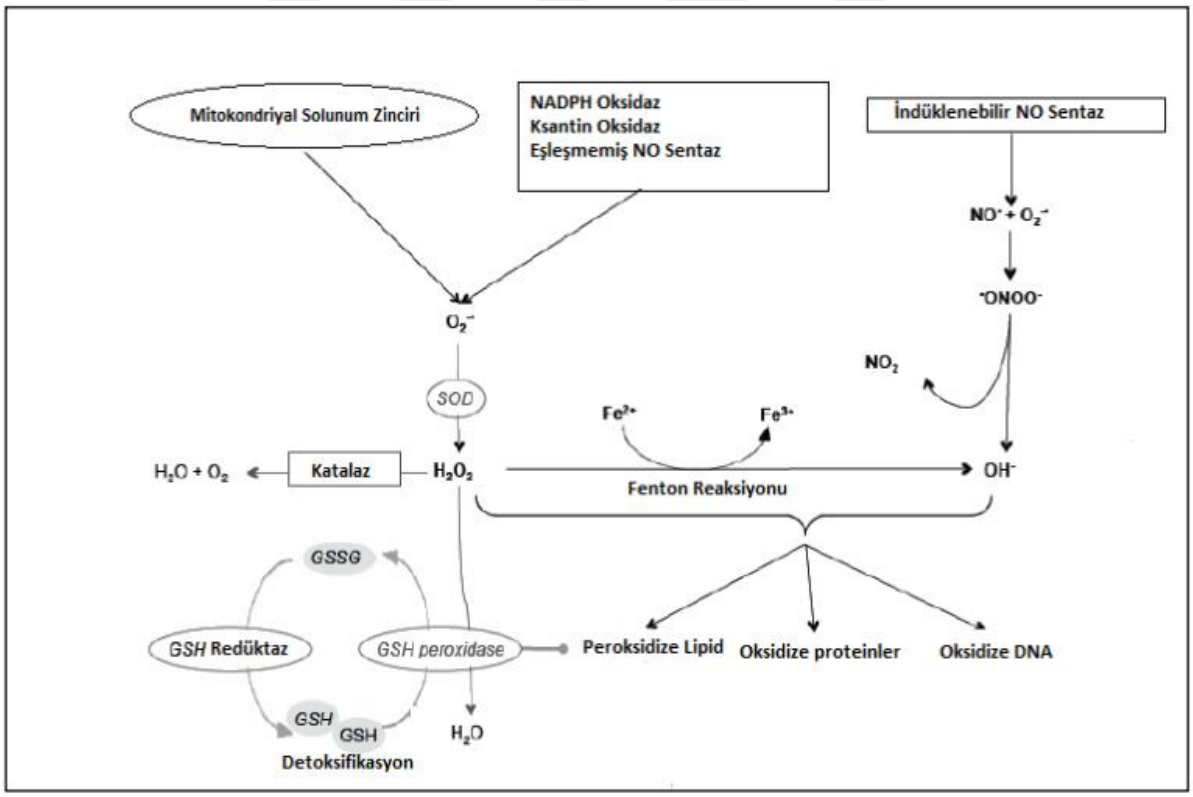
Gürültüye maruziyet sonucu, mekanik ve metabolik etkilenmeyle iç kulakta meydana gelen oksitadif stres mekanizmasında; hücre sitoplazmalarında serbest dolaşan eşlenmemiş elektronlar oksijen ile bağlanarak reaktif oksijen ve reaktif azot türlerini oluşturmaktadır.[73] Gürültüye bağlı işitme kaybı yanında, ototoksik ilaç kullanımının da kokleada serbest radikal oluşumunu artırdığı gösterilmiştir.[9,74] Oksijen ve azot yapılı bu moleküller, tek bir elektron taşımaları sebebiyle hücrede diğer moleküllerle tepkimeye girme eğiliminde olurlar. Başlattıkları bu tepkimeler sonucu protein, lipid, DNA ve nükleotid, koenzimler gibi pek çok biyolojik materyalde hasar oluştururlar. Hücre bileşenlerinin ayrılması ve hücre dışına yayılmalarıyla, süreç ilerledikçe etraf dokularda da hasara yol açarak hücre kayıplarına neden olurlar.

GBİK gelişim mekanizmasında üç çeşit reaktif oksijen türevi rol almaktadır. Bunlar; süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksit iyonlarıdır. Tanımlanan reaktif azot türleri ise peroksinitrit (ONOO-) ve nitrojen oksittir (NO).[28]

Reaktif oksijen türevleri, doymamış yağ asitlerinden bir hidrojenin ayrılmasıyla oluşan lipid radikalleridir. Oluşan bu yapı önce oksijenle tepkimeye girip lipid peroksi radikalini sonrasında ise lipitlerle gerçekleşen reaksiyonlar sonucu lipid hidroksiperoksitleri oluşturmaktadır. Ortamdaki bakır ve demir molekülleri hem lipid

peroksit oluşumunu hızlandırır hem de bu radikalleri sitotoksik ürünlere dönüştürmektedir. [65,75] Lipid peroksidasyonu, hücre membran proteinlerini hasara uğratmaktadır. Serbest radikaller doğrudan oluşturdukları biyokimyasal hasarın yanında, dolaylı toksik etkilere de sahiptir. Lipid peroksidasyon ürünlerinin kendileri hücrede apopitoza yol açabiliyorken; izoprostanlar gibi vazoaktif ürünleri de koklear kan akımında azalmaya sebep olabilmektedir. Gürültü sonrası gelişen iskemi ve reperfüzyon, pozitif feedback döngüsüyle serbest radikal oluşumunu daha da arttırabilmektedir.[65, 69] Serbest radikaller, interlökin-6 ve tümör nekroz faktör-alfa gibi proinflamatuar mediyatörlerde artışa yol açarak inflamasyona ve koklear hasarda artışa sebep olabilmektedir.[76]

Kokleada ROT / RNT üretimi; yaşa, ilaca ve gürültüye bağlı işitme kaybında anahtar rol almaktadır. Akustik travma sonucu serbest radikallerin aşırı artışı, mitokondriyal hasar, glutamat eksitotoksisitesi ve iskemi/ reperfüzyona bağlı iç kulakta hasarla sonuçlanmaktadır.[52,72]



Şekil 9.İç kulaktaki hücresel ROT/RNT oluşum yolakları ve detoksifikasyon.[73]

2.4.3.3 Glutamat Eksitotoksisitesi

Glutamat afferent liflerin önemli eksitatör nörotransmitteri olup bilgiyi alan sensörinöral hücre ve işitsel merkez arasındaki iletimi sağlamakla görevlidir. Yoğun gürültü, İTH sinapslarındaki glutamatın aşırı salınımıyla sonuçlanır. Bu, eksitoktoksisite olarak tanımlanmaktadır. Glutamat eksitotoksisitesi sonucu hücrede artan serbest radikal üretimiyle hücrede apopitoz ve buna bağlı olarak tüylü hücre ve nöral hücrelerde ölüm meydana gelir. Glutamatın düşük seviyede olması normal uyarımın bozulmasına, artan salınımı ise kalsiyum homeostazının bozulmasına yol açmaktadır. Glutamat, hücre içine kalsiyum geçişine yol açarak hücrede hasar oluşturmaktadır.[65, 77, 78] Eksitotoksisite ile tetiklenen hücre ölümü, hücrelerde şişmeye yol açan klor ve sodyumun ardından, kalsiyumun hücre içine geçişinde görev alan özel reseptörler aracılığıyla sürdürülür. Bu reseptörler 3 başlıkta incelenebilir. Voltaj bağımlı aktive olan N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörleri, glutamat bağlanması sonucu kalsiyum ve sodyumun hücre içine geçişini, K^+'un ise hücre dışına çıkışını sağlarlar. Voltaja bağımlı olmayan Amino-3-hidroksil-5-metil-4-izoxazol porpionate (AMPA) ve kâinat reseptörlerinin aktivasyonu ile de hücre içine Na^+ girişi gerçekleşirken hücre dışına potasyum çıkışı olur. Eksitotoksisite sonucu ilk aşamada depolarizasyon uzar. Hücre dışındaki klor iyonları, gelişen elektrokimyasal çekim sebebiyle hücre içine girer. Hücre içindeki iyon dengesinin sağlanması için hücre içine sodyum girer ve hücrelerde şişme meydana gelmektedir. Bu hızlı fazda AMPA reseptörleri görev alır. Metabotropik glutamat reseptörleri aktive olduğunda ise fosfolipaz-C'yi aktive ederek hücre içi kalsiyumu serbestleştirirler. Na-K ATPaz mekanizmasındaki yetersizlik hücre içi sodyum miktarında artışa sebep olur. Bu sodyum artışı sitotoksik ödeme, intrasellüler asidoz ve lizise yol açmaktadır. Sonraki aşamada ise kalsiyumun hücre içine geçişi olur ve proteaz/lipaz aktivasyonuyla hücre hasarı ile sonuçlanır.[65, 79, 80]

Glutamat eksitotoksisitesi lipid peroksidasyonunun başlaması, Na-K ATPaz aktivasyonunun bloke olması, mitokondriyal solunum enzimlerinin ve gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz tepkimelerinin engellenmesi aracılığıyla hücre kaybına yol açan, ROT ve RNT'nin oluşması ile sonuçlanan olaylar zincirini başlatır.[80]

2.4.3.4 Kalsiyum (Ca^{+2}) Homeostazı

Hücre içi kalsiyum, nörotransmitter madde salınımında rol almakla birlikte hücre içinde ikinci mesajcı olarak da görevlidir. Bu sebeple nöron içi kalsiyum dengesi hayati önem taşımaktadır. Mitokondriyal kalsiyumun primer görevi hücre içinde oksidatif fosforilasyonu uyarmaktır.[13]

Mitokondri, metabolizmasında yan ürünler olarak üretilen serbest radikallerin en önemli kaynağıdır. Mitokondri kaynaklı serbest radikaller, potent bir antioksidan enzim olan NADPH gibi indirgeyici reaksiyonlar tarafından sıkı şekilde kontrol altındadır. Serbest radikallerin sitoplazmaya geçişini mitokondriyal membran sınırlar. Mitokondriyal membran bütünlüğünün veya potansiyelinin bozulması, bu radikallerin sitoplazmaya salınmasına ve ayrıca serbest radikal üretiminin artışına da yol açmaktadır. Kalsiyum homeostazı bu sürecin düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenmektedir.[6]

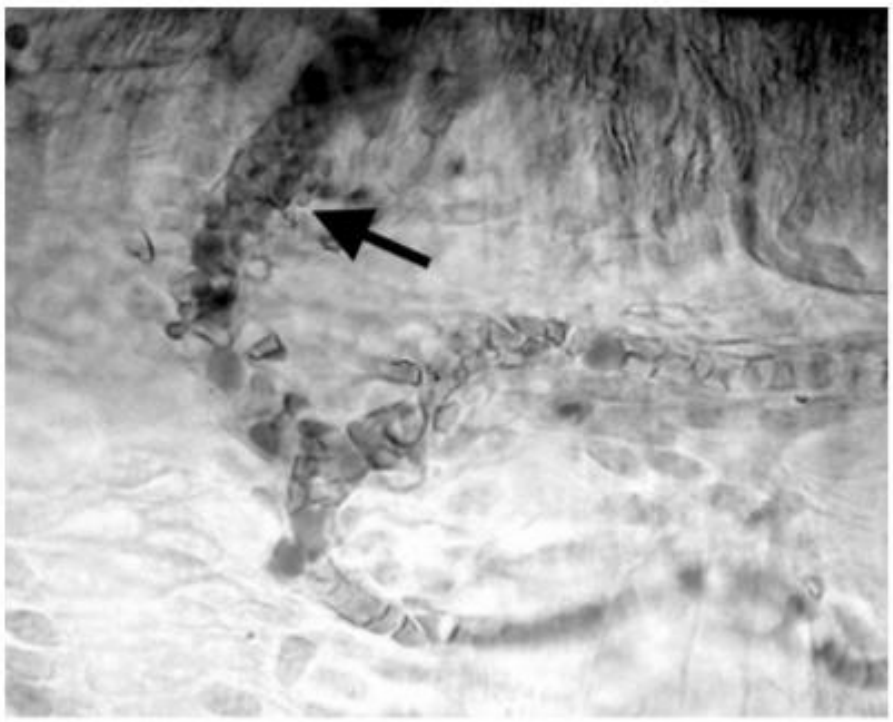
Gürültüye uzamış maruziyet, hücrenin uzun süre depolarize kalmasına neden olarak; iyon geçişinde görevli glutamatın aşırı salınımıyla kalsiyum homeostazı bozulur ve eksitotoksisiteyle beraber apopitotik ve nekrotik yolaklar aktive olur. Glutamat eksitotoksisitesiyle yalnızca afferent dentritlerde değil; tüylü hücrelerde de kalsiyum konsantrasyonunda artışa zemin hazırlamaktadır.[65]

Normal metabolizmada DTH'ler kalsiyum artışını Calbindin, Kalsekestrin ve Kalmodulin gibi Ca^{+2} bağlayıcı proteinlerle engellemeye çalışır.[81] Kalsiyum bağlayıcı proteinler, hücre içi kalsiyum düzeyindeki değişimle enzimlerin, kanal ve yapısal proteinlerin fonksiyonlarını düzenler.[82] Bununla birlikte Ca^{+2} çıkarma sistemlerinin yeterli faaliyeti ve mitokondriyal Ca^{+2} tamponlama kapasitesi de dış tüylü hücrelerdeki kalsiyum homeostazında önemli görev almaktadır. Bu koruyucu mekanizmalara rağmen; DTH'lere ani ve şiddetli gürültü sonrası oluşan yüksek konsantrasyondaki kalsiyumu dış tüylü hücreler tolere edemezler.[65] Gürültüye bağlı gelişen tüylü hücre hasarı ve işitme kaybını engelleme ve tedavisinde Ca^{+2} kanal blokörleri ve kemoteröpatik ajanların başarılı olduğu bildirilmiştir.[81, 83]

2.4.3.5 Koklear Kan Akımı

Hücresel metabolizma, yeterli besin ve oksijen varlığına ve atık ürünlerin ise efektif bir şekilde ortadan kaldırılmasıyla gerçekleşir. Koklear kan akımı, metabolik hemeostaz düzenlemesinde önemlidir. Şiddetli gürültü, özellikle sprial ligaman, baziler membran ve stria vaskülariste vazokonstrüksiyona ve kapiller dolaşımın azalmasına yol açmaktadır. (Şekil 10) Vazokonstrüksiyon sonucu kapiller kan akımı azalmasıyla hücrelerde hipoksi meydana gelmektedir. Perfüzyonun en fazla azaldığı baziler membran bölgesi gürültüden en fazla etkilenen frekans alanıdır.[18]

Hipoksi ve iskemi mekanizmasında hücrelerde adenozin trifosfat (ATP) sentezi durur bunun yanında; mevcut ATP kullanılarak adenozine parçalanır. Adenozin hücre dışına geçerek, inozin ve hipoksantine parçalanır. Hipoksi durumda ksantin dehidrogenaz enzimi etkinleşemez. Bunun sonucunda hipoksantin, ksantin oksidaz (XO) ile metabolize olarak ksantin meydana gelir. Bu zincir tepkimeler sonucunda serbest oksijen radikalleri açığa çıkar.[68,70,73] Akustik travmaya bağlı stria vaskülaris mitokondrilerinde oksijen yetersizliğine bağlı reaktif oksijen türevlerinde artış ve sonucunda koklear hasar oluşmaktadır.[18, 65]



Şekil 10. Şiddetli gürültü maruziyetine bağlı gelişen, spiral ligaman kan akımında azalma ve buna bağlı eritrosit birikimi.[64]

2.4.3.6 Apopitoz ve Nekroz

Yapılan araştırmalarda şiddetli gürültü maruziyeti sonrası tüylü hücreler ve diğer koklea hücrelerinde apopitoz ve nekrozun beraber etkin olduğu gösterilmiştir. Apopitotik hücreler, akustik uyarandan etkilenen bölgelerde yoğun görülmekte iken; nekrotik hücreler kokleanın diğer bölümlerinde de yoğun olarak saptanmaktadır.[84] Apopitoz, programlı hücre ölümü iken nekroz, programlanmamış pasif şekilde hücrelerin ölümüdür. (Şekil 12)

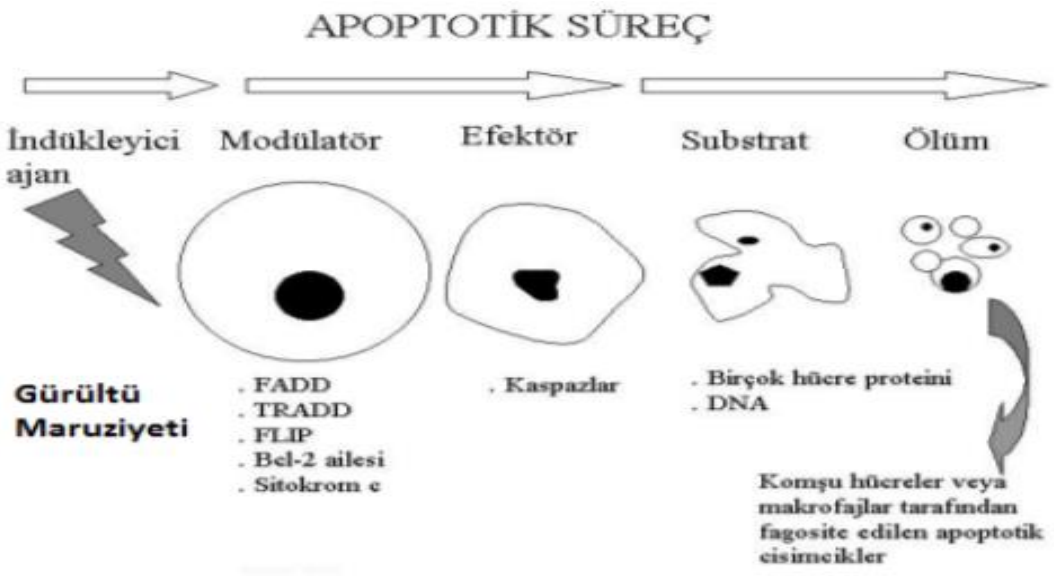
2.4.3.6.1 Apopitoz

Organizmalarda hücre bölünmeleriyle artan hücre sayısı hücre ölümleri ile dengelenmektedir. Programlı hücre ölümü olarak isimlendirilen apopitoz, fizyolojik olarak gerçekleşebildiği gibi, dokuya hasar veren ajanlarla karşılaşıldığında ya da immün reaksiyonlarda koruyucu mekanizma olarak da gerçekleşebilmektedir.[54, 85]

Apopitoz hücreye gelen haberci sistemler ile aktive olur. Bu uyaranlar iki ana yolu; hücre dışı/hücre ölüm reseptörü (ekstrinsik) ve hücre içi/mitokondriyal (intrinsik) apopitotik yolu harekete geçirirler. Apopitotik yollar farklı mekanizmalar tarafından gerçekleşse dahi tüm yolaklardaki ortak nokta, proteaz ailesinden kaspazların harekete geçerek, DNA'da kırılmalara, hücrelerde büzüşme ve yüzeyinde çıkıntılar gelişmesine neden olmalarıdır.[84] Bu süreçte hücrelerin birbirleriyle bağlantıları koparak, hücrelerde büzüşme ve pitotik hal alma, kromatin yoğunlaşması ve DNA'da nükleozomlarda ayrılma gerçekleşir. Hücrede organellerin yapısal bütünlüğü korunurken; hücre nükleusu parçalanır. (Şekil 11) Ortama yayılan apopitotik cisimcikler makrofajlar tarafından tanınıp fagositoz ile yok edilir.[84] Apopitoz mekanizmasının bozulmasıyla otoimmun ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser gelişebileceği öngörülmektedir.

Gürültü, hipoksi, ısı, ototoksik ilaçlar, radyasyon, gamma ve ultraviyole ışınlar gibi faktörler, hücrede DNA hasarı yaratarak apopitoza sebep olabilmektedir.[59,64,86] Şiddetli gürültüye maruziyet durumunda gelişen metabolik olaylar, korti organı ve destek hücrelerde intrensek ve ekstrensek kaspaz yolaklarının aktivasyonuna yol açar.[87] Bununla beraber nekrotik alanlar, apopitotik hücrelere göre daha geniş alanda tespit edilse dahi kaspaz veya hücre ölüm mediyatörlerinin etkileri henüz kesin olarak açıklanamamıştır.[84, 87]

Apopitoz gerçekleşmesinde etkili olduğu savunulan mekanizmalardan biri ise reaktif oksijen türevler üretiminde artış olmasıdır.[88] Gürültünün yol açtığı oksidatif stres artışı, reaktif oksijen türevlerinin direkt mitokondriyi uyararak sitokrom-c salınımına ve kokleada hidroksil ve süperoksit anyon radikallerinin çoğalmasına yol açar. Bu davranış da kaspaz aktivasyonu ile apopitoz sürecinin başlamasına neden olur.[59]



Şekil 11. Apopitoz aşamaları[54]

Apopitoz sürecinde seramid, Ca^{+2}, Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar, sitokrom-c gibi proteinler görev alır. Apopitoz sırasında hücre içine kalsiyum akışı olurken; bu Ca^{+2}, endonükleaz, transglutaminaz ve proteaz enzimlerinin aktivasyonuna, gen regülasyonu ve hücre iskeletinin organizasyonunda rol alır. Apopitozun başlamasını tetikleyen ve önleyen proteinler bulunmaktadır. Bax, Bad, Bak, Bcl-Xs, Bid, Bim, Noxa ve Puma gibi sitoplazmada bulunan proapopitotik proteinler, sitokrom-c ve apopitoz indükleyici faktör salınımını sağlayarak apopitozu tetiklerler. Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1 gibi anti-apopitotik proteinler ise mitokondri, endoplazmik retikulum ve nükleus membranında bulunurlar. Por oluşumu sağlayarak iyon transportunu düzenlerler. Bunun yanı sıra kaspazların öncü formları, apopitoz indükleyici faktör ve sitokrom-c salınımını engelleyerek apopitoz sürecini önlerler.[86]

2.4.3.6.2 Nekroz

Nekroz süreci, hücrede nükleusun hasarlanıp, hücre ve organellerin ödemlenmesiyle seyreden pasif hücre ölümüdür.

Gürültü, ototoksik ajan maruziyeti, ısı, gelen kimyasal ve fiziksel uyaranlar, hücre içi iyon dengesinde bozulmalara yol açmaktadır. Bu durumda hücrelerde ATP sentezi yeteriz olacağından Na^{+}/K ATPaz enzim aktivitesi azalır, hücrenin osmotik dengesi bozulur ve buna bağlı organeller şişer. Ödem sonrası parçalanan hücrelerden salınan maddeler ekstrasellüler boşlukta enflamasyona sebep olur. Salınan maddeleri fagosite etmek amacıyla gerçekleşen makrofaj kemotaksisi, nekroz mekanizmasının spesifik özelliğidir. Göç eden makrofajlar nekrotik bölgede fagositoz gerçekleştirir, bu nedenle enflamasyon, nekrozun önemli bir belirteci olup apopitozla arasındaki en önemli farktır.[86]

Gürültü maruziyeti sonucu hangi ölüm yolağının aktive olacağı konusunda iki faktörün etkisi savunulmaktadır. Bunlardan biri akustik uyaranın şiddetidir. Maruz kalınan gürültü şiddeti 105 dB olduğunda nekroz tetiklenirken, 120 dB ve üzerinde apopitoz sistemi aktive olmaktadır. İkinci faktör de gürültü ile aradaki zaman aralıklarıdır. Hasardan 1 saat sonra başlayan apopitoz 4 gün sonra yavaşlar ve 30 güne kadar devamlılık gösterir. Bu konuda günümüzde yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen işitsel duyu hücrelerinin apopitozuna neden olan yollar henüz tam aydınlatılabilmiş değildir.[54]

Tablo 1.Nekroz ve apopitozun farklı özellikleri.

