



T.C. BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ODYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ALFA LİPOİK ASİTİN GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINA KARŞI
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Aytuğ BUYRUK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ankara 2017



**T.C. BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ODYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**ALFA LİPOİK ASİTİN GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINA KARŞI
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Aytuğ BUYRUK

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Selim Sermed ERBEK**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ankara 2017

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Odyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Aytuğ Buyruk tarafından yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13/09/2017

Tez Konusu: “Alfa Lipoik Asitin Gürültüye Bağlı İşitme Kaybına Karşı Koruyucu Etkisinin Araştırılması”

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

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Levent N. Özlüoğlu

Prof. Dr. Selim Sermed Erbek

Doç. Dr. Didem Türkyılmaz

Başkent Üniversitesi

Başkent Üniversitesi

Hacettepe Üniversitesi

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

Prof. Dr. Rengin ERDAL
Enstitü Müdürü



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

Tarih: 13.12.2017

Öğrencinin Adı, Soyadı : Aytug Buyruk

Öğrencinin Numarası :

Anabilim Dalı : Kulak Burun Boğaz Hastalıkları

Programı : Odyoloji

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı : Prof. Dr. Selim Sermed Erbek

Tez Başlığı : Alfa lipoik asitin gürültüye bağlı işitme kaybına karşı koruyucu etkisinin araştırılması

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans/Doktora tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 31... sayfalık kısmına ilişkin, 13.09.2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından TURNİTİN adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 11...'dır.

Uygulanan filtrelemeler:

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

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

Öğrenci İmzası:.....

Onay

13.12.2017

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyad,

Prof. Dr. Selim Sermed Erbek

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca sonsuz bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bu çalışmanın ortaya çıkmasında sınırsız destek ve yardımları olan, bilimsel katkılarını, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Levent Naci Özlüoğlu'na; Her birinden ayrı ayrı çok şey öğrendiğim, bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Ayşe Gül Güven, Prof. Dr. Hatice Seyra Erbek, Prof. Dr. Selim Sermed Erbek ve Prof. Dr. Erol Belgin'e; Bu çalışmanın yürütülmesi aşamasındaki özverili yaklaşımları ve destekleri nedeniyle Başkent Üniversitesi Deney Hayvanı Araştırma Merkezi çalışanlarına; Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm dönem arkadaşlarıma; Anlayış ve desteğinden dolayı değerli eşime; En derin teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Aytuğ Buyruk, Alfa Lipoik Asitin Gürültüye Bağlı İşitme Kaybına Karşı Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji Konuşma ve Ses Bozuklukları Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi, 2017.

Gürültüye bağlı işitme kaybı dünya çapında erişkin popülasyonun işitme kaybının en önemli nedenlerinden biridir. Gürültüye bağlı işitme kaybı orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasara yol açabilmekte, koklear kan akımını bozmakta kokleada reaktif oksijen moleküllerini artırmaktadır. Birçok antioksidan molekülün gürültüye bağlı işitme kaybında koruyucu etkisi tesbit edilmiştir. Alfa lipoik asit diabetik nöropatide kullanılan güvenilir bir antioksidandır ve nöroprotektif etkilidir. Çalışmamız gürültü maruziyeti sonrası oluşan otolojik hasara karşı alfa lipoik asitin koruyucu etkisinin test edildiği in vivo kontrollü deneysel bir hayvan çalışmasıdır. Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmıştır ve Başkent Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmaya 24 rat dahil edilmiş, birinci grup sadece gürültü, ikinci grup sadece alfa lipoik asit, üçüncü grup gürültü ve alfa lipoik asit verilen, dördüncü grup da kontrol grubu olacak şekilde ayarlanmıştır. Tüm ratların bazal ABR ölçümleri yapıldıktan sonra alfa lipoik asit grubu ve alfa lipoik asit ve travma grubuna 24 gün boyunca tek doz salin içinde çözünmüş 300mg/kg lipoik asit hergün aynı saatte gavaj yoluyla verilmiştir, yine kontrol grubuna da 300mg/kg salin gavaj yoluyla uygulanmıştır. Bazal ölçümden 3 gün sonra travma ve travma ile birlikte lipoik asit alan iki gruba 107db SPL şiddetinde beyaz gürültü serbest alanda uygulanmıştır. Gürültü maruziyeti sonrası 1. ve 21.gün tüm grupların ABR ölçümleri yapılmıştır. Travma ve travma+ilaç alan grupta gürültü sonrası eşik değerleri yükselmiştir. ($p<0.05$) Travma grubunda eşik yükseklikleri 21.gün ölçümlerinde devam ederken, travma+ilaç grubunda anlamlı düzelme görülmüştür. ($p<0.05$) Sonuç olarak alfa lipoik asitin gürültüye bağlı ototoksiteye karşı ratlarda tedavi edici etkisi bulunmuştur. Alfa lipoik asit gürültüye bağlı işitme kaybında alternatif bir tedavi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Ototoksite, alfa lipoik asit, rat, gürültüye bağlı işitme kaybı