Özellik	Apoptoz	Nekroz
Morfolojik Özellikleri	Hücre membranı sağlamdır. Hücre küçülür. Blebler oluşur. Kromatin kondensasyonu gerçekleşir. Organeller sağlamdır Apoptotik cisimcikler oluşur Erken evrede fosfatidil serin translokasyonu gözlenir	Hücre membran bütünlüğü kaybolur. Hücre şişer. Büyük vakuoller oluşur. Organellerin parçalanır. Hücre lizisi gerçekleşir. Fosfatidilserin Tanslokasyonu yoktur.
Biyokimyasal özellikleri	Programlıdır. ATP gerektirir. DNA kırıkları merdiven şeklini alır (jel elektroforezinde ladder).	İyon dengesi bozulur. ATP gerekmez. DNA rastgele parçalanır (Jel elektroforezinde smear).
Diğer özellikleri	Hücreler tek tek veya birkaçı birarada ölür. Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir. Makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Enflamasyon görülmez.	Hücreler gruplar halinde ölür. Patolojik etkiler sonucu gerçekleşir. Lizozomal enzimler salınır. Enflamasyona neden olur.

2.4.4 Gürültüden Korunma Yöntemleri

Gürültüye bağlı hücre hasarının patofizyolojik mekanizmasını kavramak ve GBİK'den koruyucu veya iyileştirici önlemleri belirlemek amacıyla pek çok çalışma yapılmaktadır. Kanıtlanmış mevcut korunma yöntemi, kaynağın uzaklaştırılması ve işitme koruyucu ekipman kullanımıdır.[6] İşitme koruyucu araçlar, gürültüyü güvenli aralığa indirse dahi pek çok çalışmada gösterilmiştir ki çalışanlar tarafından ekipmanlar uygun şekilde kullanılmamaktadır.[51] İşitme koruyucu ekipmanlar, gürültünün koruma sınırını aşan şiddeti ve akustik enerjinin koruyucuyu geçip direkt kafatası kemikleri aracılığı ile işitmeyi etkileyebilmesi gibi özellikleri nedeniyle işitme korumasını tam etkin sağlayamayabilirler.[89]

Gürültüye bağlı işitme kaybını önlemede konvansiyonel koruyucu yöntemlerin yanında farmakolojik ajan kullanımı hakkında yapılan araştırmalar devam etmektedir.[5]

2.4.4.1 Antioksidan ajanlar

Antioksidanlar, hücrelerin ROT/RNT'den zarar görmesini engelleyici moleküllerdir. Fizyolojik koşullarda ROT/RNT düzeylerini toksik olmayan düzeyde tutarken; hücre içi ROT/RNT artışına yol açan patolojik hadiselerde (örneğin gürültü), antioksidan savunma yetersiz kalmasıyla hasar mekanizmaları çalışmaktadır. Antioksidan savunma sistemi, elektron çifti verici ve detoksifikasyon amacıyla gerekli enzimlerin çalışmasında katalizör görevine sahiptir.[13] Antioksidanlar, reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu, dolayısıyla lipid peroksidasyonunu önlemektedir.

Antioksidanların dört farklı etki mekanizması mevcuttur:

1. Serbest radikalleri etkileyerek daha zayıf yeni moleküllere çevirme, toplayıcı özellikleridir.
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşerek; onlara hidrojen aktarıp aktivitelerini azaltma ya da inaktif forma dönüştürme, bastırıcı etkileridir. Vitaminler bu mekanizma ile etki gösterirler.
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayıp zincirlerini kırarak, işlevsiz hale getirmeleri ise zincir kırıcı mekanizmalarıdır. Seruloplazmin, hemoglobin ve mineraller zincir kırıcı etki göstermektedir.
4. Serbest radikaller tarafından oluşturulan hasarın onarılması onarıcı özellikleridir.[73]

Endojen kaynaklı antioksidan maddeler, enzimatik ve nonenzimatik olarak iki gruba ayrılırlar.

1. **Enzimatik endojen antioksidanlar:** Süperoksit dismutaz, Glutatyon peroksidaz, Glutatyon S-Transferanzlar, Katalaz, Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi, Hidroperoksidaz

2. **Non-enzimatik endojen antioksidanlar**: Melatonin, Transferrin, Seruloplazmin, Hemoglobin, Miyoglobin, Bilirubin, Ferritin, Glutatyon, Metiyonin, Laktoferrin, Sistein, Albümin[73]

Ekzojen antioksidan savunma molekülleri, vitaminler, ilaçlar ve gıda ürünleri gibi dışarıdan alınanlardır. Askorbik asit (vitamin C), α-tokoferol (vitamin E), β-karoten, folik asit (folat) bu grupta yer alır.[73]

Antioksidan savunma sistemi, tüylü hücrelerde oksidatif stres esnasında artmakta; ancak hasarın devamlılığında azalmaktadır. Oksidatif stres ve hasarıyla GBİK arasındaki sebep ilişkisinde yapılan çalışmalar, gürültü öncesi ve sonrası erken dönemde verildiğinde hücre ölümü ve gelişen işitme kaybını azalttığını gösterilmiştir.[70] Gürültüye bağlı işitme kaybında ROT/RNT'leri inaktive eden farklı ve yeni antioksidanların kullanımıyla gürültüden korunma veya gürültüye maruziyet sonrası gelişen işitme kaybının düzeltilmesi hedefiyle yeni protokoller geliştirilmektedir.[13] Bunların dışında nörotropik ajanlar, kalsiyum kanal blokörleri, vazodilatörler, glutamat antagonistleri ve steroid hormonlar da GBİK protokolünde kullanımı amacıyla deneysel çalışmaları yapılan maddelerdir.[5]

2.4.4.2.Karbon Monoksit Releasing Molekül-3 (CORM-3)

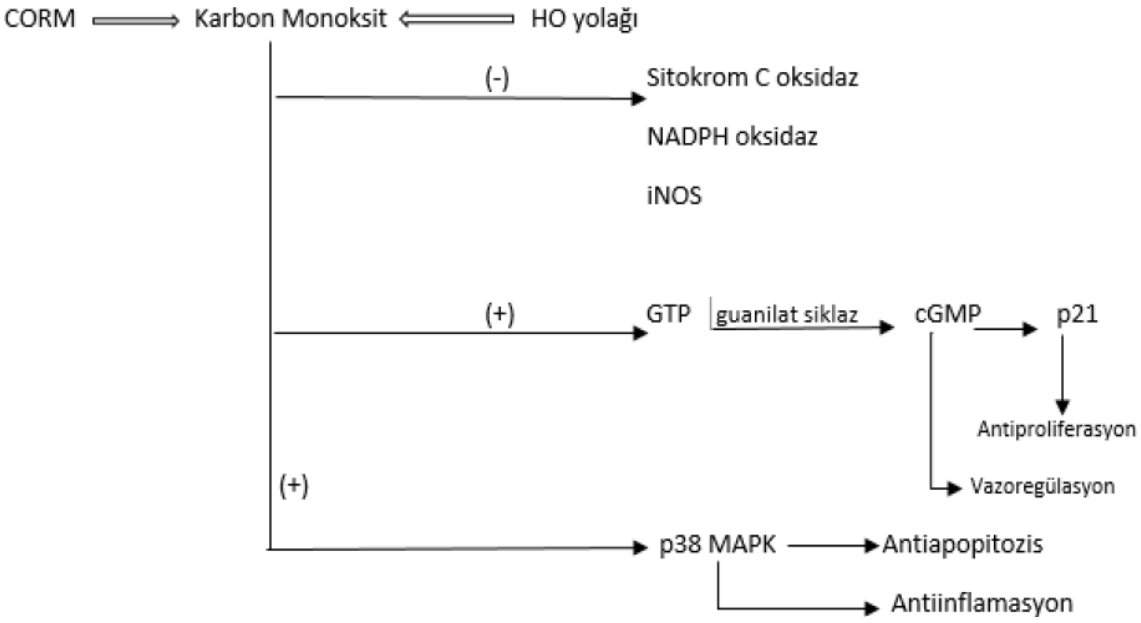
CORM-3 molekülü ile deneysel olarak, iskelet kası iskemi reperfüzyon hasarı, hemorajik şok, kompartman sendromu, akut miyokard enfarktüsü, iskemik inme, postiskemik myokard enfarktüsü iyileşme süreci, renal transplantasyondaki hücre ölümü, renal iskemiye sekonder akut böbrek yetmezliği, kardiyoprotektif ve renal koruyucu etki gibi iskemi-reperfüzyon hasarının pek çok alanında çalışmalar yapılmıştır.

Nitrik oksitin (NO) keşfi, nitrik oksitle karbon monoksitin (CO) yapısal benzerliklerinin tanımlanmasıyla, karbon monoksitin de vasküler tonus üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Ancak organizmalarda karbon monoksitin toksik etkileri belirsizlik yaratmaktadır. Karbon monoksit üzerine yapılan araştırmalarda, CO'nun farklı konsantrasyonlarda vasküler, antioksidan, antiapopitotik, antiproliferatif ve nöroprotektif etkilerinin mevcut olduğu gösterilmiştir.

Endotelyal hücre metabolizma ürünü olarak oluşan CO düz kasta ve dolaşımdaki kan hücrelerine parakrin etkiler göstermektedir.[90] Nitrik oksit gibi CO da, damar çeperlerindeki kas tonusunu idamede etkili olup, vasküler düz kas hücrelerinde de dilatasyona neden olabilmektedir.[91] Vasküler hasar sonrası damarların düz kas hücrelerinde, yıkılan endotelyal hücrelerin Hemoksijenaz-1 enzimini indüklemesi sonucu ortaya çıkan CO; vazodilatasyon, antiproliferasyon, antiinflamatuar, antioksidan ve antitrombotik özellikleri mevcuttur.[92]

Vasküler hasar sonucu, dolaşımdaki İnterlökin -1β ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinleri salan monosit ve makrofajlar, hasarlı bölgeye göç ederek inflamatuar sitokinlerde artışın gerçekleşmesine neden olur. Bunun sonucunda ise Hemoksijenaz-1 enzimi aktifleşir. Açığa çıkan CO, cGMP miktarını arttırmasıyla nötrofillerin travmatik alana göçünü önleyerek antiinflamatuar etki oluşturmaktadır.[93] Oksidasyonu inhibe ederek, O_2 radikallerini etkisiz hale getirip oksidatif hasarı önleyen etkileri mevcuttur.

Hemoksijenaz-1 enzimi, Mitojen Aktive Protein Kinaz (MAPK) yolağını aktive ederek hücre apopitozisini de engellemesiyle; CO, antiapopitotik etki oluşturmaktadır. Hasar sonrası aktifleşen HO-1 enziminin ürünü olan CO, hasarlı vasküler düz kas hücrelerinde vazokonstrüksiyonu önleyip ve antiproliferatif etki ile damar homeostazisi sağlar. (Şekil 12)

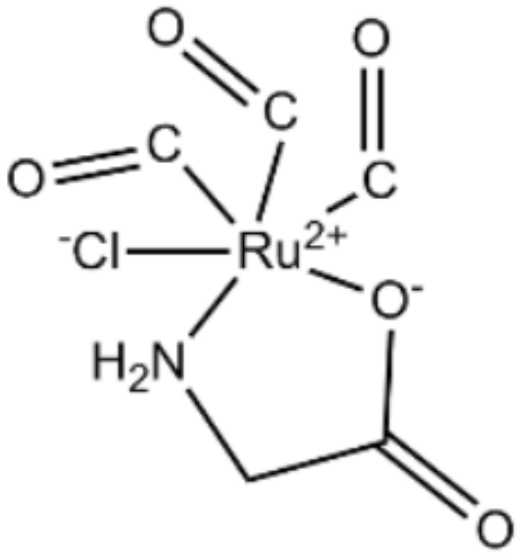


Şekil 12.CORM tarafından salınan CO metabolizması ve HO yolağı[101]

Yapılan araştırmalarda CO'nun organizmada fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda görevli olduğu gösterilmiştir. Bu amaçla CO'nun kontrollü, güvenli dozlarda kullanımı için karbon monoksit releasing moleküller (CORM) üretilmiştir.

CORM-1 [$Mn_2(CO)_{10}$)] ve CORM-2 [$Ru(CO)_3Cl_2]_2$'nin 400 mikromol/L konsantrasyonlarına kadar organizmada yaşamsal fonksiyonları olumsuz etkilediğine dair etki gösterilmemiştir.[94]

CORM-3, vazodilatör etkisini cGMP salınımını uyarıp K+ kanallarını etkinleştirerek gerçekleştirmektedir. CORM'lar sadece organik çözücülerde çözünebilen ve CO'yu salabilmesi için ışık gibi fiziksel ve kimyasal reaksiyonlara ihtiyaç duyan moleküllerdir. Karbon monoksiti kolaylıkla salabilen ve distile suda çözünebilen ilk üretilen molekül, trikarbonilkloro (glisinat) rutenyum(II) olan CORM-3'tür.[95](Şekil 13)



Şekil 13.CORM-3 kimyasal yapısı[101]

CORM-3, terapötik amaçlarla kullanılabilen ve CO salan farmakolojik aktif bir moleküldür. CORM-3'ün canlı organizmalarda CO bırakma süresi 1-5 dakika arasındadır. CORM-3, insan plazmasında, fizyolojik solüsyonlarda, hücre kültürlerinde ve biyolojik sıvılarda CO'yu kısa sürede salmasına rağmen, oda sıcaklığında, suda veya asidik ortamlarda 24 saatten uzun süre stabil kalabilmektedir.[94] CORM-3 canlı organizmalarda CO'yu hızla salıvermesi sayesinde nörotransmisyon, akut hipertansiyon,

anjina ve iskemik inme hasarı gibi patolojilerde kullanımına ilişkin çokça deneysel çalışmalar yapılmış, terapötik dozlara ulaşılabilmiştir. CORM-3'ün toksisite yaratmadığı ve terapötik konsantrasyonlarda canlı hücrelere olumsuz tepkimelere yol açmadığı gösterilmiştir.[96]

2.4.5. Objektif Odyolojik Değerlendirme Yöntemleri

2.4.5.1. Otoakustik Emisyonlar

Geçtiğimiz sürelerde kokleanın fonksiyonunu ve işitme sürecini açıklayan birçok teori öne sürülmüştür. Nörobilimci olan William Brownell 1983 yılında dış tüy hücrelerinin elektrik akımlarına cevap olarak milisaniyeler içerisinde uzayıp kısalabildiğini göstermiştir.[104] Prestin olarak adlandırılan motor proteini sayesinde DTH'lerin bu özelliği elektromotilite olarak isimlendirilmiştir. DTH'lerin elektromotilite özelliği kokleanın hassasiyetini, frekans seçiciliğini ve dinamik ranjını belirlemektedir. DTH'lerin akustik olarak uyarılması sonucunda kokleada oluşan ve dış kulak yoluna geri dönen bir ses üretilir. Kokleadaki fizyolojik aktivitenin sonucu olarak üretilen bu ses otoakustik emisyon olarak isimlendirilir[102]. OAE'lerin oluşması için DTH'lerin ve stria vaskülarisin fonksiyonel bütünlüğü gereklidir. OAE cevaplarının kaynağında iç tüy hücrelerinin veya afferent sinirin rol almadığı düşünülmektedir[103]. Hassas bir mikrofon yardımıyla dış kulak kanalından ölçülen OAE'ler düşük şiddetli akustik titreşimlerdir. OAE'ler DTH tarafından aktif işlemlenmenin yan ürünüdür ve koklear işlevin bütünlüğünü hassasiyetle ortaya çıkarma potansiyeline sahiptir.[103]

2.4.5.1.1. Otoakustik Emisyon Türleri

OAE'ler akustik uyarım varlığına göre 2'ye ayrılır. Akustik uyarım olmadan gerçekleşen emisyonlara spontan otoakustik emisyonlar, akustik uyarım ile oluşan emisyonlara ise uyarılmış otoakustik emisyonlar olarak tanımlanmaktadır.

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

DPOAE'ler eşzamanlı iki ayrı saf ses uyaranın prob yardımıyla verilmesi sonucu kokleadaki nonlineer işlemler olarak ortaya çıkar. DPOAE'yi oluşturmak için kullanılan

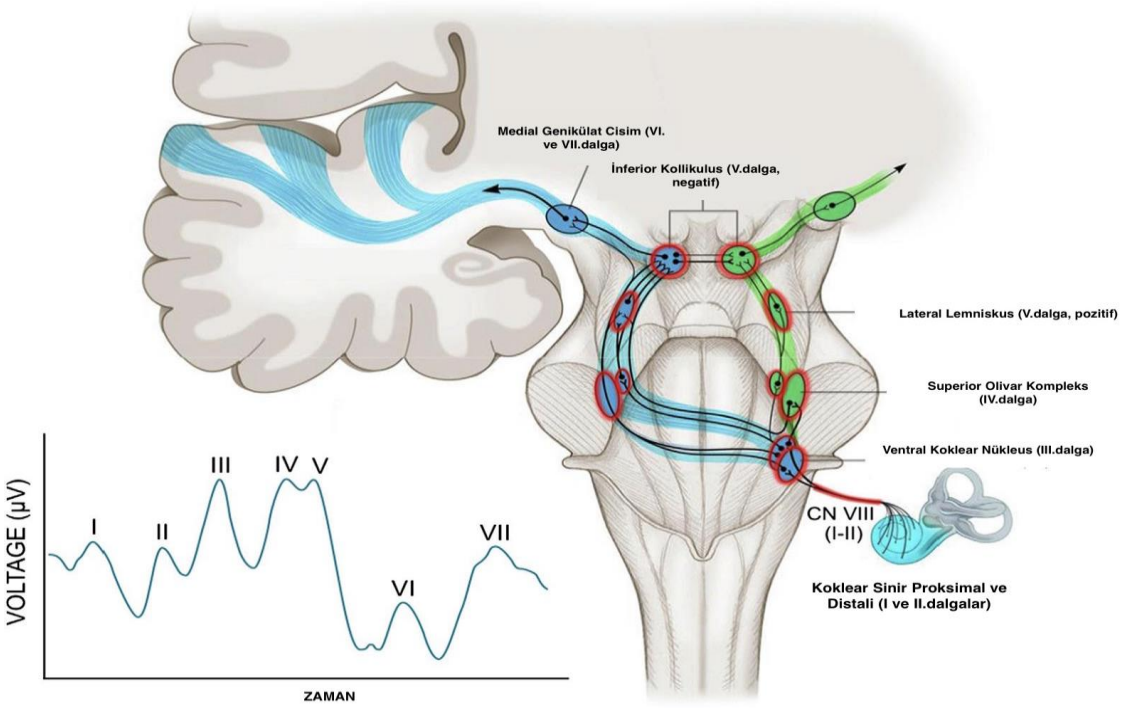
temel iki saf ses, “f1” ve “f2” olarak ve bu frekanslara karşılık gelen “L1” ve “L2” şiddet olarak belirlenir. L1’in seviyesi yaklaşık 65 dB SPL ve L2 seviyesi yaklaşık 50 dB SPL olacak şekilde ayarlanır.[104] İnsanlarda en güçlü DPOAE cevabı, 2f1- f2 denklemi ile temsil edilen frekansta meydana gelir. 2f1- f2 DPOAE cevabı, f2 / f1 oranı yaklaşık 1.22’ye eşit olduğunda en yüksektir.[104]

DPOAE’ler frekansa spesifiktir ve yüksek frekanslarda (500-8 kHz’e kadar) güvenilir cevaplara sahiptir. Yapılan bazı çalışmalarda DPOAE ölçümlerinden elde edilen sonuçlar ile saf ses odyometri eşikleri arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ancak DPOAE’ler işitme kaybına karşı kısıtlı bilgi vermektedir. Hafif ya da orta derece işitme kayıplı kulaklarda DPOAE yanıtlarının elde edilebildiği görülmüştür.

2.4.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)

Akustik uyaran sonucu beyinsapı düzeyinde oluşan elektriksel potansiyelleri bilgisayar tabanlı ölçümlerle değerlendirmek mümkündür. İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri (İUBP), merkezi sinir sisteminin bir kısmında uyarana yanıt olarak elektrofizyolojik fonksiyonun tepkisini gösterir. İUBP’ler, santral ve periferik işitme sisteminin bütünlüğünün objektif biçimde değerlendirilmesi için kullanılan odyolojik değerlendirmeyi sağlayan bir araçtır.[105]

İUBP’ler ilk işitsel uyarandan sonraki 10ms içinde oluşur. Oluşan dalgalar sıralı beş tane tepe noktası şeklinde bir morfolojik yapı oluşturur. İUBP, VIII. Kranial sinirden başlayıp beyine kadar gerçekleşen nöral etkinliği göstermektedir. İUBP’nin klinik önemini arttıran ve ön plana geçiren özellikleri ise yüzey elektrotlarıyla kolaylıkla ölçüm yapılabilmesidir. Test yanıtları uyku, koma, sedasyon gibi etmenler etkilememesi ve İUBP dalgalarının kendi içinde tutarlı olmasından dolayı beyinsapı bütünlüğünün hassas olarak değerlendirilmesi testin klinikte kullanımını arttırmaktadır. İUBP yanıtlarındaki tepe noktaları arasındaki latansların değişimleri, retrokoklear ve koklear ayrımı için yardımcıdır ve işitme hassasiyeti hakkında davranışsal eşiklere çok yakın olan eşik tahmini objektif veriler oluşturur. ABR yanıtlarında oluşan dalgalar VIII. kraniyal sinirden ve beyinsapındaki ilişkili yapılardan köken alır.[105]



Şekil 14.Beyinsapı Potansiyelleri Dalgaları ve Köken Aldıkları Nörolojik Yapılar

(http://www.hearingfoundation.in/HearingTest.htm web sitesinden alıntılanmıştır.)

Dalgaların anatomik kökenleri;

• **I. dalga** işitsel sinir liflerinin kokleadan ayrıldığı kısımdan VIII. kranial sinirin distalinden,

• **II. dalga** VIII. kranial sinirin beyinsapına yakın proksimalinden,

• **III. dalga** koklear nukleustan,

• **IV. dalga** superior olivar kompleksten,

• **V. dalga** lateral lemniskus ve inferior kollikulustan köken alır. (Şekil 14)

İUBP testinde işitsel uyarılar farklılık gösterebilir. Klik ve ton burst uyaran olmak üzere iki farklı şekilde verilebilir. Klik uyaran geniş band bir uyarandır. Ancak en iyi yanıt bölgesi 2000-4000 Hz saf ses eşikleridir. Ton burst uyaran ise klik uyarana göre daha çok frekansa spesifik bilgi vermektedir.