ABSTRACT

Aytuğ Buyruk, Investigation of Protective Effects of Alfa Lipoic Acid Against Noise Induced Hearing Loss, Başkent University Institute of Health Sciences Department of Otorhinolaryngology Master Program in Audiology Speech and Voice Disorders Master Thesis, 2017.

Noise-induced hearing loss is one of major causes of hearing loss in the adult population. Reactive oxygen levels increases in cochlea after noise and cochlear blood flow is impaired. The protective effects of many antioxidant treatments were determined in noise-induced hearing loss. Alfa lipoic acid which protect the body from diabetic neuropathy has also antioxidant, and neuroprotective effect. This study tested protection of alfa lipoic acid against noise induced ototoxicity as an in vivo controlled experimental animal study. This study was approved by Başkent University Medical and Health Sciences Research Committee and was carried out in animal laboratory of Baskent University. Twenty four rats were included in the study; groups were set as: The first group received alfa lipoic acid, the second group control group, the third group was exposed to noise and received alfa lipoic acid, the fourth group exposed to noise. After baseline ABR measurements of all rats, alfa lipoic acid group (group 1) and alfa lipoic acid + noise group (group 3) received 300 mg/kg alfa lipoic acid (tiopati®) treatment dissolved in saline as single dose in a day by using gavage for 23 days. Noise group (group 4) and alfa lipoic acid + noise group (group 3) were exposed to 107 dB SPL white noise for 15 hours at 3th day. ABR measurements of the rats in all groups were repeated at 1st, 21st days after noise exposure. The rats in 1nd and 3rd groups continued to receive alfa lipoic acid treatment for 23 days until the end of the study. At the first day after noise exposure, ABR thresholds were deteriorated in 3 rd and 4 th groups, deterioration continued at 21st days in the fourth group, deterioration returned to normal at 21 st day in the third group. There were no changes in ABR thresholds with alfa lipoic acid treatment in alfa lipoic acid group. As a result, it was found that alfa lipoic acid has therapeutic effect on noise-induced ototoxicity in rats. Alfa lipoic acid can be used as an alternative treatment of noise induced hearing loss.

Keywords: Noise-induced hearing loss, alfa lipoic acid, ototoxicity, antioxidant, rat

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ses Dalgaları ve Özellikleri.....	3
2.1.2. İşitme	3
2.2. Rat Kulak Anatomisi ve İşitsel Özellikler.....	7
2.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı	8
2.4. Elektrofizyolojik Ölçümler	9
2.4.1. İşitsel beyinsapı odyometrisi (Auditory Brain-stem Response	9
2.5.1. Ratlarda ABR ölçümü	9
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	12
3.1. Deney Hayvanları	12
3.2. Gereçler	15
3.3. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR	18
4.1. İşitsel Beyin Sapı Cevabı Eşik Sonuçları	18
5. TARTIŞMA.....	21
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	26
KAYNAKLAR.....	27