Sıçanlarda İUBP dalga kökenleri şu şekildedir;

- I. dalga VIII. kranial sinirden,
- II. dalga posterior ventral koklear nukleustan,
- III. dalga anterior ventral koklear nukleus ve trapezoid cisimden,
- IV. dalga superior olivar komplekten
- V. dalga ise lateral lemniskus ve intrakranial kaynaklıdır.[106]

Sıçan İUBP'lerinde en büyük ve düşük şiddetlerde gözlemlenen dalga II iken, en küçük amplitüdlü dalga III. dalgadır.[106]

2.4.6. Sıçanlarda Odyolojik Değerlendirme

Son yıllarda işitme sistemi ve patolojilerinin değerlendirilmesinde kemirgen kullanımında artış mevcuttur. Ratların genetik tarama, ototoksik etkilenme ve gürültü kaynaklı işitme kaybı değerlendirilmesinde oldukça faydalı bir deneysel model olduğu kanıtlanmıştır. Hayvan çalışmalarında, elektrofizyolojik ve davranışsal testler olarak iki farklı işitme değerlendirmesi kullanılabilmektedir.[58]

Davranışsal teknikler şartlı ve şartsız refleksler olarak iki grupta incelenebilir. Şartsız refleks, akustik uyarana karşı oluşturulan doğal tepkilerin gözlemlenmesidir. Preyer refleksi, bu amaçla kullanılan bir metod olup 1908'de Preyer'in sesli uyaran ile kobay kulaklarında seğirme hareketi gözlemlemesi olarak literatüre girmiştir. Startle refleksi ise, akustik uyarana karşı kobayların ekstremite, gövde ve/veya baş-boyun bölgelerindeki ani oluşan nonspesifik hareketler olarak tanımlanmaktadır. Şartlı refleksler de koşulsuz uyaranı takiben gelişen koşullu cevapları içermektedir.[97]

Davranışsal testler, insanda işitme sisteminin değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, hayvan modellerinde davranışsal yöntemleri uygulamak her zaman mümkün olmamaktadır. Çeşitli çalışmalarda davranışsal testleri uygulayabilmek için hayvanları şartlandırma teknikleri kullanılmıştır. Buna rağmen her araştırmada mümkün kılınamamıştır. Bu nedenle hayvan deneylerinde objektif sonuçlar veren elektrofizyolojik tetkiklerden İUBP ve DPOAE testleri işitme değerlendirilmesinde oldukça kıymetlidir.

İUBP'de klik uyaran işitme değerlendirilmesinde kullanılsa bile frekansa spesifik veri vermediğinden frekansa spesifik bilgi sağlayan ton burst uyaranın kullanılması önerilmektedir. Ton burst uyaran kullanılan İUBP testi farklı frekanslar hakkında detaylı bilgi sağlamaktadır.[58]

Sıçanların işitme frekansları, 70 kHz'i de kapsadığından işitsel değerlendirmeleri yüksek frekansları da içermelidir. Sıçanların işitme aralıkları göz önüne alındığında, yüksek frekans İUBP, ototoksisite ve gürültüye bağlı işitme kaybı değerlendirilmesinde işitme sistemi, iç kulak ve işitme sinirinin faaliyeti hakkında daha detaylı bilgi sağlamaktadır.[58, 98] Yaş, cinsiyet, kas aktivitesi, uyku uyanıklık durumu, myelinizasyon ve kullanılan ilaçlar gibi faktörler insanda olduğu gibi ratlarda da dalga morfolojisini etkilemektedir.

Ratlar nörolojik açıdan immatür doğar ve işitme fonksiyonları doğum sonrası iki haftada belirgin olarak gelişim gösterir. Doğum sonrası 10.günden itibaren koklea potansiyelleri tespit edilebilmesine rağmen dalga morfolojilerinin erişkin haline ulaşması 2 hafta kadar sürer. Dalga morfolojileri, latansı ve amplitüdü yaşa bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Ratlarda myelinizasyonun 5.günde başlayıp, 30. güne kadar devam edebildiği kabul edilir.[99]

İnsandakine benzer şekilde, dişi cinste erkeklere göre latanslarda kısalma ve amplitüdünde artış tespit edilir. İlaçların da dalga latans ve amplitüdlerinde minimal değişiklikler yapabildiği bilinmektedir. Ketamin, sıçanlarda sıkça kullanılan hızlı ve kısa etkili anesteziktir, dalga latansı ve amplitüdü üzerine etkisi gösterilmemiştir. İUBP dalgaları vücut sıcaklığından da etkilenebilir. Vücut ısısı 10° C altına düştüğü zaman, latansta uzama ve amplitüdünde azalma meydana gelirken, 42° C ve üzerinde dalga latanslarında kısalma gözlenir.[99]

3.MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığının 04.08.2022 tarih ve 6 sayılı toplantı kararının onayı ve TTU-2022-15346 proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Fonu desteğiyle yürütülmüştür. (Ek 1)

Araştırma, deneysel çalışma olarak planlandı. Araştırmanın odyolojik değerlendirmeler ile gürültüye bağlı işitme kaybı modelinin oluşturulması, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Ünitesinde ve deneysel kısmı Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Histopatolojik incelemeler ise Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ABD'de gerçekleştirildi.

Araştırmada ortalama 300-350 gr ağırlığında olan, 24 adet wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar araştırma süresince oda ısısında (21 ± 2 ºC) ve 12' şer saatlik aydınlık / karanlık ortamında tutulup, standart pellet wistar rat yemi ve dinlendirilmiş musluk suyu ile ad-libitum beslendi, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

3.1.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmaya 24 ratın 48 kulağı dahil edildi. Tüm ratların işitme ölçümünden önce otoskop ile otoskopik bakısı yapılarak, dış kulak kanalları temiz olanlar ile otoskopik bakısı normal olanlar araştırmaya dahil edildi. Deney grupları aşağıdaki şekilde düzenlendi:

Grup 1 (Serum Fizyolojik kontrol grubu, n=8): Kontrol grubuna bazal işitme ölçümünün ardından 1. günden 7. güne kadar intraperitoneal yol ile serum fizyolojik (SF) uygulandı. Birinci ve 7. günde işitme ölçümleri gerçekleştirildi. Yedinci günün sonunda eter anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 2 (Gürültü+Serum Fizyolojik grubu, n=8): Gürültü+serum fizyolojik grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. Ardından intraperitoneal yol ile serum fizyolojik (SF) uygulandıktan 1 saat sonra 4 kHz oktav band gürültü, 4 saat süreyle 120 dB SPL şiddetinde verildi. Gürültü sonrası 7.güne kadar intraperitoneal yol ile serum fizyolojik (SF) uygulandı. Birinci ve 7. gün işitme ölçümleri yapıldı. Yedinci gün işitme ölçümünün ardından eter anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 3 (Gürültü+CORM-3 grubu, n=8): Gürültü+CORM-3 grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi. Dört kHz oktav band gürültü, 4 saat süreyle 120 dB SPL şiddetinde verilmesinin ardından 1 saat sonra 10 mg/kg/gün intraperitoneal yol ile CORM-3 uygulandı. Yarılanma ömrü göz önüne alınarak gürültü sonrası 7. gün sonuna kadar günlük 10 mg/kg intraperitoneal yol ile CORM-3 enjekte edildi. Karaduman'ın rat ekstremitesinde CORM-3'ün iskemi reperfüzyon hasarına etkisini değerlendirdiği çalışma baz alınarak, çalışmamızda 10 mg/kg/gün CORM-3 uyguladık.[96] Birinci ve 7. gün işitme ölçümleri değerlendirildi. Yedinci gün işitme ölçümünün ardından eter anestezisi altında sakrifiye edildi. Deneysel modeller uygun şartlarda ve cerrahi setler ile gerçekleştirildi. Sakrifikasyondan sonra hayvanlar ve ortaya çıkan atıklar, tıbbi atık torbalarına alınarak Deney Hayvanları Laboratuvarı tarafından hastanenin imha bölümüne gönderilerek kurallara uygun koşullarda ve şekilde yok edildi. Gruplara yapılan uygulamalar, işitme değerlendirmeleri ve ratların sakrifikasyonunun zamansal çizelgesi Tablo 2'de verildi.

Tablo 2. Gruplara uygulanan işlemlerin zamansal çizelgesi

	Grup I	Grup II	Grup III
Çalışmanın 0.günü bazal değerlendirme	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme Gürültü	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme Gürültü
Çalışmanın 1. günü	Serum Fizyolojik enjeksiyonu DPOAE ve ABR ölçümü	DPOAE ve ABR ölçümü	DPOAE ve ABR ölçümü
Çalışmanın 7. Gününe Kadar	Serum Fizyolojik enjeksiyonu	Serum Fizyolojik enjeksiyonu	CORM-3 enjeksiyonu
Çalışmanın 7. günü	DPOAE ve ABR ölçümü	DPOAE ve ABR ölçümü	DPOAE ve ABR ölçümü

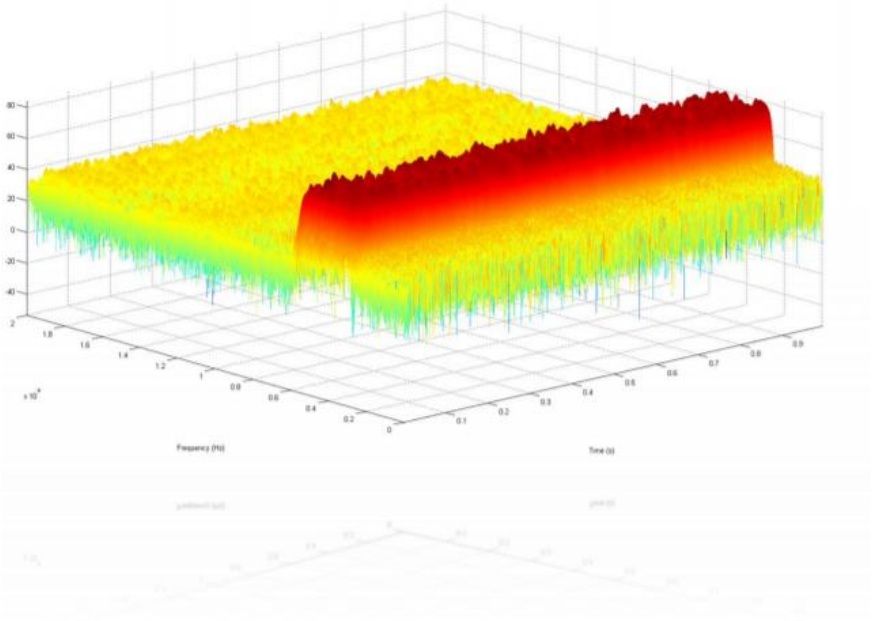
3.2.Veri Toplama Araçları

Ratların işitme duyarlılıklarının 0.25 kHz ile 80 kHz arasında olması ve gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK) modellerinde işitsel fonksiyonların değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri testi ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon testi uygulandı. Ancak mevcut DPOAE test cihazı 1 kHz- 8 kHz frekans aralığında ölçüm yapabildiği için ve yüksek frekans ölçüm özelliğine sahip olmadığı için 8 kHz üzeri DPOAE değerlendirmesi gerçekleştirilemedi. Görülebilir bir dış kulak yolu olan, kulak zarında veya orta kulakta herhangi bir patoloji olmadığı

otomikroskopi ile doğrulanan, DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi. İşitme fonksiyonları değerlendirilmeden önce ratlara 40 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar flk, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin hidroklorid (Basilazine %2, Bavet) intraperitoneal uygulanarak anestezi sağlandı. Otoskopik bakısı doğal ve DPOAE testinde sinyal-gürültü oranı elde edilen ratlara İUBP testi uygulandı. İşitmesinin normal olduğu odyolojik değerlendirme ile belirlenen ratların rastgele seçilmesiyle üç grup oluşturuldu. Bazal işitme değerlendirmesi sonrası iki gruba gürültü verildi. Le Prell ve ark'nın (2007) çalışmasında gürültü sonrası 10. günden sonra işitme eşiklerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemesi, İUBP eşiklerinin yanında tüylü hücre kaybının da 10 gün sonunda stabil hale gelmesi nedeniyle 7. günün sonunda son işitsel değerlendirme gerçekleştirildi.

3.3.Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Modelinin Oluşturulması

Gürültüye bağlı işitme kaybı modelinde gürültü verme işlemi için her bir rat ayrı ayrı tepesi tel ve tabanı plastik bir kafese yerleştirildi. Gürültü maruziyeti süresince ratların suya ve yeme serbestçe ulaşmaları sağlandı. Çalışmamızdaki gürültü modeli, Evin ve ark. kullandığı şekilde 4 kHz oktav frekansında 120 dB SPL şiddetinde 4 saat olarak uygulandı[125](Şekil 15). Gürültü İnteracoustic marka AC40 model (Denmark) saf ses odyometre cihazı ile üretildi. Üretilen akustik uyaran amplifikatör ile güçlendirilerek Spekon CT-51AS tweeter hoparlör ile sunuldu. Yüksek frekans kazancını arttırmak amaçlı plastik malzeme boynuz kullanıldı. Gürültü şiddeti, CEM DT 8850 Sound Level Meter mikrofonu (Shenzen Everbest Machinery Industry, China) kafes tabanının orta noktasına yerleştirilerek yapılan ölçümlerde 120 dB SPL olacak şekilde kalibre edildi. Her bir hayvan 4 saat süre ile gürültüye maruz bırakıldı. Gürültüye maruz kalmayan ratlar da aynı kafeste 4 saat tutuldu. Ratlara uygulanan gürültüye bağlı işitme kaybı modeli Şekil 16'de verilmektedir.



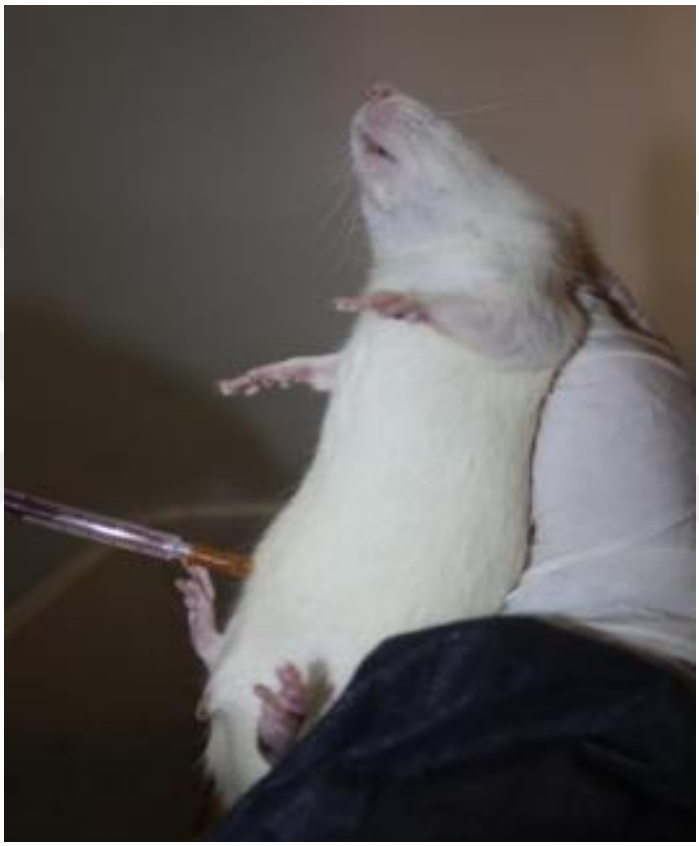
Şekil 15.4 kHz oktav bant gürültüye ait frekans spektrumu



Şekil 16.Ratlara uygulanan gürültüye bağlı işitme kaybı modeli

3.4.Anestezi Yöntemi

DPOAE ve İUBP testleri öncesinde ratlara anestezi uygulandı. Öncelikle 40 mg/kg %10'luk Ketamin (Ketalar flk, Pfizer) ve 10 mg/kg Ksilazin (Basilazin %2, Bavet İlaç San. ve Tic. A.Ş) intraperitoneal yolla verilerek anestezileri sağlandı (Şekil 17). Ratlar, gürültü maruziyeti sonrası 7. gün DPOAE ve İUBP testlerinden sonra yüksek doz eter solutularak sakrifiye edildi.



Şekil 17.Wistar rata uygulanan intraperitoneal anestezi yöntemi

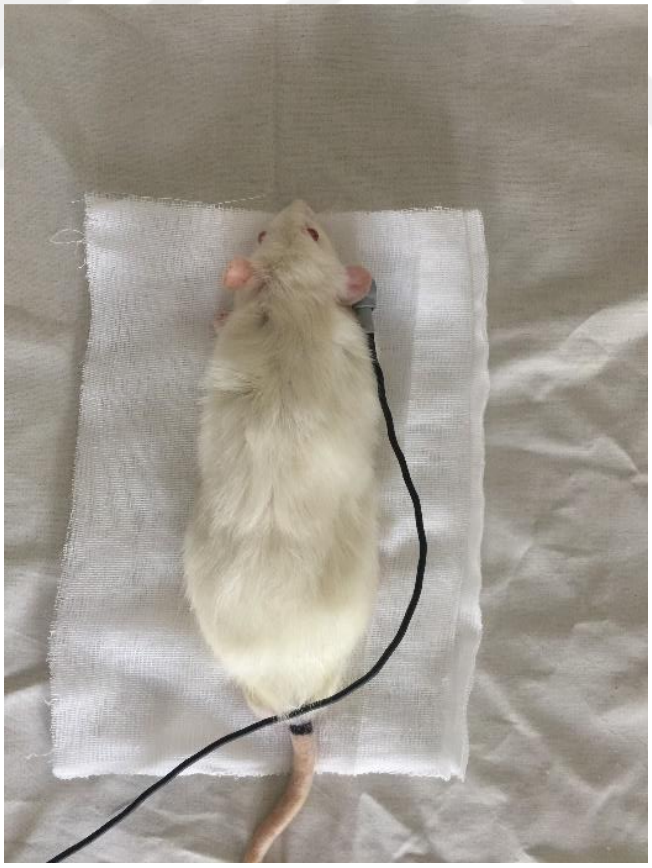
3.5. İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi (DPOAE) ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testi (İUBP); ratlara gürültü maruziyeti öncesinde işitmenin bazal değerlendirmesi, gürültü sonrasında 1. günde ve 7. günde işitsel fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla uygulandı. Odyolojik testler anestezi altında ve ortam gürültüsü 40 dB SPL (A)'nın altında olan sessiz odada uygulandı. DPOAE testinde 1 kHz sonrası

tüm frekanslarda sinyal-gürültü oranı elde edilen ve İUBP testinde işitme eşikleri 25 dB SPL ve altında elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi.

3.5.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Testi

DPOAE testleri anestezi altındaki ratlara yatar pozisyon verilip proba uygun pozisyon verilmesi sağlandı. Sağ ve sol kulakları ayrı ayrı "Otodynamics ILO-V6 Cochlear Emission Analyzer", 5.61 (Otodynamics, London) versiyonu kullanılarak test edildi. DPOAE testi için f2 ve f1 frekansları arasındaki oran (f2/f1) 1.22 olacak şekilde ayarlandı. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1 = 65 dB SPL, L2 = 55dB SPL) şiddetinde tutuldu. DPOAE, f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz'deki sinyal-gürültü oranları kaydedildi (Şekil 18). DPOAE'lar, 2f1-f2 frekansında ölçüldü. Her bir frekansta cevabın sinyal gürültü oranı 3 dB SPL'den büyük olarak elde edilen değerler OAE var olarak değerlendirildi.



Şekil 18.Wistar ratlara uygulanan DPOAE testi

3.5.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Testi

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri kayıtlamaları için GSI Audera cihazı versiyonu kullanıldı. Kayıt sırasında sub-dermal iğne elektrodlar kullanıldı. Aktif elektrod vertekse, referans elektrod test kulağına, toprak elektrod ise karşı kulağın ventrolateraline (kulak altı) yerleştirildi (Şekil 19). Elektrod dirençleri 1 kohm'nin altında tutuldu. Elektrodlarla toplanan biyoelektriksel yanıtlar 31.3 mikrosaniye örnekleme hızında analogdan dijitale çevrildi. İUBP testinde 4, 6 ve 8 kHz'de, uyaranın frekans spektrumunu daha darlaştırmak amacıyla Blackman zarfıyla, iniş-çıkış süresi 1000 ms olan ton burst uyaran kullanıldı. II. dalganın elde edildiği en düşük şiddet düzeyi ratın o frekanstaki işitme eşiği olarak kabul edildi. 70 dB SPL şiddetinden başlanarak II. dalga elde edildiğinde eşik üstü seviyelerde uyaran şiddeti 10 dB, eşiğe yaklaştıkça uyaran şiddeti 5 dB azaltılırken, II. dalga elde edilmediğinde uyaran şiddeti 5 dB arttırılarak her iki kulağın işitme eşikleri belirlendi. İUBP testinde kullanılan kayıt ve uyaran parametreleri Tablo 3'de belirtildi.



Şekil 19.Wistar ratlara uygulanan İUBP testi

Tablo 3.İUBP testlerinde kullanılan kayıt ve uyaran parametreleri

Kayıt-Uyaran Parametreleri	
Polarite	Alterne
Uyaran	4 kHz, 6 kHz 8 kHz Ton Burst uyaran
Uyaran Sıklığı	37.1 saniye
Zarf	Blackman
Kulaklık	Intelligent Hearing Systems ER3A insert earphone (300 ohm)
Averaj	1024
Örnekleme hızı	31.3 mikrosaniye
Amplifikasyon	0.5 μ V
Kayıtlama Filtresi	30- 3000 Hz bant geçirgen filtre

3.6. İlaç Uygulaması

Toz formdaki CORM-3, distile su içerisinde çözülerek günlük 10 mg/kg/gün dozunda olacak şekilde ayrı ayrı eppendorf tüplere konularak -20°C'de saklandı. Her gün tüplerdeki hazır dozlar oda sıcaklığına getirildikten sonra intraperitoneal yolla uygulandı (Şekil 20). CORM-3, gürültü alan grupta gürültüden 1 saat sonra başlanarak 7 gün boyunca her gün aynı saatte, intraperitoneal yol ile verildi. CORM-3 için uygulanan uygun intraperitoneal doz daha önce yapılmış araştırmalarda belirtilen dozlar dikkate alınarak belirlendi. Gürültü alan ve almayan SF gruplarına CORM-3 grubuyla aynı zamanlama çizelgesinde ve eş dozlarda SF uygulandı.



Şekil 20.Ratlara uygulanan intaperitoneal CORM-3 uygulaması

3.7.Araştırmanın Planı ve Takvimi

Araştırmaya dair plan ve uygulama takvimi Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Araştırma planı ve takvim

Literatür Taranması
Eylül 2021- Temmuz 2022
Etik Kurul Onayının Alınması
Ağustos 2022
Deneysel Çalışma
Ekim 2022-Ocak 2022
Laboratuar ve Veri Analizleri
Ocak 2023
Yazım Aşaması
Ekim 2022-Mart 2023

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum- maksimum) olarak özetlendi. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Bağımsız gruplarda T testi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. İkiden fazla grubun sayısal ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Tek Yönlü Varyans Analizi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu karşılaştırmalarda anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanması durumunda grup içi varyansların homojen olup olmamasına göre Bonferroni ve Games&Howell testleri kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanmaması durumunda ise Bonferroni düzeltmesi yapılmış Mann Whitney U testi kullanıldı. Aynı bireyler üzerinde farklı zamanlarda yapılan sayısal ölçümlerinin zaman içindeki değişimini karşılaştırmada tekrarlı ölçümler analizi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

3.9. Histopatolojik İnceleme

3.9.1. Işık Mikroskopi Yöntemi

Koklea doku parçaları %10'luk tamponlu nötral formaline alınarak bir hafta süreyle tespit edildi. Bir haftanın sonunda akarsuda 8 saat boyunca yıkandı. Daha sonra dokular dekalsifikasyon işlemi için %25'lik Formik asit içerisine alındı. Dekalsifikasyon solüsyonu günlük olarak değiştirildi. Dekalsifikasyon işlemi sonunda, formik asitin giderilmesi amacıyla dokular 8 saat süreyle akarsuda yıkandı. Ardından dokular 0,35 M Sodyum Sülfat içerisine alınarak 3 gün süreyle bekletildi. 3 günün sonunda dokular akarsuda 8 saat boyunca yıkandı. Daha sonra dokulardaki suyu uzaklaştırmak amacıyla derecesi giderek artan etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Dekalsifikasyon işleminin ardından dokulara Ototeknikon Cihazı ile Tablo 5'de belirtilen doku takip yöntemi uygulandı.

Tablo 5. Işık mikroskobik doku takip işlemi

Oda sıcaklığında	%90'lik etil alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol+ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat 30 dakika
60°C'de	Parafin	1 saat
60°C'de	Parafin	1 saat 30 dakika

Blok haline getirilen dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı, deparafinize edildi, hematoksilen–eozin ile boyandı ve kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olimpus BX53 ışık mikroskobunda incelendi ve fotoğrafları alındı.

4. BULGULAR

Araştırmamızda CORM-3'ün gürültüye bağlı işitme kaybında olası koruyucu etkisi araştırıldı. Bu etkiyi değerlendirmek amacıyla her biri 8 wistar rattan oluşan 3 grup eşit şekilde rastgele ayrılarak DPOAE ve İUBP testleri kullanıldı. Gürültü maruziyeti ve CORM-3 uygulaması sonrası 1 ve 7. günlerde İUBP testi eşik ve DPOAE amplitüd değişiklikleri değerlendirildi. Aynı zamanda tüm gruplarda, ışık mikroskobisi ile histopatolojik olarak koklea yapısı ve hücresel yapıları değerlendirildi.

4.1. Distorsiyon ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) yanıtları 1 kHz, 1,5 kHz, 2 kHz, 3 kHz, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz frekanslarında ve 65/55 dB SPL uyaran şiddetlerinde sinyal gürültü oranı hesaplanarak amplitüdler değerlendirildi. Tüm grupların bazal, 1.gün ve 7.gün DPOAE amplitüdlerine ilişkin ortalama ± standart sapma ve medyan (minimum-maksimum) değerleri sağ ve sol kulak olarak Tablo 6 ve Tablo 7'de verilmiştir.

Tüm frekanslarda elde edilen bazal DPOAE yanıtı kontrol grubu, gürültü sonrası serum fizyolojik verilen ve CORM-3 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (hepsi için $p>0,05$). Birinci gün ve 7. günde ise tüm frekanslarda elde edilen DPOAE yanıtı kontrol grubu, gürültüye maruz kalan serum fizyolojik ve CORM-3 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık sergiledi (Tablo 6, Tablo 7).

Gürültü verilmeyen kontrol grubunun bazal, 1. ve 7. gündeki ölçümlerinde tüm frekanslarda elde edilen DPOAE yanıtları arasında anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 6. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde elde edilen sinyal-gürültü oranları (S/N)- Sağ

	Grup			
	Kontrol	SF	C0RM-3	*p*
Bazal				
1kHz	0.5±2.7	-1.1±0.8	-0.6±1.1	0.383
	-1(-2-6)	-1(-2-0)	-0.5(-2-1)	
1.5kHz	4.8±6.4	0.4±1.2	1.8±3.8	0.191
	2(0-17)	0(-1-2)	0(-1-10)	
2kHz	8.8±7.8	3.1±4.4	6.3±3.5	0.110
	4.5(1-20)	1.5(0-12)	6.5(2-12)	
3kHz	16.8±5.5	11±4	17.6±7.6	0.056
	18(5-22)	11.5(5-18)	20(4-26)	
4kHz	28.1±9.2	22.9±5.1	27.8±9.1	0.111
	32(8-35)	24.5(13-28)	30.5(9-37)	
6kHz	35.1±4.5	30.5±5.2	35±5.8	0.052
	36(26-40)	31.5(20-36)	36.5(22-41)	
8kHz	41±4.8	38.3±3.3	40.5±5	0.106
	42.5(30-45)	39(32-42)	42(29-45)	
1.Gün				
1kHz	0±0.8	-1±1.2	-1.5±0.5	0.013
	0(-1-1) $^{\Psi}$	-1.5(-2-1)	-1.5(-2--1)	
1.5kHz	5.6±1.7	-1.4±0.7	-1.4±0.7	<0.001
	6(2-7) $^{\varphi\,\Psi}$	-1.5(-2-0)	-1.5(-2-0)	
2kHz	10.4±2.1	-0.8±0.7	-0.8±0.9	<0.001
	10.5(6-13) $^{\varphi\,\Psi}$	-1(-2-0)	-0.5(-2-0)	
3kHz	19±1.9	-0.6±0.7	-0.4±1.3	<0.001
	18.5(17-22) $^{\varphi\,\Psi}$	-1(-1-1)	-1(-2-2)	
4kHz	24.8±3.2	-0.5±0.5	-0.5±1.8	<0.001
	24(20-31) $^{\varphi\,\Psi}$	-0.5(-1-0)	-1(-2-3)	
6kHz	37.6±1.6	-0.5±0.8	-0.3±0.9	<0.001
	38(35-40) $^{\varphi\,\Psi}$	-1(-1-1)	-0.5(-1-1)	
8kHz	41.9±1.5	-0.8±0.7	-0.8±0.7	<0.001
	42(40-44) $^{\varphi\,\Psi}$	-1(-2-0)	-1(-2-0)	
7.Gün				
1kHz	0.3±0.9	-1±0.9	-0.3±0.7	0.045
	0.5(-1-1) $^{\varphi}$	-1(-2-0)	0(-1-1)	
1.5kHz	5.6±2.1	-0.9±0.4	1.4±2.8	<0.001
	5.5(2-8) $^{\varphi}$	-1(-1-0) $^{\Psi}$	0(0-8)	
2kHz	11.1±2	-0.6±0.5	4.8±3.2	<0.001
	11.5(7-13) $^{\varphi}$	-1(-1-0) $^{\Psi}$	4(1-11)	
3kHz	19.3±1.9	-0.4±0.7	11.6±5.3	<0.001
	19(17-22) $^{\varphi}$	-0.5(-1-1) $^{\Psi}$	11.5(5-20)	
4kHz	26.3±2.9	0±0.5	18±8.5	<0.001
	25.5(24-33) $^{\varphi}$	0(-1-1) $^{\Psi}$	18.5(8-35)	
6kHz	37.3±4.4	0.4±0.5	24.6±7.2	<0.001
	39(27-41) $^{\varphi}$	0(0-1) $^{\Psi}$	23.5(14-39)	
8kHz	42.8±2.3	1.3±1	29.5±6.3	<0.001
	42.5(40-47) $^{\varphi}$	1(0-3)	29(20-42)	

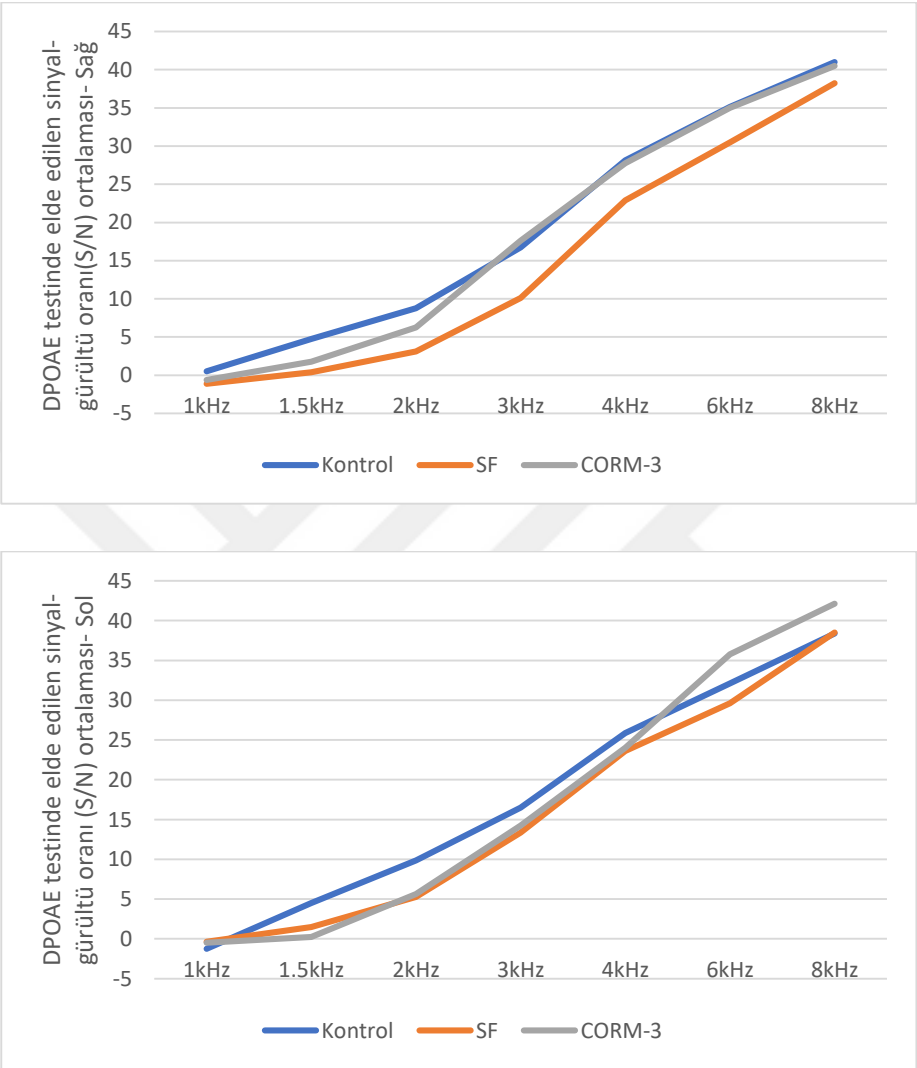
Veriler ortalama ± standart sapma, medyan(minimum-maksimum) olarak özetlenmiştir.
$^{\varphi}$ SF ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$, $^{\Psi}$ Corm-3 ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

Tablo 7. Tüm çalışma gruplarında DPOAE testinde elde edilen sinyal-gürültü oranları (S/N)- Sol

	Grup			
	Kontrol	**SF**	**CORM-3**	***p***
Bazal				
1kHz	-1.3±1	-0.4±1.2	-0.5±1.3	0.207
	-1.5(-2-1)	-0.5(-2-2)	-0.5(-2-2)	
1.5kHz	4.5±4.9	1.5±2.4	0.3±1.3	0.150
	3.5(-1-11)	0.5(-1-6)	0(-1-3)	
2kHz	9.9±6.3	5.3±5.5	5.6±4.9	0.300
	9.5(0-18)	4.5(0-16)	5(0-16)	
3kHz	16.5±6.3	13.4±6	14.3±8.1	0.462
	18.5(2-22)	14.5(2-19)	13.5(5-27)	
4kHz	25.9±9.2	23.6±7.2	24±9.4	0.737
	28(6-34)	26(13-32)	24(11-36)	
6kHz	32.1±6	30.5±4.3	35.8±3	0.075
	33(21-39)	30(24-36)	36(32-40)	
8kHz	38.4±6.8	38.5±4	42.1±3.2	0.301
	40.5(25-46)	39.5(33-43)	42(38-46)	
1.Gün				
1kHz	0.4±0.7	-1.4±0.9	-1±1.1	0.007
	0.5(-1-1) $^{\varphi}$	-2(-2-0)	-1(-2-1)	
1.5kHz	5.8±2	-0.5±1.4	-1.5±0.8	<0.001
	5(4-10) $^{\varphi\Psi}$	-1(-2-2)	-2(-2-0)	
2kHz	12.6±2.8	-0.5±0.8	-1.1±1.1	<0.001
	12(10-19) $^{\varphi\Psi}$	0(-2-0)	-1.5(-2-1)	
3kHz	19.3±1.7	-0.8±0.7	-0.4±1.3	<0.001
	19(17-22) $^{\varphi\Psi}$	-1(-2-0)	0(-2-2)	
4kHz	25.3±3.9	-0.4±0.7	0±1.1	<0.001
	24.5(22-34) $^{\varphi\Psi}$	-0.5(-1-1)	0(-1-2)	
6kHz	36.1±2.4	-0.9±1	0.6±1.1	<0.001
	35.5(33-40) $^{\varphi\Psi}$	-1(-2-1)	0.5(-1-2)	
8kHz	42.9±2.4	-0.8±0.5	-0.5±0.9	<0.001
	42.5(40-47) $^{\varphi\Psi}$	-1(-1-0)	-0.5(-2-1)	
7.Gün				
1kHz	0.3±0.7	-1±0.8	-0.4±0.9	0.023
	0(-1-1) $^{\varphi}$	-1(-2-0)	0(-2-1)	
1.5kHz	5.9±2	-0.4±1.1	0.1±0.8	<0.001
	5.5(3-9) $^{\varphi\Psi}$	-0.5(-2-1)	0(-1-1)	
2kHz	12.1±3.8	-0.4±0.5	3.5±3.6	<0.001
	11(9-21) $^{\varphi\Psi}$	0(-1-0)	3.5(-1-10)	
3kHz	20.3±2	-0.4±0.5	7.9±5.4	<0.001
	19.5(18-24) $^{\varphi\Psi}$	0(-1-0)	7.5(-1-15)	
4kHz	25.6±3.7	-0.5±0.5	13.9±7.2	<0.001
	24.5(23-34) $^{\varphi}$	-0.5(-1-0)	14(0-24)	
6kHz	38.3±1.3	0±0.8	23.6±10.2	<0.001
	38.5(36-40) $^{\varphi\Psi}$	0(-1-1)	26.5(0-33)	
8kHz	43.3±1.7	0.6±0.9	29.8±12.5	<0.001
	43(41-46) $^{\varphi\Psi}$	1(-1-2)	33.5(0-39)	

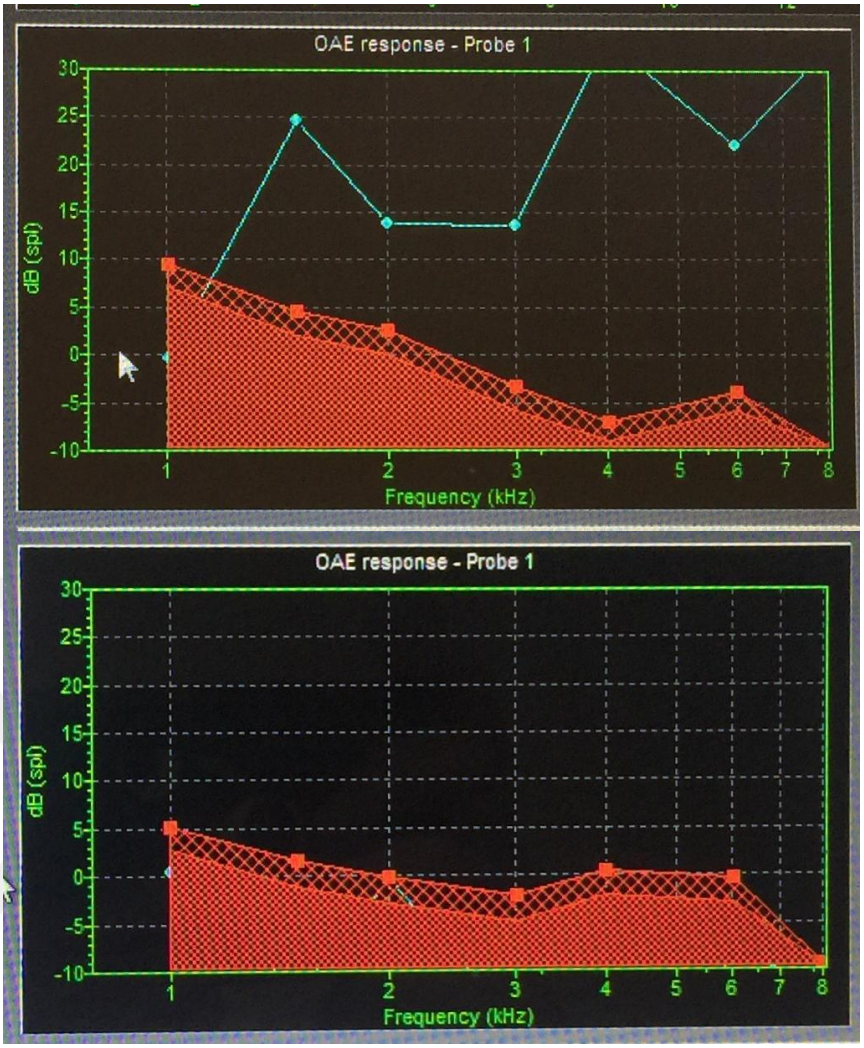
Veriler ortalama ± standart sapma, medyan(minimum-maksimum) olarak özetlenmiştir.
$^{\varphi}$ SF ile karşılaştırıldığında p <0.05, $^{\Psi}$ Corm-3 ile karşılaştırıldığında p<0.05

Tüm grupların bazal DPOAE amplitüdleri 1 kHz'den 8 kHz'e doğru artış göstermiştir. En düşük sinyal-gürültü oranı (S/N) 1 kHz'de bulunurken en büyük 8 kHz'de elde edildi. (Şekil 21)



Şekil 21.Tüm grupların sağ ve sol kulaklarındaki DPOAE amplitüdleri

Gürültü verilen ratların gürültü sonrası 1 ve 7. günlerde bütün frekanslardaki DPOAE yanıtları kaybolduğundan; çalışma gruplarının ikili karşılaştırılması incelendiğinde gürültü sonrasındaki ölçümlerde tüm frekanslarda kontrol grubu ile SF ve CORM-3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir. Gürültü önce ve sonrası DPOAE test yanıtları Şekil 22'de gösterilmiştir.



Şekil 22.Gürültü maruziyeti öncesi ve sonrası DPOAE testinde sinyal-gürültü oranları

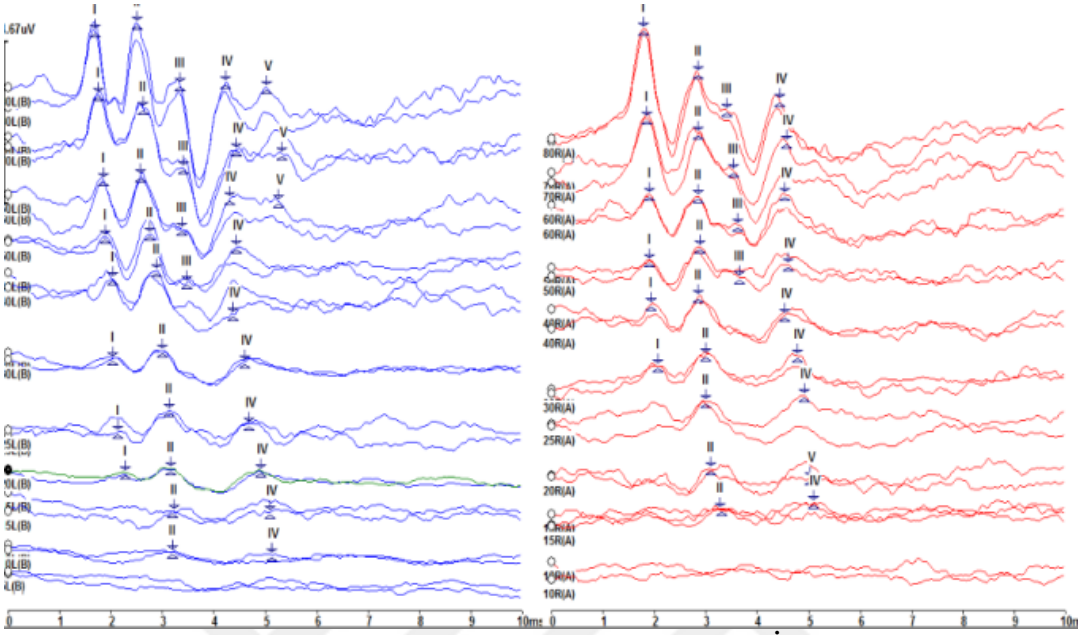
4.2. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP) Bulguları

DPOAE ölçümü, 30-35 dB işitme kaybına kadar işitsel fonksiyon hakkında bilgi verirken; 35-100 dB aralığındaki işitme kayıplarında tüylü hücre, vestibülokoklear sinir ve iç kulak fonksiyonu hakkında bilgi vermediğinden DPOEA, GBİK modelinde yeterli değerlendirme sağlamamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda elektrofizyolojik test olan IUBP uygulandı.

4.2.1. Dalga Morfolojisi

Ratlara yapılan bazal İUBP ölçümünde elde edilen dalgalar, morfolojileri açısından değerlendirildi. Bazal İUBP değerlendirmesinde I, II, III, IV ve V. dalgalar elde edildi. Tespit edilenler içerisinde II. dalga en belirgin dalga iken, III. dalga genellikle II. dalga ile birleşik durumda ve en düşük amplitüdlü dalga olarak gözlendi. V. dalga her zaman

elde edilemedi. İlk ortaya çıkan, en belirgin ve en son kaybolan dalga olması nedeniyle eşiğin belirlenmesinde II. dalga kullanıldı (Şekil 23).



Şekil 23.Ratın sağ ve sol kulağındaki 8 kHz frekansında elde edilen İUBP dalga morfolojisi

4.2.2. Grupların İUBP Eşik Ortalamaları ve Değişimi

Ratlar eşit şekilde gürültüye maruz kalmayan kontrol grubu, gürültüye maruz bırakılan serum fizyolojik (SF) grubu ve gürültüye maruz kalan CORM-3 grubu olmak üzere sınıflandırıldı.

Tüm grupların sağ ve sol kulaklarındaki her frekanstaki bazal, 1 ve 7. günde İUBP eşiklerinin ortalama ± standart sapma ve medyan (minimum- maksimum) değerleri (dB SPL) Tablo 8 ve 9'da verilmiştir.

Gürültü verilmeyen ve gürültüye maruz bırakılan tüm gruplarda uygulamalardan önce yapılan bazal işitme değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 8, 9).

Tablo 8. Çalışma gruplarında elde edilen IUBP dağılımı- Sağ kulak

	Grup			
	Kontrol	**SF**	**CORM-3**	***p***
Bazal				
4kHz	16.3±2.3 15(15-20)	15±2.7 15(10-20)	15.6±3.2 15(10-20)	0.661
6kHz	16.3±2.3 15(15-20)	15±2.7 15(10-20)	15.6±3.2 15(10-20)	0.661
8kHz	12.5±2.7 12.5(10-15)	13.8±4.4 12.5(10-20)	13.8±3.5 15(10-20)	0.788
1.Gün				
4kHz	15±3.8 15(10-20) $^{\varphi,\Psi}$	76.9±6.5 80(65-85)	81.9±3.7 82.5(75-85)	<0.001
6kHz	16.3±2.3 15(15-20) $^{\varphi,\Psi}$	68.1±7 67.5(60-80)	77.5±7.6 80(60-85)	<0.001
8kHz	15±0 15(15-15) $^{\varphi,\Psi}$	65.6±7.3 67.5(55-75)	74.4±10.5 80(50-80)	<0.001
7.Gün				
4kHz	15.6±3.2 15(10-20) $^{\varphi,\Psi}$	70.6±7.8 72.5(55-80) $^{\Psi}$	48.8±14.6 52.5(25-65)	<0.001
6kHz	15.6±1.8 15(15-20) $^{\varphi,\Psi}$	63.8±7.9 62.5(50-75) $^{\Psi}$	43.8±13 47.5(25-60)	<0.001
8kHz	15±0 15(15-15) $^{\varphi,\Psi}$	59.4±6.8 60(50-70) $^{\Psi}$	38.1±11.9 37.5(20-55)	<0.001

Veriler ortalama ± standart sapma, medyan(minimum-maksimum) olarak özetlenmiştir.
$^{\varphi}$ SF ile karşılaştırıldığında $p<0.05$ $^{\varphi}$ Corm-3 ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

Tablo 9. Çalışma gruplarında elde edilen IUBP dağılımı- Sol kulak

	Grup			
	Kontrol	**SF**	**CORM-3**	***p***
Bazal				
4kHz	16.9±2.6 15(15-20)	16.9±2.6 15(15-20)	15±3.8 15(10-20)	0.452
6kHz	12.5±2.7 12.5(10-15)	14.4±3.2 15(10-20)	13.8±3.5 15(10-20)	0.495
8kHz	13.1±2.6 15(10-15)	13.8±3.5 15(10-20)	13.8±3.5 15(10-20)	0.942
1.Gün				
4kHz	15.6±1.8 15(15-20) $^{\varphi,\Psi}$	80.6±5 80(70-85)	71.3±10.9 70(50-85)	<0.001
6kHz	15±2.7 15(10-20) $^{\varphi,\Psi}$	78.8±6.9 80(65-85)	68.8±10.9 67.5(50-80)	<0.001
8kHz	15±3.8 15(10-20) $^{\varphi,\Psi}$	76.9±5.3 80(65-80)	65.6±10.5 65(50-80)	<0.001
7.Gün				
4kHz	15.6±1.8 15(15-20) $^{\varphi,\Psi}$	78.8±4.4 80(70-85) $^{\Psi}$	50±17.1 50(25-80)	<0.001
6kHz	15±2.7 15(10-20) $^{\varphi,\Psi}$	73.1±5.9 75(65-80) $^{\Psi}$	42.5±16 37.5(25-75)	<0.001
8kHz	15±3.8 15(10-20) $^{\varphi,\Psi}$	71.3±8.3 75(60-80) $^{\Psi}$	39.4±18.4 35(15-75)	<0.001

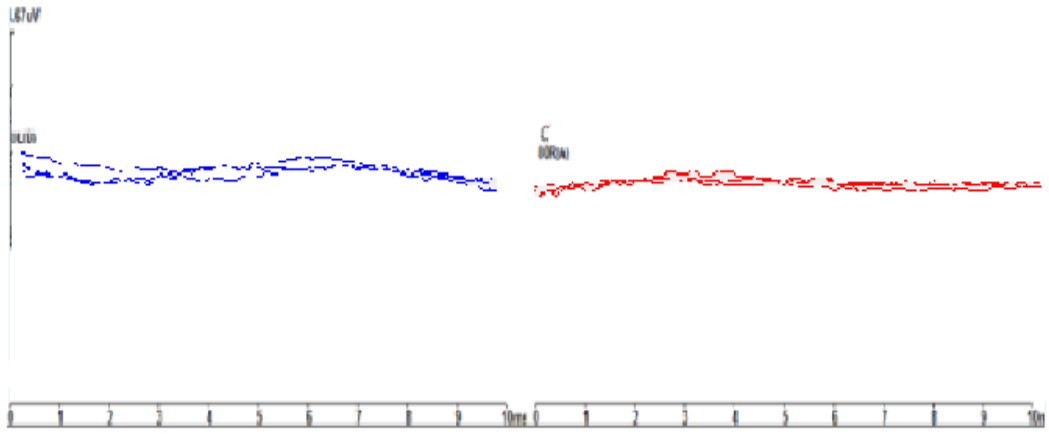
Veriler ortalama ± standart sapma, medyan(minimum-maksimum) olarak özetlenmiştir.
$^{\varphi}$ SF ile karşılaştırıldığında $p<0.05$, $^{\Psi}$ Corm-3 ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

Gürültü verilmeyen kontrol grubunun 4, 6 ve 8 kHz frekanslarında bazal, 1. ve 7. gündeki işitme ölçümlerinde elde edilen işitme eşiklerinin analizinde istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 8, 9). Kontrol grubuna uygulanan intraperitoneal SF'in işitme düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi saptanmadı.

Tüm çalışma gruplarında sağ ve sol kulakta elde edilen bazal, 1 ve 7. gün işitme eşikleri kendi içinde değerlendirildiğinde her bir grupta kulaklar arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlendi**.** Her bir gruptaki ratların sağ ve sol kulaklarına ait İUBP eşiklerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 8 ve 9'da verilmiştir.

Tüm grupların işitme değerlendirmesi ölçülen her frekanstaki ortalama eşik değerlerine bakıldığında, en iyi değerlerin 8 kHz frekansında olduğu görülmektedir.

Gürültü maruziyeti sonrası yapılan 1.gün ölçümlerde deney grupları olan SF ve CORM-3 gruplarının her iki kulağında, tüm frekanslarda orta ve ileri derecede işitme kaybı saptandı. (Şekil 24)



Şekil 24.Gürültü maruziyeti sonrası ratın sağ ve sol kulağındaki 8 kHz frekansında elde edilen İUBP dalga morfolojisi

Tablo 10. IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi- sağ ve sol kulak ortalama değerleri

	Zaman			
	Bazal	**1.gün**	**7.gün**	***p***
4 kHz				
Kontrol	16.6±2.4 15(15-20)	15.3±2.9 15(10-20)	15.6±2.5 15(10-20)	
SF	15.9±2.7 15(10-20)	78.8±5.9 80(65-85)	74.7±7.4 75(55-85)	<0.001
CORM-3	15.3±3.4 15(10-20)	76.6±9.6 80(50-85)	49.4±15.4 50(25-80)	
Total	15.9±2.9 15(10-20)	56.9±30.4 72.5(10-85)	46.6±26.3 50(10-85)	<0.001
6 kHz				
Kontrol	14.4±3.1 15(10-20)	15.6±2.5 15(10-20)	15.3±2.2 15(10-20)	
SF	14.7±2.9 15(10-20)	73.4±8.7 75(60-85)	68.4±8.3 70(50-80)	<0.001
CORM-3	14.7±3.4 15(10-20)	73.1±10.1 80(50-85)	43.1±14.1 42.5(25-75)	
Total	14.6±3.1 15(10-20)	54.1±28.5 65(10-85)	42.3±23.8 42.5(10-80)	<0.001
8 kHz				
Kontrol	12.8±2.6 15(10-15)	15±2.6 15(10-20)	15±2.6 15(10-20)	
SF	13.8±3.9 15(10-20)	71.3±8.5 72.5(55-80)	65.3±9.6 62.5(50-80)	<0.001
CORM-3	13.8±3.4 15(10-20)	70±11.1 75(50-80)	38.8±15 37.5(15-75)	
Total	13.4±3.3 15(10-20)	52.1±27.7 15(10-20)	39.7±23.1 37.5(10-80)	<0.001

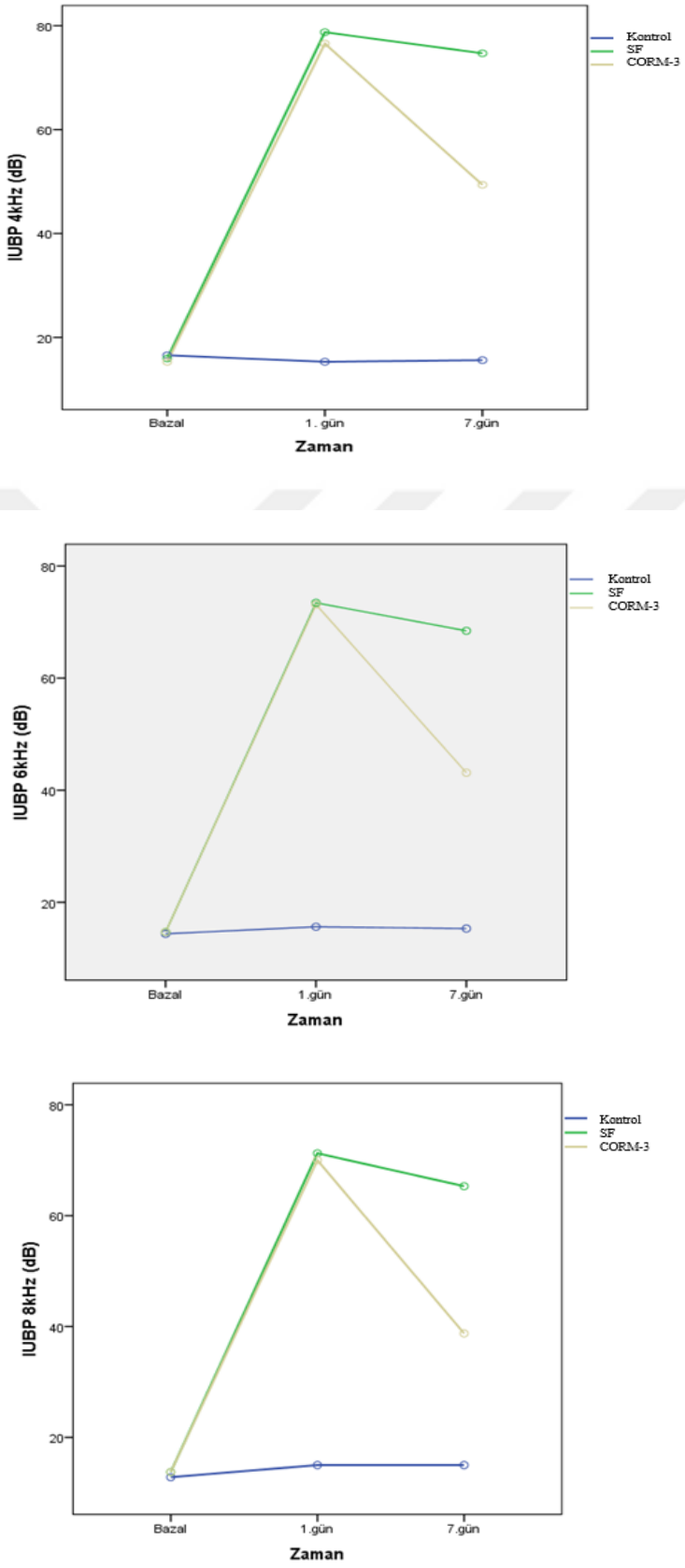
Veriler ortalama ± standart sapma, medyan(minimum-maksimum) olarak özetlenmiştir (p<0.05)

IUBP her iki kulak ortalama değerlerinin zamana bağlı değişimi Tablo 10'da özetlendi. 4, 6 ve 8 kHz frekansları için IUBP değerlerinin zamana bağlı değişiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (p<0.001). Zamana bağlı IUBP değişimi üzerinde çalışma gruplarının etkisi incelendiğinde, gürültü verilen grupların her iki kulağında bazal işitme değerlendirmeleri ile gürültü sonrası 1. gün gerçekleştirilen ölçümlerinde işitme kaybında belirgin artış izlendi (p<0.001) (Tablo 10, Şekil 24).

Yüz yirmi dB SPL şiddetinde 4 kHz oktav bant 4 saat gürültüye maruz bırakılan ratların gürültü sonrası yapılan IUBP ölçümleri değerlendirildiğinde, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz, frekansları arasında gürültüden en fazla etkilenen frekans 4 kHz olarak belirlendi.

Dört, altı ve sekiz kHz frekansında 1.gün ve 7.gün İUBP ölçümleri arasındaki fark baz alınarak çalışma gruplarının karşılaştırılmasına ait elde edilen sonuçlar Tablo 10'da verildi. Çalışma grupları arasında 1.gün ve 7.gün İUBP ölçümleri arasındaki fark üç frekansta da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Birinci ve 7.gün İUBP ölçümleri arasındaki fark en yüksek CORM-3 grubunda saptandı. Dört kHz ve 6 kHz frekansta kontrol ve SF gruplarında elde edilen fark benzer ve CORM-3 grubuna göre daha düşük düzeydeydi. Sekiz kHz frekansta ise kontrol grubunda elde edilen fark en düşük düzeyde, SF grubundan farklı ve CORM-3 grubu diğer iki çalışma grubuna göre daha yüksek düzeydeydi.

Ratların her bir frekansta elde edilen işitme eşiklerinin gruplara ve günlere göre değişimi Şekil 25'de verilmektedir. Buna göre CORM-3 grubunun 7.günde işitme eşik ortalamaları tüm frekanslarda, gürültü verilen SF grubuna göre daha iyi olarak saptanmıştır. Yapılan analizde CORM-3 grubunun 4, 6 ve 8 kHz frekanslardaki 7.gün IUBP eşiklerinde, SF grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi eşikler elde edildi ($p<0,05$). Çalışma gruplarına ait 4 kHz, 6 kHz ve 8 kHz'e ait işitme eşik değişimleri, ortalamaları ve p değerleri Tablo 10'da verilmiştir.



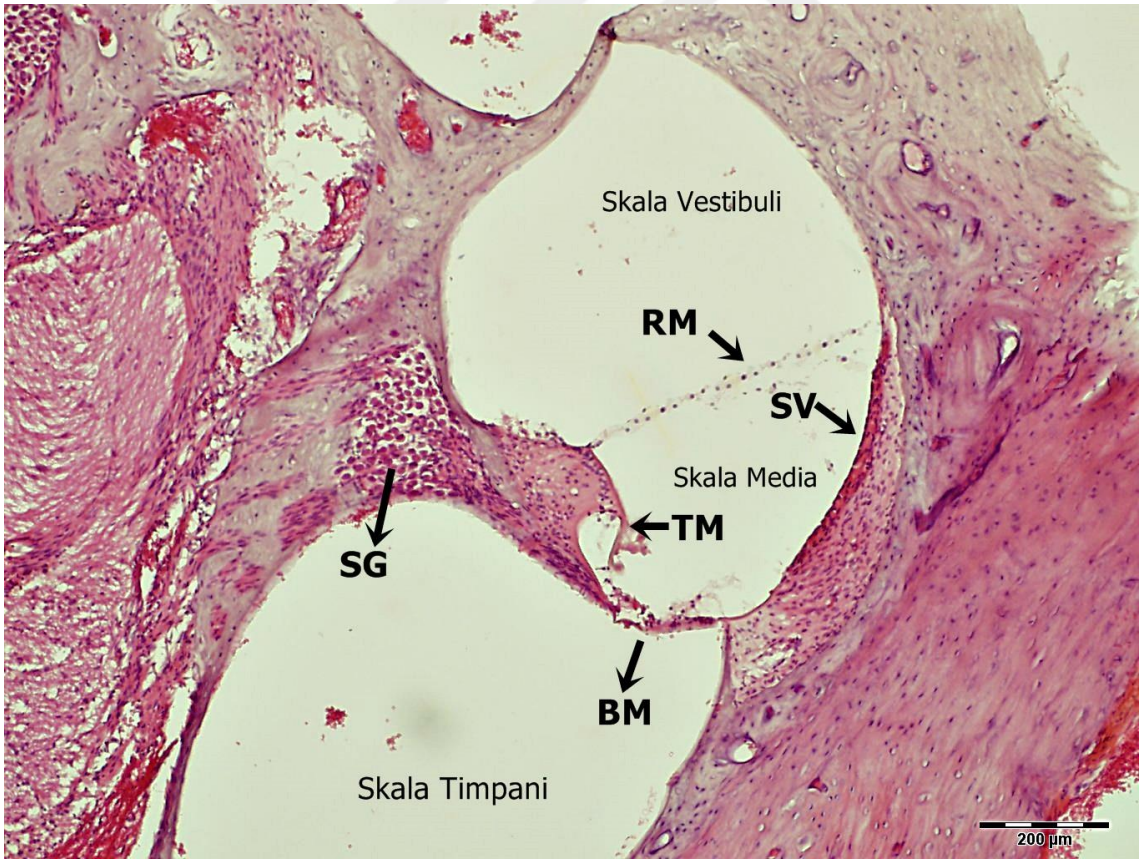
Şekil 25. IUBP değerlerinin zamana bağlı değişimi

4.3 Histopatolojik Görüntüleme Bulguları

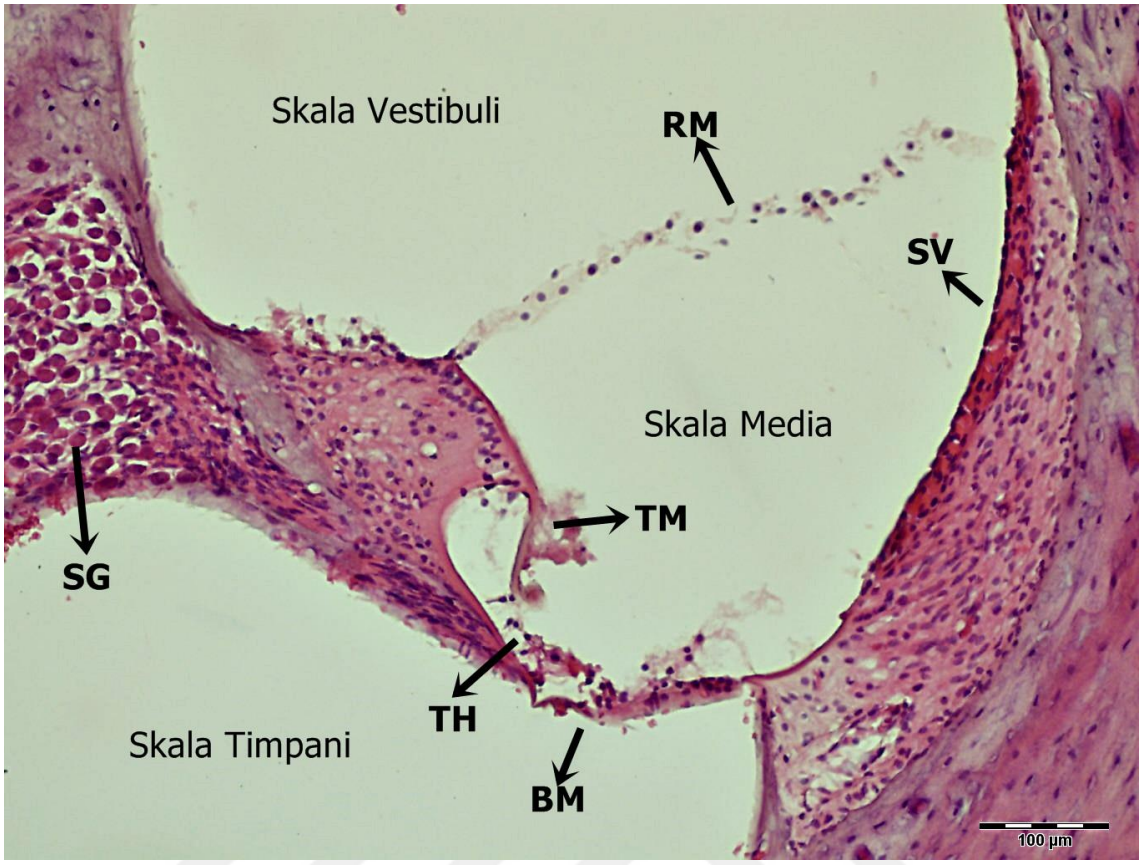
4.3.1 Işık Mikroskopi Bulguları

Kontrol ve deney gruplarındaki ratların sakrifikasyonundan sonra kesitler elde edilip tümüne Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyamaları yapıldı ve ışık mikroskobik incelemelerde iç kulak histolojik yapıları değerlendirildi.

Gürültü verilmeyen kontrol grubundaki ratların iç kulak kesitleri incelendiğinde; HE boyamasında kokleanın skala vestibüli, skala media ve skala timpani olmak üzere 3 bölüme ayrıldığı izlendi. Skala media ile skala vestibülinin birbirinden Reissner membranı ile ayrıldığı gözlendi. Skala mediada yer alan korti organı ve tabanındaki baziler membran tanımlandı. Baziler membranın üzerindeki tüylü hücreler ve destek hücreleri tespit edildi. Korti organı yan duvarında bulunan stria vaskülaris ve marjinal hücreler tanındı. Tüm kontrol grubundan elde edilen kesitlerde bu bulgular elde edilmiştir (Şekil 26). Korti organının yakın büyütme histolojik görüntüsü Şekil 27'de verilmiştir.

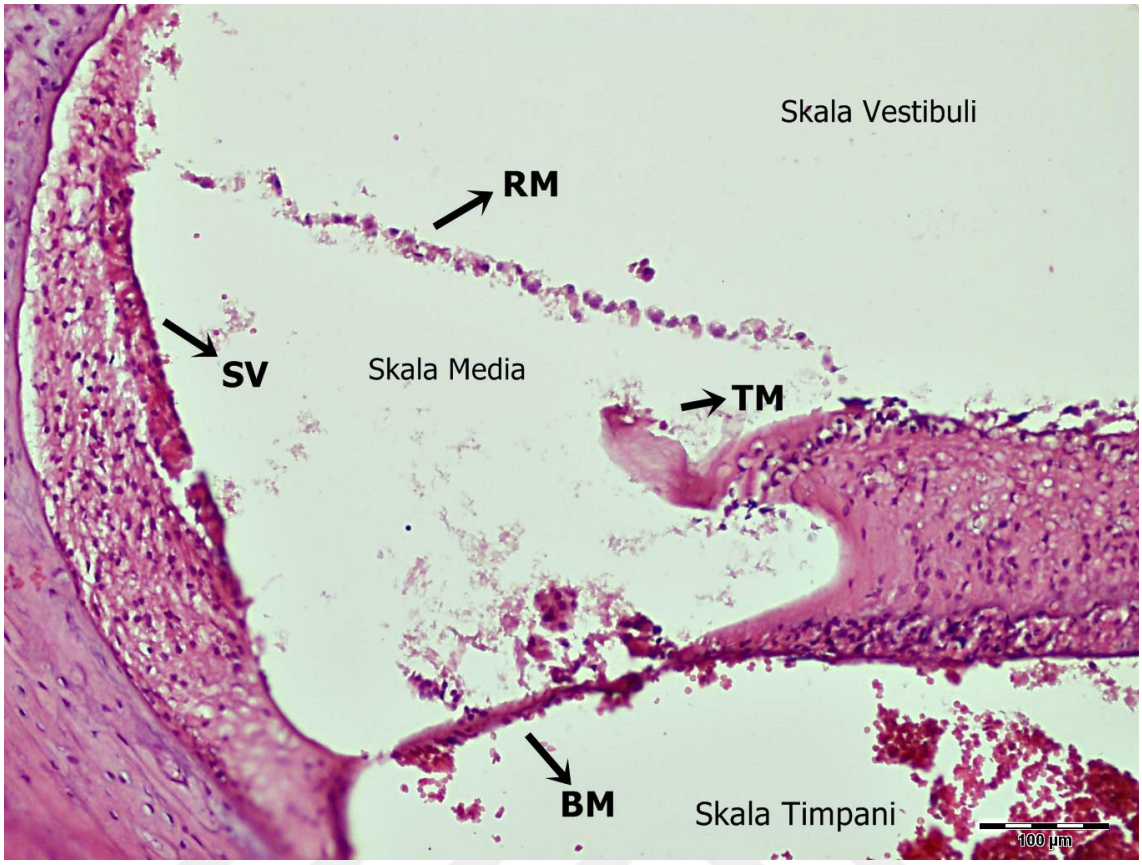


Şekil 26. Kontrol grubu koklea HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Spiral ganglion (SG) gösterilmiştir. Bar: 200 µm

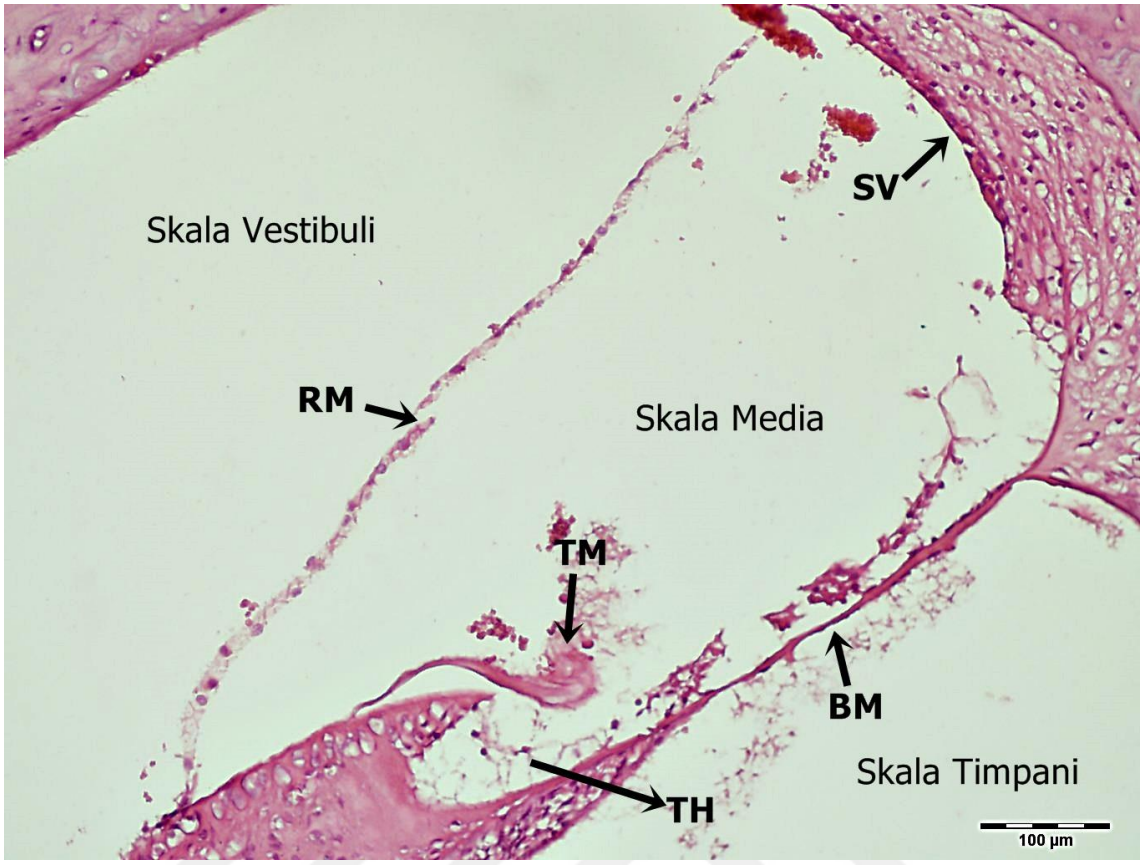


Şekil 27.Kontrol grubu korti organı HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Spiral ganglion (SG), Tüy hücreleri (TH) gösterilmiştir. Bar: 100 µm

Gürültü verilerek hasar oluşturulan deney grubundan elde edilen korti organının histopatolojik incelemelerinde, hücrelerin sayıca azalmış olduğu ve lokal dejeneratif değişikliklerin varlığı, hücrelerde dizilim bozuklukları ve oryantasyon kaybı dikkati çekmiştir. Tüm membranların yapılarında bozulma ve ayrılmalar izlendi (Şekil 28). Gürültüye maruz kalan deney grubuna ait tüm ratlardan elde edilen kesitler incelenmiş, hasar alan tüm koklealarda benzer bulgular elde edilmiştir. CORM-3 verilen tedavi grubunda ise bu dejeneratif değişikliklerin nispeten daha hafif seyrettiği ve yapısal bütünlüğün büyük ölçüde korunmuş olduğu görüldü (Şekil 29).

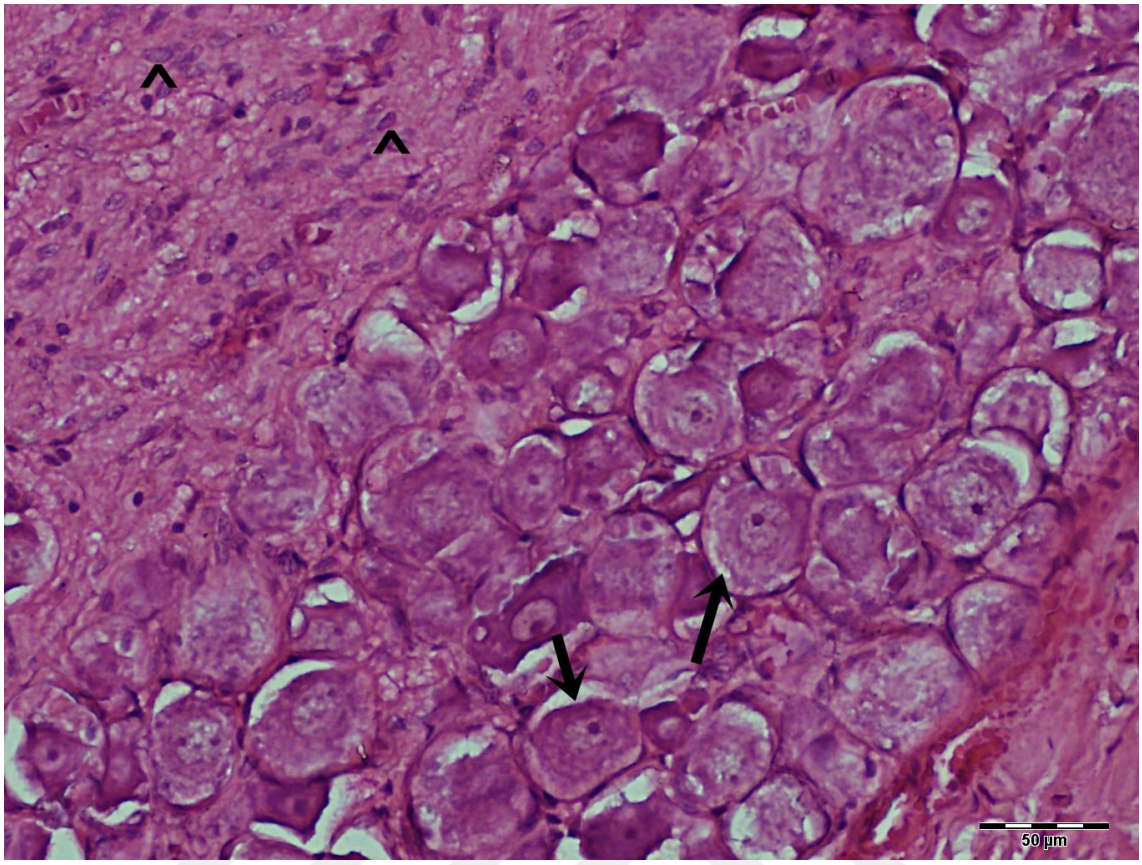


Şekil 28. SF grubuna ait korti organının HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Tüy hücreleri (TH) gösterilmiştir. Bar: 100 µm



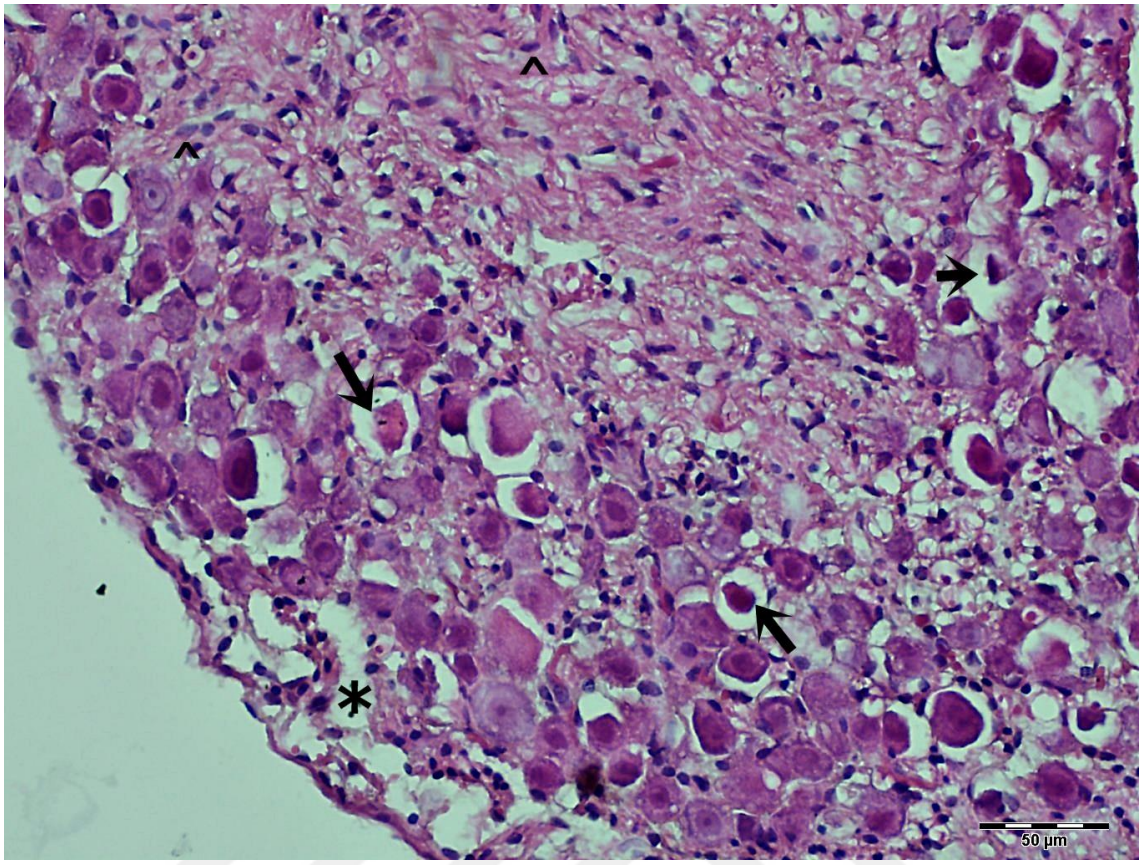
Şekil 29. CORM-3 grubuna ait korti organının HE boyaması. Reissner membranı (RM), baziler membran (BM), Tektoriyal membran (TM), Stria vaskülaris (SV), Tüy hücreleri (TH) gösterilmiştir. Bar: 100 µm

Kontrol grubuna ait spiral ganglion mikroskobik görüntüleri Şekil 30'da izlenmektedir. Bipolar nöronlar, glia hücreleri, kan damarları ve sinir liflerinden oluşan spiral ganglionun normal histolojik yapıda olduğu görüldü (Şekil 30). Nöronların dendritlerinin kemiği perfore ederek korti organına geçtiği ve tüy hücreleri etrafında sonlandığı izlendi.

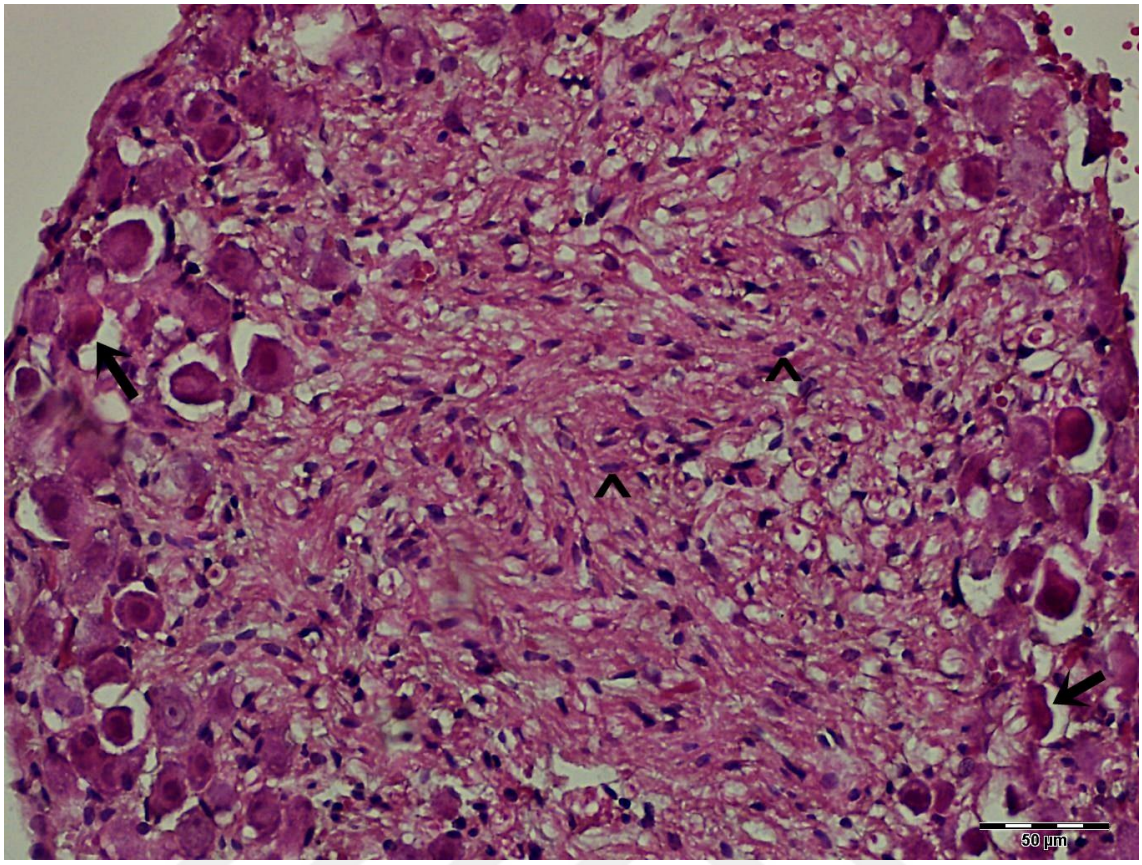


Şekil 30. Kontrol grubuna ait spiral ganglion HE boyaması. Ganglion hücreleri (oklar) ve Schwann hücreleri (okbaşı) gösterilmiştir. Bar: 50µm.

Gürültü verilen grupların histopatolojik incelemelerinde, kontrol grubundakilere kıyasla spiral ganglion hücrelerinde belirgin piknotik değişiklikler, hücre sayılarında azalma, schwann hücre proliferasyonu ve hücre morfolojilerinde bozulmalar tespit edildi. (Şekil 31) Ancak CORM-3 uygulanan grupta oluşan bu hücre hasarı ve piknotik değişiklikler, SF grubuna kıyasla daha az izlendi. (Şekil 32)



Şekil 31.Deney grubuna ait spiral ganglion HE boyaması. Okla gösterilen hücrelerde piknotik değişiklikler ve hücre dejenerasyonu izlenmiştir. Sinir liflerinde kayıp (*) ve Schwann hücreleri (okbaşı) ile gösterilmiştir. Bar: 50 µm



Şekil 32. CORM-3 grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması. Nöronlarda dejenerasyon (oklar) ve Schwann hücreleri (okbaşı) gösterilmiştir. Bar: 50 µm.

5.TARTIŞMA

Gürültüye maruziyet, sadece işitsel sistem üzerinde doğrudan olumsuz bir etkiye sebep olmakla kalmaz, aynı zamanda kişilerde fizyolojik ve psikolojik strese de yol açar. Gürültüye bağlı işitme kaybı, işitme sisteminin gürültülü bir ortama uzun süre maruz kalmasından kaynaklı duyusal sağırlık olarak tanımlanabilir. DSÖ verilerine göre; birçok ülkede presbiakuziden sonra edinilmiş işitme kaybının en yaygın ikinci sebebidir[6]. Yapılan bir çalışmada, dünyada yaklaşık 360 milyon insanın ciddi işitme kaybı yaşadığını ve 12-35 yaş arası yaklaşık 1,1 milyar gencin gürültü kaynaklı işitme kaybı yaşadığını öne sürmüştür.[107]

Toplumun sürekli gelişmesiyle birlikte, insanlar gürültüye daha kolay maruz kalmakta ve işitme duyuları etkilenmektedir. Yapılan bir çalışmada, haftada 5 saatten uzun süreli 89 dB'den yüksek sese maruz kalan kişilerin zamanla kalıcı işitme kaybı yaşayabileceğini bildirmiştir.[108] Gürültü sonucu işitme kaybı ve tinnitus, depresyon, baş ağrısı, uykusuzluk, hipertansiyon gibi hastalıklar insanların yaşam kalitelerini ciddi şekilde etkilemekte ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Koklea hasarına bağlı gelişen işitme kaybının düzeyi gürültünün süresi, şiddeti frekansı ve temporal karakteristiğine bağlıdır.[55,56] Bunların yanında; gürültüye günlük maruziyet süresi, yaş, kişisel duyarlılık genetik ve kimyasal faktörler (ilaçlar), işitme kaybının tipi, işitme kaybının mevcudiyeti, otolojik sorunlar, gürültülü ortamın yapısı, gürültü kaynağına olan mesafe ve kulakların gürültüye göre konumu da etkili faktörlerdir.[55, 57]

Gürültü kaynaklı işitme kaybı ilk olarak yüksek frekanslarda kendini gösterir. Ancak gürültünün düzeyi ve süresi uzadıkça diğer frekanslara da yayılım gösterir.[109] Uzamış gürültü maruziyeti, tüylü hücrelerde apopitoza ve spiral ganglion nöronlarının dejenerasyonuna yol açarak konuşmayı ayırt etme oranının düşmesine ve işitme eşiğinde yükselmeye ve sonuçta kalıcı işitme bozukluğuna sebep olabilir.[110]

Gürültüye bağlı işitme kaybının günümüzde kanıtlanmış spesifik bir tedavi protokolü olmadığından, gürültü kaynaklı işitme kaybının ciddi etkilerini hafifletmek için önleyici tedbirler üzerinde durulmalı ve alınmalıdır. Gürültüye bağlı işitme kaybının

mekanizmalarını açıklamak, iç kulaktaki gürültü hasarını önlemek ve korumak amacıyla literatürde çok sayıda araştırma bulunmasına rağmen henüz verimliliği yüksek veya ortak kabul edilen bir yönteme rastlanmamaktadır.[111]

GBİK oluşum mekanizmasının çeşitli basamaklarına etki etmesi amaçlanarak; hasardan korunmada pek çok hayvan modelli ve kinik çalışmalarda farklı farmakolojik ajanlar denenmiştir. Bunlardan en sık tercih edilen steroid tedavileridir. Temelde gürültünün oluşturduğu inflamatuar yanıtları baskılayıcı etkisi sebebiyle en sık metilprednizolon ve deksametazon kullanılmıştır. Kobaylarda oluşturulan GBİK modelinde intratimpanik yol ile, bir başka çalışmada ise intraperitoneal yoldan deksametazon uyguladıkları çalışmalarda, işitme kaybından koruyucu etkiler tespit etmiştir.[112,113] Buna karşın ratlarda 120 dB ile oluşturulan bir başka GBİK modelinde deksametazonun koruyucu etkinliği olmadığı saptanmıştır.[114]

GBİK'da koruma ve tedavi amacıyla steroidler dışında çalışmalarda en sık kullanılan ajanlar antioksidanlardır. Bu ajanlar, gürültü sonrası oluşan oksidatif stresi baskılayıp ROT/RNT'den oluşacak zararı engelleyerek etki gösterirler. Antioksidanlardan bazıları, N-asetil sistein, koenzim Q, vitamin A, B12, C, E gibi ajanlardır.[115]

Gürültüye bağlı işitme kaybı patogenezinde, glutamat eksitotoksisitesi, azalmış koklear kan akımı, bozulmuş Ca^{+2} metabolizması ve aktive olan apopitoz yolakları rol almaktadır. Bu aşamaları etkilemesi amacıyla sırasıyla bir NMDA reseptör antagonisti olan dizosilpin, vazodilatatör olan pentoksifilin ve magnezyum, kalsiyum kanal blokerleri ve JNK yolağı inhibitörleri gibi antiapopitotik ajanlar hayvan modellerinde ve klinik çalışmalarda kullanılmıştır.[116]

Araştırmamızda antioksidan özelliği bilinen CORM-3'ün GBİK'da koruyucu ve terapötik rolü olup olmadığı odyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Türkçe ve İngilizce literatür taramasında, gürültüye bağlı işitme kaybında CORM-3'ün etkisine yönelik benzer bir odyolojik çalışmaya rastlanmadığından araştırmamız bu amaçtaki ilk çalışma olarak önem taşımaktadır. CORM-3'ün etkisini göstermek amacıyla İUBP ve DPOAE testleri ile değerlendirmeler yapıldı. İUBP testinde 4, 6 ve 8 kHz'de CORM-3

grubunda diğer gürültü verilen gruba göre daha iyi işitme eşikleri elde edildi ve bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Gürültü, ototoksik ilaçlar, ısı, hipoksi, radyasyon, ultraviyole ve gamma ışınlar gibi hücre içinde ROT/RNT artışına yol açan patolojik hadiselerde antioksidan savunma sistemi yetersiz hale gelerek hücre hasarı oluşturan mekanizmalar devreye girer. CORM-3'ün antioksidan özelliğine ek olarak antiinflamatuar, antiapopitotik, nöroprotektif, vazodilatör, anti-iskemik, etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu etkileri bize, GBİK'da CORM-3'ün koruyucu ve tedavi edici etkisi olabileceğini düşündürdü.

Karbon monoksit (CO), çeşitli fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda önemli bir düzenleyici rolü olan moleküldür.[117] CO'nun toksik etkileri nedeniyle sonradan üretilen CORM, rapor edilen çalışmalarda karbon monoksitin yararlı etkileri kanıtlanmıştır. CORM'un türevi olan CORM-3, su ve yağda hızla çözünmesinden dolayı dokulara kolay geçiş sağladığından kullanılmaktadır. Bu sebeplerden dolayı CORM-3 ile ilgili araştırma sayıları günden güne artmaktadır. Yaptığımız çalışmada da elde ettiğimiz odyolojik ve histopatolojik sonuçlar doğrultusunda CORM-3 tedavisinin etkili olması, bu molekülle ilgili daha çok akademik çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

CORM-3'ün vazodilatör etkisini açıklayan iki farklı patogenez mevcuttur. Bunlardan biri, ATP bağımlı K^+ kanal aktivasyonu yaparak damar düz kaslarında gevşeme sonucu vazodilatasyon gerçekleştirir. Diğer mekanizma ise, CORM-3'ten ayrılıp serbest forma dönen CO'nun cGMP artışına yol açmasıdır. cGMP yolağı sonucu NO salınarak vazodilatasyon gerçekleşmektedir.

Alshehri ve ark., normotansif sıçanlardan izole ettikleri aort halkalarını elektron spin rezonansı ile değerlendirilmiştir. CORM-3, endotel bağımlı ve bağımsız gevşemeler oluşturmuş, düz kastaki K^+ kanallarının guanilil siklazdan bağımsız aktive olduğu izlenmiş. Ayrıca CO, eş zamanlı olarak NO sentaz enzimini aktive ettiği gösterilmiştir. CORM-3'ün endotel ve cGMP'ye bağlı etkisinin yanında nöro-hümoral aracılara yanıt olarak endotel bağımlı gevşemelerin olduğu gösterilmiştir.[118] Bu çalışmada kanıtlanan vazodilatör etkinin, gürültüye bağlı azalan koklear kan akımı sonucu oluşacak hasarı engelleyebileceği düşündürmektedir.

Başka bir araştırmada ise suda çözünen CORM-3'ün, izole edilen kalp kası hücresinde düşük seviyelerde CO salınımının mitokondriyal solunumun önemli bir düzenleyicisi olarak görev aldığı ortaya koyulmuştur.[119]

Yapılan bir çalışmada ise hem oksijenaz-1 tarafından üretilen sinyal molekülü olan CO'nun düşük sıcaklıklarda anti-hipoksik etkiler de dahil olmak üzere çeşitli sitoprotektif etkilerini kanıtlamayı amaçlayan çalışmalarında CORM-3'ün soğukta korunan karaciğerlerle karşılaştırıldığında, reperfüzyon sırasında akışı yaklaşık %90 iyileştirdiğini tanımlamışlardır.[120]

Bir çalışmada da, CORM-3'ten kontrollü salınan CO'nun kardiyak iskemiye bağlı hasara karşı kardiyoprotektif etkilerini araştırılmış ve kalp transplantasyonunda klinik uygulama potansiyelini değerlendirmişlerdir. Transplante kalbin solüsyonuna CORM-3 eklenmesinin, koroner akışta önemli artış sağladığı gösterilmiştir. Ek olarak, CORM-3 ile depolanan kalplerin perfüzatında kardiyak enzimlerden olan kreatin kinaz ve laktat dehidrojenaz seviyeleri daha düşük seviyelerde ölçülmüştür.[121]

Yabluchanskiy ve ark. da sıçanlarda oluşturdukları hemorajik inme modelinde serebral hasarı değerlendirmişler. CORM-3 uygulanan grupta nöroprotektif etkilerin olduğunu ve hemorajik inmeye bağlı gelişen serebral hasarı azaldığını kanıtlamışlardır.[122] Bu araştırmada olduğu gibi çalışmamızda da, CORM-3'ün nöroprotektif özelliği sayesinde gürültü sonrası spiral ganglion hücrelerinde gelişen dejenerasyonun CORM-3 uygulanan grupta daha az olduğu tespit edilmiştir.

Literatür incelendiğinde, akustik travma veya ototoksik ajan sonrası uygulanan intratimpanik antioksidan maddelerin etkilerini inceleyen araştırmalarda anlamlı bulgular elde etmişlerdir.[140, 141] CORM-3 ile ilgili mevcut tüm çalışmalarda intraperitoneal yol ile uygulanmış olmasının yanında, günlük intratimpanik enjeksiyonların odyolojik sonuçları etkiyeleyebileceği düşünüldüğünden ve ratlara intratimpanik uygulama için her gün anestezik madde verilmesi gerektiğinden çalışmamızda intraperitoneal uygulama yolu tercih edilmiştir.

Çalışmamızda CORM-3, gürültü maruziyetinden 1 saat sonra uygulanmıştır. Colleen ve ark., GBİK mekanizmasında önemli rolü olan reaktif oksijen ve azot türevleri oluşumunun ilk 3 günde başlayıp maksimum düzeye 7 ile 10 gün içinde ulaştığını

bildirmişlerdir[28]. Dolayısıyla gürültü travmasından önce veya sonra ilk 24 saatte uygulanan koruyucu ajanın etkilerinin benzer olduğunu tespit etmişlerdir. Yamashita ve ark. ise ROT/RNT üretimi ve DTH kaybının gürültüden sonra 7 gün boyunca devam ettiğini ifade etmişlerdir. Bu süre boyunca uygulanan antioksidan tedavinin etkili olabileceğini ve koklear hasarı azaltabileceğini öne sürmüşlerdir.[123] Oishi ve arkadaşlarının araştırmasında, gürültü travması sonucu ROT'un artması ve hücrede ölüm yollarının tetiklenmesinin kokleada bazalden apikal kısıma doğru 7 ile 10 gün süresince devam ettiği belirtilmiştir.[124] Bu bilgilere dayanarak; CORM-3 kullanımının etkilerini araştırmak amacıyla gürültü maruziyetinden 1 saat sonra başlanarak 7 gün boyunca uygulanmıştır.

CORM-3'ün gürültü sonrası ne kadar sürede verilmesi gerektiği ve hangi zaman aralığında uygulandığında maksimum etkinliğe ulaşacağına dair ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Literatürdeki GBİK ile ilgili pek çok deneysel hayvan çalışmalarında birbirinden farklı gürültü modelleri kullanılmıştır. Standart bir gürültü protokolü olmayıp aynı uyaran ve şiddette gürültüye maruz bırakılmasına rağmen farklı bulguların elde edilmiş olması GBİK araştırmalarının belirli standardının olmamasına sebep olmuştur. Benzer araştırmaların sağlıklı yürütülebilmesi için standardizasyonun sağlanmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Çalışmamızdaki gürültü modeli, Evin ve ark. kullandığı şekilde 4 kHz oktav frekansında 120 dB SPL şiddetinde 4 saat olarak uygulandı. Bu çalışmada, gürültü sonrası 1.gün İUBP ölçümlerinde en yüksek eşikler 75 dB seviyelerinde elde edilmiştir.[125]

Tavşanlarda gürültüye bağlı işitme kaybında N-asetilsisteinin koruyucu etkisini inceledikleri araştırmada, çalışmamızla aynı gürültü modelini kullanıp İUBP testi birinci gündeki ölçümlerinde en yüksek 50 dB seviyesinde eşik bulmuşlardır.[126] Hu ve arkadaşlarının çalışmalarında ise aynı gürültü modeli kullanılarak tespit edilen işitme kaybı, 115 dB düzeyinde ölçülmüştür. Herhangi koruyucu ajanın uygulanmadığı bu araştırmada işitme eşikleri 14. günde 80 dB SPL düzeylerinde ölçülmüştür.[127] Le Prell ve ark.'nın araştırmasında ise 4 kHz oktav bantta 120 dB SPL şiddetinde 5 saat süreyle gürültü verilip 50 dB SPL seviyelerinde işitme eşikleri elde edilmiştir.[65] Aynı tür ve şiddette gürültüye maruz bırakılan sıçanlarla yapılan çalışmamızda, süre 1 saat kısa

olmasına rağmen çok ileri ve ileri derecede işitme kaybı ile uyumlu eşikler elde edilmiştir. Literatüre bakıldığında kullanılan hoparlörün kulağa veya kafese olan mesafesinden bahsedilmemekte; çalışma ortamının nitelikleriyle ilgili ayrıntılı bilgi verilmemektedir. Bunlar gibi çeşitli faktörlerin oluşturulan işitme kaybı düzeyini etkileyebileceği düşünülmektedir.

İşitme kaybı seviyesini etkileyen faktörlerin; maruz kalınan gürültünün frekansı, şiddeti, süresi, kaynağa olan mesafesi ve ortamın özellikleri olduğu literatürlerde sıklıkla bahsedilmektedir[128]. Sıçanların gürültü uygulandığı süreçte kafesteki hareketlerinin, uykuda olmaları ve vücutlarının pozisyonu gibi değişkenlerin her iki kulak arasında oluşan işitme kaybı seviyelerinde farklılık yaratabileceği düşünülerek; sağ ve sol kulaklar arası İUBP eşikleri karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Ek olarak ACOEM (American College of Occupational and Enviromental Medicine) GBİK'nın çoğunlukla bilateral ve simetrik geliştiğini bildirmiştir[129]. Bizim çalışmamızda da bu sonuçlar ile uyumlu bulgular elde edilmiştir.

Gürültü modelinde uygulanan frekans spektrumu, sesin şiddet ve karakteristiğine bağlı olarak etkilenen işitme frekansı değişkenlik gösterir. Salvi ve ark.'nın araştırmasında 4 kHz oktav bant gürültü verildiğinde işitme eşiklerinin özellikle 4 ve 8 kHz'de kötüleştiği, 16 kHz'e doğru ise daha iyi olduğu saptanmıştır[58]. Araştırmamızda da uygulanan 4 kHz oktav bant gürültü ile, Salvi ve ark. ile benzer biçimde 4 kHz'de daha belirgin işitme kaybı tespit edilmiştir.

Literatür araştırmalarına dayanarak wistar ratların işitmelerinin 0,25-70 kHz aralığında olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda tüm ratların bazal ölçümleri ve kontrol grubunun 1. ve 7. gün DPOAE testindeki sinyal gürültü oranlarının amplitüdleri, en yüksek 8 kHz frekansında tespit edildi. Bu sonuç ratlarda en iyi işitmenin 8 kHz'de olmasından kaynaklanabilmekte ve DPOAE ve İUBP testlerinin yüksek frekans ölçüm özelliği mevcut olması gerektiği düşünülmektedir. Kliniğimizdeki DPOAE ve İUBP cihazlarının yüksek frekans ölçüm özelliği bulunmadığından değerlendirmeler 8 kHz'e kadar yapılabildi.

DPOAE non-invaziv, hızlı sonuç veren, düşük maliyetli ve pratik bir testtir. Ancak elde edilen ölçümlere probun yerleşimi, dış kulak yolu darlığı, serümen varlığı, ortam

gürültüsü gibi faktörler kolaylıkla etki edebilmektedir. Ortam özellikleri aynı olsa bile ardışık ölçümlerde amplitüd farklılıkları saptanabilmektedir.[130] Hayvan modelli çalışmalarda probun dış kulak yoluna uygun yerleşmemesi emisyon amplitüdlerini etkileyeceğinden; deney hayvanına otoskopik bakı ve uygun sedasyon sağlanması, ölçümlerde uygun prob seçilmesi gereklidir[131]. Çalışmamızda DPOAE bazal değerlendirmelerinde, tüm gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemesine rağmen; gürültü verilmeyen grupların DPAOE ölçümlerinde birbirlerinden farklı amplitüdler elde edildi.

Yapılan çalışmalarda, DPOAE'nin GBİK deney modellerinde gürültünün ilk sonuçlarının saptanması ve farmakolojik ajan etkilerinin değerlendirilmesinde faydalı bir test olduğunu belirtmişlerdir.[132,133] Başka bir araştırma ise 40 dB ve üzeri eşik değişiminde DPOAE yanıtlarının kaybolduğunu ve DPOAE ölçümünün 30-35 dB'lik kayıba kadar olan işitme fonksiyonu ve DTH hasarı hakkında bilgi verirken; 35-100 dB aralığındaki işitme kayıplarında tüylü hücre ve iç kulak fonksiyonuyla ilgili yeterli bilgi veremediğini göstermiştir. Ayrıca DPOAE, İTH ve vestibülokoklear sinir hakkında bilgi verememektedir[28]. Bu verilere dayanarak; DPOAE ölçümünün, gürültü kaynaklı işitme kaybı modelinde tek başına yeterli değerlendirme sağlamamasına rağmen; çalışmaya dahil edilecek ratların seçiminde etkili olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda da benzer çalışmalarda kullanıldığı gibi elektrofizyolojik test olan IUBP uygulandı.

GBİK modeli oluşturulan araştırmalarda pek çok farmakolojik ajan, farklı süre ve yollardan uygulanmış ve farklı etkiler tespit edilmiştir. Bielefeld ve ark.'nın çinçillalarda yaptığı çalışmada 4 kHz oktav band 105 dB şiddetteki gürültü 6 saat, 155 dB impuls gürültü 75 defa ve 2 saat boyunca dar band 108 dB olarak 3 farklı gürültü modeli kullanılmış ve koruyucu ajan olarak NAC uygulanmıştır. Gürültü sonrası 1.gün İUBP ölçümlerinde 8 kHz'de 45 dB eşik, 3 hafta sonraki İUBP'de ise aynı frekansta eşikler 30 dB düzeyinde saptanmıştır. Yaklaşık 15 dB' lik bir kazanç elde edilmiştir.[115] Le Prell ve ark., gürültüden 1 saat önce ve sonrası 5 gün boyunca A, C, E vitaminleri ve magnezyum uyguladıkları çalışmalarında tedavi sonrası yaklaşık 30 dB kazanç elde etmişlerdir.[65] Bunlar haricinde glutatyon, D-metiyonin, likopen resveratrol, koenzim Q, ginseng gibi çeşitli antioksidanların kullanıldığı pek çok çalışmalarda İUBP ile saptanan işitme

kazancı 10-30 dB arasında değişmektedir.[5,134,135,136] Araştırmamızda, CORM-3 tedavisinin 7.gün İUBP ölçümlerinde 1.güne kıyasla 4 kHz frekansta 27 dB, 6 kHz'de 30 dB, 8 kHz frekansta 31dB kazanç elde edildi. Elde edilen bu verilere göre tüm frekanslardaki düzelme istatistiksel olarak anlamlı ve literatürle benzer şekilde bulundu. ($p<0,005$)

Çalışmamızda 4, 6 ve 8 kHz İUBP ölçümü yapılmış olup, yüksek frekans ölçüm özelliğine sahip İUBP cihazının kliniğimizde bulunmaması nedeniyle yüksek frekans ölçümler gerçekleştirilememiştir.

Çalışmamızın histopatolojik kısmında tüm gruplardaki ratların iç kulaklarından hazırlanan 5 mikronluk kesitlere öncelikle HE boyama yapılarak ışık mikroskopi ile değerlendirildi. Deney grupları olan SF ve CORM-3'e ait örneklerde korti organında yer alan tüylü hücrelerde dizilim bozukluğu, destek hücrelerde dejenerasyonlar ve tektoriyal membranda ayrılmalar izlendi. Ancak alınan tüm kesitlerin homojen olmaması ve bazı kesitlerde tekniğe bağlı olması muhtemel yapısal bozulmalar izlenmesi sebebiyle histopatolojik olarak hasarlı hücre oranlarının değerlendirilmesi ve karşılaştırılması gerçekleştirilemedi. Literatüre bakıldığında kalıcı eşik değişikliği patogenezinde İTH, DTH kayıpları; sonrasında meydana gelen spiral ganglion ve afferent sinir liflerinde dejenerasyonun yer aldığı bilinmektedir[69,74,137,138]. Yaptığımız bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak korti organı ve spiral ganglion hücrelerinde yukarıda tanımlanan histopatolojik bulgular saptandı.

Koklear iskemi modeli oluşturulan bir araştırmada, ginseng bileşiğinin etkilerini incelemek amacıyla 7.günde yapılan TUNEL boyama ile spiral ganglion hücreleri değerlendirilmiştir.[139] Apopitotik hücre tespitinde faydalı bit teknik olan TUNEL boyama ve hasarlı hücre incelemesinde kullanılan elektron mikroskobisi yöntemlerinin çalışmanın faydası ve literatüre katkısı açısından anlamlı olacağı öngörülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmamızda, wistar ratlarda 4 saat süreli 4 kHz oktav band frekansında 120 dB şiddette gürültüye maruz bırakılarak gürültüye bağlı işitme kaybı modeli başarıyla oluşturuldu.

2. Ratların odyolojik ölçümlerinde, gürültü sonrası İUBP eşikleri SF grubunda 7.günde düzelme göstermezken, CORM-3 grubunda 7.günde düzelme meydana gelmiştir. Saptanan bu iyileştirici etki 4, 6, 8 kHz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

3. Bu araştırma sonucu CORM-3'ün GBİK'na karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri olabileceğini odyolojik olarak göstermiştir.

4. Histopatolojik incelemelerde ise tüylü hücrelerde dizilim bozukluğu, membranlarda ayrışmalar ve spiral ganglion hücrelerinde dejenerasyon gibi gürültü kaynaklı iç kulak hasarı oluştuğu gösterilmiştir.

5. CORM-3'ün gürültüye bağlı işitme kaybındaki etki mekanizmalarının, etkin doz ve uygulama yolunun farklı gürültü şiddet ve sürelerinde etkilerinin ortaya konulabilmesi açısından ek çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

6. CORM-3 ile yapılan araştırmaların çeşitliliği, kapsamı ve sayısının yetersiz olmasının yanında, CORM-3'ün özellikle ototoksisite tedavisi için alternatif olabilecek, umut vadeden bir antioksidan olduğu söylenebilir. CORM-3'ün etkilerini araştıran çalışmaların önümüzdeki yıllarda artacağı ve bu çalışmada elde edilen sonuçların yapılacak daha kapsamlı ileri çalışmalar için rehber olabileceği düşünülmektedir.

7.KAYNAKÇA

1. **Sareen A, Singh V**. Noise Induced Hearing Loss: A Review. *Online J Otolaryngol*, **2014**; 4(2): 1-10.

2. **Güler Ç., Çobanoğlu Z**. Gürültü. In: Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. 1th ed. Ankara: Aydoğdu Ofset*;* **1994.** p. 1–43.

3. **Tikka C, Verbeek JH, Kateman E, Morata TC, Dreschler WA, Ferrite S**. Interventions to prevent occupational noise-induced hearing loss. *Cochrane database Syst Rev*. **2017** Jul;7:7–41.

4. **Le TN, Straatman L V, Lea J, Westerberg B**. Current insights in noise-induced hearing loss: a literature review of the underlying mechanism, pathophysiology, asymmetry, and management options. *J Otolaryngol - HeadNeck Surg*. **2017** May 23;46:41.

5. **Sha S-H, Schacht J**. Emerging therapeutic interventions against noiseinduced hearing loss. *Expert Opin Investig Drugs*. **2017** Jan 2;26(1):85–96.

6. **Park JS, Jou I, Park SM**. Attenuation of noise-induced hearing loss using methylene blue. *Cell Death Dis*, **2014**;5: 1-11.

7. **Chen L, Dean C, Gandolfi M, Nahm E, Mattiace L, Kim AH**. Dexamethasone's effect in the retrocochlear auditory centers of a noise-induced hearing loss Mouse model. *Otolaryngo. Head and Neck Surg*, **2014;** 151 (4): 667-74.

8. **Oishi N, Schacht J.** Emerging treatments for noise-induced hearing loss. *Expert Opin Emerg Drugs*. **2011** Jun;16(2):235–45.

9. **Lu J, Li W, Xiaoping D, Ewert DL, West MB, Stewart C, Floyd RA. Kopke RD**. Antioxidants reduce celluler and functional changes induced by intense noise in the inner ear and cochlear nucleus. *JARO*, **2014**;353-72.

10. **Henderson D, Bielefeld EC, Harrıs KC, Hu BH**. The role of ox,dat,ve stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear*, **2006**;27:1-19.

11. **Puel Jl, Ruel J, Gervaıs D'aldın C, Pujol R**. Excitotoxicity and repair of cochlear synapses afer noise trauma induced hearing loss. *Neuroreport*, **1998**;9: 2109-114

12. **Kalkavan CŞ**. Ototoksik ajanların iç kulak üzerine olan etkilerinin otoakustik emisyon ile fonksiyonel olarak değerlendirilmesi. İstanbul Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi. **2009**,1-40

13. **Kanlıkama M.** İşitme fizyolojisi. In: Otoloji ve Nörootoloji. İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; **2013**. p. 59–84.

14. **Mills Samir JH, Khariwala S, Weber PC**. İşitmenin Anatomi ve Fizyolojisi. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD, editors. Baş&Boyun Cerrahisi- Otolarengoloji. 4th ed. Ankara: *Lippincott Williams & Wilkins*; **2011**. p. 1883–904.

15. **Moller AR**. Hearing: Anatomy, Physiology, and disorders of the auditory system, Second Edition. USA, *Elsevier Inc*. **2006**; 3-300.

16. **Francis HW**. Anatomy of the Temporal Bone, External Ear, and Middle Ear. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. *Cummings Otolaryngology* - Head and Neck Surgery. Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; **2015**. p. 1821–30.

17. **Mills JH, Khariwala SS, Weber PC**. Aantomy and Physiology of Hearing. In: Bailey BJ, Johnson JT, editors. Head & Neck Surgery- Otolaryngology. Fourth Edition, Philadelphia: *Lippincott Williams & Wilkins*, **2006**.p.1883-1900.

18. **Aas S, Tronstad TV**. Diffusion-Based Model for Noise-Induced Hearing Loss. Norwegian University of Science and Technology. *Master of Science*, **2007**; 1-81.

19. **Akyıldız N**. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Akyıldız N, editor. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; **1998**. 3-56 p.

20. **Gündoğdu R**. Ratlarda intraperitoneal yolla uygulanan kuersetin hidratın sisplatin ototoksisitesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Kayseri, Erciyes Üniversitesi, Tıpta uzmanlık tezi, **2013**;1-56

21. **Meyer AC, Moser T**. Structure and function of cochlear afferent innervation. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, **2010**; 18(5):441-6.

22. **Runge CL, Friedland DR**. Anatomy of the Auditory System. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. *Cummings Otolaryngology*. Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; 2015. p. **1987**–93.e2.

23. **Merchant SN, Rosowski JJ**. Auditory Physiology. In: Gulya AJ, Glasscock ME, editors. *Glasscock–Shambaugh Surgery of the Ear*. 5th editio. Spain: BC Decker Inc; **2003.** p. 59–75.

24. **Yamaguchi T, Nagashima R, Yoneyama M, Shiba T, Ogita K.** Disruption of ion-trafficking system in the cochlear spiral ligament prior to permanent hearing loss induced by exposure to ıntense noise: possible involvement of 4-hydroxy-2-noneal as a mediat. *PLoS One*, **2014** July 11;9 (7):e102133.

25. **Şentürk Uzer T**. Akustik travmada pentoksifilin-steroid kombine tedavisinin işitme kaybı üzerine etkisi (hayvan modeli). İstanbul, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, **2005**;1-71

26. **Martin FN, Clark JG.** Introduction to Audiology. Eleventh edition. NewJersey: *Pearson Education Inc*, **2012**;3-280.

27. **Muller M.** Frequency representation in the rat cochlea. *Hear Res*, **1991**; 51:247-54

28. **Svere A, Vedul T.** Diffusion-Based Model for Noise-Induced Hearing Loss. Norwegian University of Science and Technology Department of Electronics and Telecommunications, *Master of Science in Electronics*, **2007**.

29. **Lim DJ.** Cochlear anatomy related to cochlear micromechanics. A review. *J Acoust Soc Am.* **1980**;67(5):1686-95.

30. **Madanoğlu** NA. Kohleanın işitme mekanizmasındaki yeri. *Otoskop* **2003**;2: 78-82

31. **Corey DP.** Transduction and adaptation by vertebrate hair cells. In: Berlin CI, Bobbin RP, editors. Hair Cells Micromechanics and Hearing, First Edition, Canada: *Thomson Learning Inc*, **2001**; 1-26.

32. **Cho Y.** Molecular mechanisms of the cochlear response to noise and deafness. Michigan, University of Michigan, *Doctor of Philosophy*. **2001**;1-159.

33. **Bulut E.** Corti organı frekans seçiciliğinde dış tüylü hücrelerin rolü. Edirne, Doktora tezi, Trakya Üniversitesi, **2009**

34. **Kelley MW, Wu DK.** Development neurobiology of the ear: Current and future directions. In: Kelley MW, Wu DK, Popper AN, Fay RR, editors. Development of the inner ear, First Edition, United States of America: *Springer Science+Business Media Inc*, **2005**; 1-9.

35. **Seikel JA, King DW, Drumright DG.** "Anatomy of Hearing," in Anatomy&Physiology for Speech, *Language and Hearing*, 4th Ed. Bellegarde M. (ed). **2010**; 447–478.

36. **Santi PA, Mancini P**. Cochlear Anatomy and Central Auditory Pathways. In CW Cummings, JM Fredrickson, LA Harker, et al. (eds), Otolaryngology- Head and Neck Surgery. *Baltimore: Mosby- Year Book*, **1993**:2497-524

37. **Özdemir S.** İ. Kulak, İşitme Siniri ve Santral Koklear Yolların Fizyolojisi. In: Önerci M, Güneri EA, editors. *Nörootoloji*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi; **2016**. p. 26–34.

38. **Olgun Y.** Hipoksik iskemik ensefalopati oluşturulan yenidoğan sıçanlarda işitsel fonksiyon kaybı ve eritropoetin etkisinin araştırılması. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2012**; 3-90.

39. **Kros CJ**. Physiology of mammalian cochlear hair cells. In Springer Handbook of Auditory Research, Vol. 8: The Cochlea, ed. Dallos, Popper, A.N. & Fay, R.R., *SpringerVerlag*, New York **1996**; 318-38

40. **Pickles JO.** An Introduction to the Physiology of Hearing (4th. ed.), Bingley, UK: *Emerald Group Publishing Limited*, **2012**;211,215-217,238.

41. **Emre B, Salgırlı Y.** Deneklerin Fizyolojik Özellikleri ve Deneysel Çalışmalarda Model Oluşturmadaki Zorlukları, *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, **2000**.

42. **Poyraz Ö**. Laboratuvar Hayvanları Bilimi, Ankara. Kardelen Ofset. **2000**

43. **Lelovas PP**, **Xanthos TT**, **Thoma SE**, **Lyritis GP**, **Dontas IA**. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comparative Medicine.* **2008**; 58: 424-30.

44. **Albuquerque AF, Rossato M, Apparecido de Oliveria JA, Hyppolito MA.** Understanding the anatomy of ears from guinea pig and rats. *Bfraz J Otorhinolaryngol* **2009**;75(1): 43-9.

45. **Zimmer, WM, Rosin, DF, Saunders JC**. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *The Anatomical Record*, **1994**, 239(4), 475-484.

46. **Kayabaşoğlu G.** Cep telefonlarından kaynaklanan elektromanyetik alanın işitme üzerindeki etkilerinin sıçanlarda incelenmesi. İstanbul, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2009**;1-73.

47. **Arıcı M.** Sıçanlarda akustik travmaya bağlı işitme kaybı modelinde likopenin etkisinin araştırılması. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2015**; 4-62.

48. **Göksu N.** Anatomy of the guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **1992**; 101: 699-704

49. **Heffner HE, Heffner RS**. Sound localisation in wild Norway rats (Rattus norvegicus). *Hearing Research*, **1985**;19: 151-55.

50. **Fligor B, Chasin M, Neitzel R.** In: Katz J, Editor. Noise exposure. Handbook of Clinical Audiology. Seventh edition, China: *Wolters Kluwer Health*, **2015**;595-615.

51. **Groenewold MR, Masterson EA, Themann CL, Davis RR.** Do hearing protectors protect hearing*? Am J Ind Med*, **2014**; 57:1001–10.

52. **Choi C-H, Du X, Floyd RA, Kopke RD**. Therapeutic effects of orally administrated antioxidant drugs on acute noise-induced hearing loss. *Free Radical Research*, **2014**;48(3): 264-72.

53. **Zhang X, Liu Y, Zhang L, Yang Z.** Genetic variations in protocadherin 15 and their interactions with noise exposure associated with noise-induced hearing loss in Chinese population. *Environmental Research*, **2014**;135:247–52.

54. **Op de Beeck K, Schacht J, Camp GV.** Apoptosis in acquired and genetic hearing impairment: The programmed death of the hair cell. *Hear Res*, **2011**;281: 18-27.

55. **Verbeek JH, Kateman E, Morata TC, Dreschler WA, Mischke C.** Interventions to prevent occupational noise-induced hearing loss: A Cochrane systematic review. *Int J Audiol*, **2014**;53: 4–96.

56. **Syka J.** Plastic changes in the central auditory system after hearing loss, restoration of function, and during learning. *Physiol Rev* **2002**;82: 601–36.

57. **Devren S**, Gürültüye bağlı koklear hasarın önlenmesinde olivokoklear sistemin rolünün dopamin antagonisti (haloperidol) kullanarak elektrofizyolojik testlerle deneysel olarak araştırılması. Edirne, Trakya Üniversitesi, Yüksek lisans tezi, **2011**.

58. **Salvi R, Boettcher FA.** Animal models of noise-induced hearing loss. In: Conn PM, editör. Sourcebook of Models for Biomedical Research. First Edition, Totowa, NJ: *Humana Press Inc*., **2008**.p.289-301

59. **Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, Miller JM.** Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res,* **2000**;146:28-34.

60. **Fetoni AR, De Bartolo P, Eramo Sl, Rolesi R, Pacıello F, Bergamını C, Fato R, Paludettı G, Petrosını L, Troiani D.** Noise Induced Hearing Loss (NIHL) as a target of oxidative stress mediated damage: cochlear and cortical responses after an increase in antioxidant defense. *J Neurosci*, **2013**;33(9):4011-23.

61. **Doosti A, Lotfi Y, Moosavi A, Bakhshi E, Talasaz AH.** Distortion Product Otoacoustic Emission (DPOAE) as an Appropriate Tool in Assessment of Otoprotective Effects of Antioxidants in Noise-Induced Hearing Loss (NIHL). *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, **2014**;66(3):325-9.

62. **Henderson D, Hamernik R, Dosanjh O, Mills J.** The audiometric profile of noise-induced hearing loss. Effects of Noise on Hearing. New York: *Raven Press* 457-465.

63. **Hong BN, Kim SY, Yi TH, Kang TH**. Post-exposure treatment with ginsenoside compound K ameliorates auditory functional injury associated with noise-induced hearing loss in mice. *Neurosci Lett*, **2011**;487: 217–222.

64. **Raphael Y.** Cochlear pathology, sensory cell death and regeneration, *British Medical Bulletin*, **2002**;63: 25–38.

65. **Le Prell CG, Yamashita D, Shujiro B. Minami SB, Yamasoba T, Miller JM**. Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. *Hearing Research*, **2007**;226: 22–43.

66. **Wallace RB.**, Maxcy-Rosenau Last Public Health and Preventive Medicine 14. Edition *Appleton Lange*-**1998**.

67. **LLM Brenda GK.** Noise-induced hearing loss. In: Cummings J, editor. *Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 4. Güneş Tıp Kitapevleri, cilt 4, Çeviri Koç C.: Elsevier Mosby; **2007**; 2906-25.

68. **Clark WW, Bohne BA.** Effects of noise on hearing. *Jama* 281, 17 **1999**; 1658–1659.

69. **Kurabi A., Keithley EM, Housley GD, Ryan AF, Wong AC-Y**. Cellular mechanisms of noise-induced hearing loss. *Hear Res*. **2017** Jun; 349:129–37.

70. **Yuan H, Wang X, Hill K, Chen J, Lemasters J, Yang SM, Sha SH.** Autophagy attenuates noise-induced hearing loss by reducing oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, **2015**; 22(15):1308-24.

71. **Wu HP, Hsu CJ, Cheng TJ, Guo YL**. N-acetylcysteine attenuates noise-induced permanent hearing loss in diabetic rats. *Hearing Research*, **2010**;26:771-7.

72. **Mercan U**. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg*. **2004**;15 (1-2):91-6.

73. **Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya, **1995**.

74. **Lonsbury Martin BL, Martin GK**. Noise-Induced Hearing Loss. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. *Cummings Otolaryngology*. Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; **2015**. p. 2345–2358.e3.

75. **Sezer K., Kesin M.,** Serbest radikallerin hastalıkların patogenezindeki rolü. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Der*. 2104;28 (1):49-56.

76. **Wakabayashi K, Fujioka M, Kanzaki S, Okano HJ, Shibata S, Yamashita D, et al.** Blockade of interleukin-6 signaling suppressed cochlear inflammatory response and improved hearing impairment in noise-damaged mice cochlea. *Neurosci Res*. **2010** Apr;66(4):345–52.

77. **Graham CE, Basappa J, Vetter DE.** A corticotropin-releasing factor system expressed in the cochlea modulates hearing sensitivity and protects aganist noise-induced hearing loss. *Neurobiol Dis*, 2010;38: 246-58.

78. **Minami SB, Yamashita D, Schacht J, Miller JM.** Calceurin activation contributes to noise-induced hearing loss. J *Neurosci Res*, **2004**;78:383-92.

79. **Görgülü A, Kırış T.** Eksitatör aminoasidler ve eksitotoksisite. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, **2005**;15(1):33-8.

80. **Demir İ.** Deneysel diffüz kafa travmasında ginseng'in superoksit dismuıtaz (SOD), Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), düzeyine etkisiyle nöroprotektivitesinin incelenmesi. Van, Yüzüncü Yıl Üniversitesi. **2012**;1-86.

81. **Heinrich UR, Maurer J, Mann W.** Ultrastructural evidence for protection of the outer hair cells of the inner ear during intense noise exposure by application of the organic calcium channel blocker diltiazem. *ORL* 61, 6 **1999**; 321–327.

82. **Tandoğan B, Ulusu N.** Kalsiyum Bağlayıcı Proteinler, *Türk Biyokimya Dergisi*, **2006**.

83. **Charles I.** Neurotransmission and Hearing Loss. Singular Publishing Group, *INC*, **1995**, San Diego London.

84. **Nicotera TM, Hu BH, Henderson D.** The caspase pathway in noise-induced apoptosis of the chinchilla cochlea, *J Assoc Res Otolaryngol*. **2003**; 4(4), 466-77.

85. **Greeen SH, Altschuler RA, Miller JM.** Cell death and Cochlear Protection. In: Schacht J, Popper AN, Fay RR, editors. Auditory Trauma, Protection and repair. First Edition, New York: *Springer-Verlag*. **2008** ;p.275-319

86. **Coşkun G, Özgür H.** Apopitoz ve nekrozun moleküler mekanizması. Arşiv, **2011**;20:145- 158.

87. **Ekborn A, Laurell G, Johnstro P, Wallin I, Eksborg S**. D-Methionine and cisplatin ototoxicity in the guinea pig: D-methionine influences cisplatin pharmacokinetics. *Hearing Research*, **2002**;165, 53-61.

88. **Lim DJ, Melnick W.** Acoustic damage of the cochlea. A scanning and transmission electron microscopic observation. *Arch. Otolaryngol*. 94, **1971**; 294–305.

89. **Kopke R, Slade MD, Jackson R, Hamill T, Fausti S, Lonsbury-Martin B, Sanderson A, Dreisbach L, Rabinowitz P, Torre III P, Balough B**. Efficacy and safety of N-acetylcysteine in prevention of noise induced hearing loss: A randomized clinicak trial. *Hear Res*, **2015**;323:40-50.

90. **Karaavcı NÇ**. Deneysel subaraknoid kanama modelinde karbonmonoksit releasing molekül-3'ün serebral vazospazm üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzm Tezi. **2017**; Erzurum.

91. **Dulak J, Józkowicz A, Foresti R, et al.** Heme Oxygenase Activity Modulates Vascular Endothelial Growth Factor Synthesis in Vascular Smooth Muscle Cells. Antioxidants \& *Redox Signal*. **2002**;4(2):229-240.

92. **Stanford SJ, Walters MJ, Hislop AA**, et al. Heme oxygenase is expressed in human pulmonary artery smooth muscle where carbon monoxide has an anti-proliferative role. *Eur J Pharmacol*. **2003**;473(2):135-141.

93. **Nakao A, Kimizuka K, Stolz DB,** et al. Protective effect of carbon monoxide inhalation for coldpreserved small intestinal grafts. *Surgery*. **2003**;134(2):285-292.

94. **Yabluchanskiy A, Sawle P, Homer-Vanniasinkam S, Green CJ, Foresti R, Motterlini R**. CORM-3, a carbon monoxide-releasing molecule, alters the inflammatory response and reduces brain damage in a rat model of hemorrhagic stroke*. *Crit Care Med*. **2012**;40(2).

95. **Clark JE, Naughton P, Shurey S,** et al. Cardioprotective Actions by a Water-Soluble Carbon Monoxide\&\#x2013;Releasing *Molecule. Circ Res*. **2003**;93(2):e2-e8.

96. **Karaduman H**. Comparison of the effects of the CORM-3 molecule with Gingko biloba, NAcetylcysteine and Pentoxifylline in a rat lower extremity acute ischemia- reperfusion model, *Published online* **2020**

97. **Çakır A.** Farelerde akustik travma ile oluşturulmuş tinnitus modelinde LTP aracılı sinaptik plastisite sürecinin incelenmesi. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, **2012**; 4-62.

98. **Willott JF**. Factors affecting hearing in mice, rats, and other laboratory animals. Journal of the American Association for Laboratory *Animal Science*, **2007**;46 (1):23-7.

99. **Shaw NA.** The auditory evoked potential in the rat- a review. *Prog Neurobiol*, **1988**;31:19- 45.

100. **Henderson D, Hu B, Bielefeld E.** Patterns and Mechanisms of Noise-Induced Cochlear Pathology. *J Assoc Res Otolaryngol*. 4(4), **2008**; 466-77.

101. **Karaavcı NÇ.** Deneysel subaraknoid kanama modelinde karbonmonoksit releasing molekül-3'ün serebral vazospazm üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzm Tezi. **2017**.

102. **Kemp, D. T**. Active Processes and Otoacoustic Emissions in Hearing. Manley G. A. vd. (Ed.), Otoacoustic Emissions: Concepts and Origins (1. Bs) içinde. New York:*Springer Science Business Media*, **2008**.

103. **Dhar, S., & Hall, J. W**. Otoacoustic emissions : principles, procedures, and protocols. San Diego: *Plural Publishing*, **2012**.

104. **Kramer, S., Brown, D. K**. Audiology Science to Practice. B. Stach (Ed.), Evoked Physiologic Responses (11. Bs) içinde. San Diego, CA: *Plural Publishing*. **2019**, 244-251.

105. **Hall, J. W.** Introduction to audiology today. United States: *Pearson Education*, **2014**.

106. **Alvarado JC, Santamaria VF, Flores TJ, Blanco JL, Juiz JM.** Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in wistar rats. *Front Aging Neurosci*. **2014**; 6:29.

107. **Chadha S, Cieza A.** Promoting global action on hearing loss: world hearing day. *Int J Audiol***. 2017** Mar 04;56(3):145–147.

108. **Imam L, Hannan SA**. Noise-induced hearing loss: a modern epidemic? *Br J Hosp Med.* **2017** May02;78(5):286–290.

109. **Taneja MK.** "Noise-induced hearing loss," *Indian J. Otol.*, vol. 20, no. 4, **2014;** 151–155.

110. **Kujawa SG, Liberman MC**. Synaptopathy in the noise-exposed and aging cochlea: Primary neural degeneration in acquired sensorineural hearing loss. *Hear Res*. **2015** Dec;330(Pt B):191–199.

111. **Ohlemiller K.** Recent Findings and Emerging Questions in Cochlear Noise Injury. *Hear Res.* **2008**; 245(1-2): 5–17.

112. **Takemura K, Komeda M, Yagi M, Himeno C, Izumikawa M, Doi T**, et al. Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res*. **2004** Oct;196(1–2):58–68.

113. **Wang B, Liu Y, Chi F, Zhang Y, Yang M, Zhu X**. Dexamethasone suppresses cochlear Hes1 expression after noise exposure. *Acta Otolaryngol*. **2013** Mar;133(3):233–8.

114. **Bas E, Martinez-Soriano F, Lainez JM, Marco J**. An experimental comparative study of dexamethasone, melatonin and tacrolimus in noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol*. **2009** Apr;129(4):385–9.

115. **Bielefeld EC, Kopke RD, Jackson RL, Coleman JKM, Liu J, Henderson D.** Noise protection with N-acetyl-l-cysteine (NAC) using a variety of noise exposures, NAC doses, and routes of administration. *Acta Otolaryngol*. **2007** Sep;127(9):914–9.

116. **Sakat MS, Kilic K, Bercin S**. Pharmacological agents used for treatment and prevention in noise induced hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. **2016** Dec;273(12):4089–101.

117. **Marks GS, Brien JF, Nakatsu K, McLaughlin BE**. Does carbon monoxide have a physiological function? *Trends Pharmacol Sci*. **1991**;12:185-188.

118. **Alshehri A, Bourguignon M-P, Clavreul N, et al**. Mechanisms of the vasorelaxing effects of CORM-3, a water-soluble carbon monoxide-releasing molecule: interactions with eNOS. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. **2013**;386(3):185-196.

119. **Lo Iacono L, Boczkowski J, Zini R, et al.** A carbon monoxide-releasing molecule (CORM-3) uncouples mitochondrial respiration and modulates the production of reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med*. **2011**;50(11):1556-1564.

120. **Pizarro MD, Rodriguez J V, Mamprin ME, et al**. Protective effects of a carbon monoxidereleasing molecule (CORM-3) during hepatic cold preservation. *Cryobiology*. **2009**;58(3):248- 255.

121. **Musameh MD, Green CJ, Mann BE, Fuller BJ, Motterlini R.** Improved Myocardial Function After Cold Storage With Preservation Solution Supplemented With a Carbon Monoxide-Releasing Molecule (CORM-3). J *Hear Lung Transplant*. **2007**;26(11):1192-1198.

122. **Yabluchanskiy A, Sawle P, Homer-Vanniasinkam S, Green CJ, Foresti R, Motterlini R**. CORM-3, a carbon monoxide-releasing molecule, alters the inflammatory response and reduces brain damage in a rat model of hemorrhagic stroke. *Crit Care Med*. **2012**;40(2).

123. **Yamashita D, Jiang HY, Schacht J, Miller JM.** Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res* **2004**;1019: 201–09.

124. **Oishi N, Schacht J.** Emerging treatments for noise-induced hearing loss. *Expert Opin Emerg Drugs.* **2011**;16(2):235–245.

125. **Evin H.** Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Etiyolojisinde Curcuma Longa (Curcumin)'in Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi; **2015**

126. **Motalebi KM, Saberi H, Hannani M.** Prevention of Acoustic Trauma Induced Hearing Loss by N-acetylcysteine Administration in Rabbits. Vol. 1, *Archives of Trauma Research*. **2013**; 145–50.

127. **Kurra S.** Gürültü, Türkiye'nin çevre sorunları. *Türkiye Çevre Vakfı Yayını*, Ankara, **1991;** 447-484.

128. **Çağatay G, Çobanoğlu Z.** T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Çevre Yönetimi Genel Müdürlüğü, Çevresel Gürültü Ölçüm ve Değerlendirme Kılavuzu. Gürültü, *Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi* No:19, Ankara **2011.**

129. **ACOEM Noise and Hearing Conservation Committee**. ACOEM evidence-based statement: noise-induced hearing loss. *J Occup Environ Med*. **2003**;45(6):579-81.

130. **Prieve B, Fitzgerald T.** Otoacoustic Emissions. In: Katz J, Burkhardt R, Medwetzky L, Hood L, eds. *Handbook of Clinical Audiology*. 6th ed. USA: Williams and Wilkins; **2009**; 497-528.

131. **Külekçi S, Kırkım G.** Otoakustik Emisyonlar. In: Çelik O, editor. *Otoloji ve Nörootoloji.* İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; **2013**; 1019–26.)

132. **Attias J, Bresloff I, Reshef I, Horowitz G, Furman V.** Evaluating noise induced hearing loss with distortion product otoacoustic emissions. *Br J Audiol.* **1998**;32(1):39–46

133. **Balatsouras DG, Tsimpiris N, Korres S, Karapantzos I, Papadimitriou N, Danielidis V.** The effect of impulse noise on distortion product otoacoustic emissions. *Int J Audiol.* **2005** ;44(9):540–9.).

134. **Olgun Y, Kirkim G, Kolatan E, Kiray M, Bagriyanik A, Olgun A, et al.** Friend or foe? Effect of oral resveratrol on cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope.* **2014** Mar;124(3):760–6

135. **Arıcı M**. Sıçanlarda Akustik Travmaya Bağlı İşitme Kaybı Modelinde Likopenin Etkisinin Araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi; **2015**

136. **Claussen AD, Fox DJ, Yu XC, Meech RP, Verhulst SJ, Hargrove TL, et al**. Dmethionine pre-loading reduces both noise-induced permanent threshold shift and outer hair cell loss in the chinchilla. *Int J Audiol*. **2013** Dec;52(12):801–7.

137. **Liberman MC**. Noise-Induced Hearing Loss: Permanent Versus Temporary Threshold Shifts and the Effects of Hair Cell Versus Neuronal Degeneration. *Adv Exp Med Biol*. **2016**;875:1–7.

138. **Zheng H-W, Chen J, Sha S-H**. Receptor-interacting protein kinases modulate noise-induced sensory hair cell death. *Cell Death &Amp; Dis*. **2014** May 29;5:e1262.

139. **Fujita K, Hakuba N, Hata R, Morizane I, Yoshida T, Shudou M, et al.** Ginsenoside Rb1 protects against damage to the spiral ganglion cells after cochlear ischemia. *Neurosci Lett*. **2007** Mar;415(2):113–7.

140. **Celebi, S., Gurdal, M.M., Ozkul, M.H. et al**. The effect of intratympanic vitamin C administration on cisplatin-induced ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 270, 1293–1297 **(2013).**

141. **Ozdogan F., Ensari S., Cakır O. et al.** Investigation of the cochlear effects of intratympanic steroids administered following acoustic trauma. *Laryngoscope*, **2012**

EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı