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABR	: Auditory Brainstem Response (İşitsel Beyinsapı Cevabı)
AT	:Akustik Travma
Ca	: Kalsiyum
CN	: Cochlear nucleus
cps	: Cycle per second
dB	: Desibel
DPOAE	:Distortion Product Otoacoustic Emission (Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon)
DTH	:Dış tüy hücresi
EOAE	:Uyarılmış otoakustik emisyonlar
EP	: Endolenfatik Potansiyel
GBIK	:Gürültüye bağlı işitme kayıpları
GED	:Geçici eşik değişikliği
Hz	: Hertz
ITH	: İç tüy hücresi
İC	:İnferior Colliculus
IGF-1	:İnsülin Growth Faktör 1
KED	:Kalıcı eşik değişikliği
KM	:Koklear mikrofonik
LL	:Lateral Lemniscus
Mg	: Magnezyum
OAE	:Otoakustik Emisyon
OT	:Oksitosin
ÖT	:Östaki tüpü
nHL	:Normal Hearing Level
NO	:Nitrik oksit
ALA	:Alfa lipoik asit
PVN	:Paraventriküler nucleus
SD	:Standart Deviasyon

SFOAE	:Stimulus frekans Otoakustik Emisyon
SM	:Sumasyon potansiyeli
SNR	:Sinyal Gürültü Oranı
SOR	:Serbest Oksijen Radikalleri
SOAE	:Spontan otoakustik emisyonlar
SOC	:Superior Olivary Complex
SOD	:Superoksit dismutaz
SOPN	:Supraoptik nucleus
SPL	:Sound Pressure Level
TEOAE	:Transient Evoked Otoakustik Emisyon
TSAP	:Tüm Sinir Aksiyon Potansiyeli

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Koklea kesiti	5
Şekil 2.2: İnsanlar ile laboratuvar hayvanlarının işitme aralıklarının karşılaştırılması (İnce çizgiler 60 dB SPL (Sound Pressure Level)’de duyulabilen frekans aralığını, kalın çizgiler ise 10 dB SPL’de duyulabilen frekans aralığını göstermektedir) (17) (Heffner’in çalışmasından alınmıştır)	8
Şekil 2.3: Ratlarda ABR dalga örneği	10
Şekil 2.4: Ratlarda ABR dalga örneği	11
Şekil 2.5: Ratlarda ABR dalga örneği	11
Şekil 3.1: Elektrofizyolojik ölçümler OtoPhyLab (RT Conception, Ferrand, Fransa) ABR cihazı kullanılarak gerçekleştirildi	15
Şekil 3.2: ABR cevapları, cilt altı “electrode aiguille 3/10 connecteur” L5CM UU (Medical Equipment International, Saint Georges, Fransa) steriliğe elektrotlar kullanılarak elde edildi.....	15
Şekil 3.3: Elektrot yerleşimi; aktif elektrot vertekste, referans elektrotlar her iki mastoid üzerinde ve topraklama elektrotu sırt bölgesinde olacak şekilde cilt altına yerleştirildi.	16
Şekil 3.4: ABR ekran görüntüsü.....	17

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1: Deney Grupları.....	13
Tablo 4.1: ABR eşik ölçümlerinin gruplar arası ve grup içi bazal, gürültü sonrası 1.ve 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması.....	19
Tablo 4.2: ABR II. dalganın latans ölçümlerinin gruplar arası ve grup içi bazal, travma sonrası 1. ve 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırılması.....	20

1. GİRİŞ

Gürültüye bağlı işitme kaybı dünya çapında erişkin popülasyonun işitme kaybının en önemli nedenlerinden biridir. Gürültüye bağlı işitme kaybı orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasara yol açabilmektedir. Gürültü ile kokleadaki Corti organında tüylü hücrelerin stereosilyaları kaybolmaya başlar, gürültüye maruziyet devam ettikçe tüylü hücreler ölür (apoptozis), hasar destek hücrelerinde de devam eder. Çoğunlukla dış saçlı hücrelerin fonksiyonel ünitelerinde biyokimyasal değişimlere ve işitsel sinir liflerinde hücre hasara neden olmaktadır. Gürültü sonrası kokleada reaktif oksijen seviyeleri artmaktadır ve koklear kan akımı bozulmaktadır. Serbest oksijen radikalleri hücrelerin DNA hasarına, lipid ve protein kırılmalarına ve hücre ölümüne neden olmaktadır.

Biyolojik sistemlerde oksidatif süreci kontrol etmek için canlılar çeşitli antioksidan sistemlerle donatılmıştır. Süperoksit dismutaz(SOD), katalaz ve peroksidaz gibi enzimler singlet oksijen ve hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında görevlidirler. Su bazlı çevrede reaktif oksijen molekülleri(ROM) vitamin C, glutatyon, ürik asit gibi küçük moleküllerle etkisiz hale getirilir. Yağ bazlı ortamda vitamin E reaktif oksijen moleküllerini yakalayıp membranları korur. Bazı ilaçlarında antioksidan aktivitesi mevcuttur. Genelde bir ilacın antioksidan özelliğini belirleyen ilacın fiziksel ve kimyasal özelliğidir. İlacın etkili olabilmesi ilacın ve metabolitlerinin oksidatif strese yatkın dokulara ulaşabilmesi ile mümkün olmaktadır. (1)

Günlük dietimizde lipoik asit yer almaktadır. Özellikle metabolik aktivitesi fazla olan dokularda daha fazla miktarda bulunmaktadır. Dietimizdeki lipoik asit multienzim komplekslerinden kaynaklanmaktadır. Proteolitik enzimler lipoik asit ve lizin arasındaki peptid bağları etkili biçimde yıkamazlar bundan dolayı lipoik asit sindirim sonrası lipolizin şeklinde absorbe edilir. Buna ek olarak lipoik asit sistein ve yağ asitlerinden yeni baştan sentezlenerek elde edilebilir. İnsan için günlük diette yer alması gereken miktar 1200mg, ratlarda ise 10mg/kg civarındadır. (2).

Kimyasal ismi 1,2-dithiolane-3-pentanoik asid olan alfa lipoik asid(ALA) tüm prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde bulunur. ALA insanda enerji üretiminde yer alan 2-oxo-asid dehidrogenazın bir parçası olarak görev yapar. 2-oxo-dehidrogenaz multienzim

kompleksinin lizin rezidülerine bağlanır, bir kofaktör olarak rol oynar. ALA açıl grubuna bağlanır ve bu açıl gruplarını enzim kompleksinin bir parçasından diğer parçasına transfer eder. Bu süreçte lipoik asit, lipoamid dehidrogenazla reokside olup sonradan NADH formasyonunda yer alacak dihidrolipoik aside (DHHLA) indirgenir. Sonuçta lipoik asit ve DHHLA redoks çifti olarak görev yapar ve elektronları dehidrogenazın substratından NAD⁺ ye taşır.

Gürültü maruziyeti sonrası hücrelerin hasardan korunması çok önemlidir. Bu nedenle gürültü maruziyeti sonrası koruyucu ve hasarı tedavi edici bir protokolün geliştirilmesi önemlidir.

Bu deneysel çalışmada amacımız gürültü maruziyeti sonrası alfa lipoik asitin işitme sistemine olan etkilerinin elektrofizyolojik olarak gösterilmesidir.

H 0: Alfa lipoik asitin gürültüye karşı koruyucu etkisi yoktur.

H 1: Alfa lipoik asitin gürültüye karşı koruyucu etkisi vardır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ses Dalgaları ve Özellikleri

Bir enerji türü olan ses, atmosferde canlıların işitme organları tarafından algılanabilen periyodik basınç değişiklikleridir ve bir maddedeki moleküllerin titreşmesi sonucu oluşur. Ses dalgalarının yayılması için maddesel bir ortam gereklidir yani ses dalgaları boşlukta yayılamaz. Ses içinde bulunduğu ortamın moleküllerinin ardışık olarak sıkışması ve gevşemesine neden olarak dalgalar halinde yayılır. Ses bir basınç dalgası olarak adlandırılır, çünkü havadaki moleküller birbirine yaklaşarak sıkıştığında, basınç artar (kompresyon); uzaklaşarak gevşediğinde ise basınç azalır (rarefaksiyon).

Sesin iki temel özelliği, frekansı ve şiddetidir. Frekans, bir saniye süresindeki ses dalgalarının yaptığı osikülasyon sayısıdır. Birimi *hertz* (Hz)'dir. İnsanların duyabildikleri frekans aralığı 20 – 20.000 Hz' dir. Birçok diğer memeliler ultrasound (>20.000 Hz) sesleri işitebilmektedirler. [İgökçen] Sesin şiddeti, ses dalgalarının kompresyon fazı sırasında hava moleküllerini ne kadar sıkıştırdığını yansıtır. Yani ses basıncı sesin lokal atmosferik basınçta yaptığı değişimdir. Ses basıncının birimi *pascal* (Pa)' dır. Ses basınç seviyesi (*Sound Pressure Level, SPL*) ise ses basıncının logaritmik bir ölçüsüdür ve birimi dB' dir. Kulak, timpanik membranda bir hidrojen molekülünün çapından daha küçük hava titreşimi oluşturan sesi tespit edebilir.

Ses dalgalarının yayılmasına ortam tarafından gösterilen dirence akustik direnç veya empedans adı verilmektedir. Sesin bir ortamdan diğerine geçişi sırasında (hava, sıvı, katı ortam) bir kısım enerji yansır. Evrimleşme sürecinde kara hayvanları ses enerjisini hava ortamından içi sıvı dolu iç kulak ortamına taşıırken geri yansıyan enerjiyi azaltıp, transfer edilen enerjiyi artırabilmek için ses toplayıcı dış kulak yollarını ve orta kulaktaki mekanik güçlendirici yapıları geliştirmişlerdir. (4)

2.1.2. İşitme

İşitme; dış ortamda meydana gelen ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanması ve beyindeki merkezler tarafından algılanmasına kadar olan süreç olarak tanımlanmaktadır. İşitme sistemi içinde dış, orta ve iç kulak ile santral işitsel yollar ve işitme merkezi yer almaktadır. İşitme birbirini izleyen 4 fazda gerçekleşir. Bunlar;

1) İletim (conduction) fazı: İlk olarak ses dalgaları atmosferden dış ve orta kulak aracılığı ile iç kulağa iletilmelidir. Bu olay sesin kendi enerjisi ile olur. Aurikula ses dalgalarının toplanmasında, dış kulak yolu da bu dalgaların iletilmesinde görevlidir.

Orta kulak, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarının iç kulaktaki sıvı ortama geçmesini sağlar. Ses enerjisinin orta kulak gibi gaz ortamdan iç kulak gibi sıvı ortama geçişi sırasında ortalama 30 dB kadar enerji kaybı olur. Orta kulağın (timpanik membran ve kemikçik zincir) en önemli görevi sesin hava ortamından sıvı ortamına geçişinden ve iç kulak sıvılarının akustik empedansından oluşan enerji kaybını karşılamaktır.

Bu 30 dB'lik kaybı üç şekilde karşılar:

a) Kulak zarının titreşim bakımından sabit iki noktası kemik anulus ve manibrium malleidir. Kulak zarı anulusta titreşmez, ince olan orta kısımda titreşir. Ses enerjisi manubrium mallei'de yoğunlaşır. Bu şekilde ses enerjisi kısmen hareketli manibrium'a iki katına ulaşarak geçer (Catenary lever).

b) Malleus ve incus arasındaki eklemin özelliği kaldıraç şeklinde etki etmesidir. Böylece malleus kolundaki enerji incusa 1.3 kat güçlenerek aktarılır (Ossiküler lever).

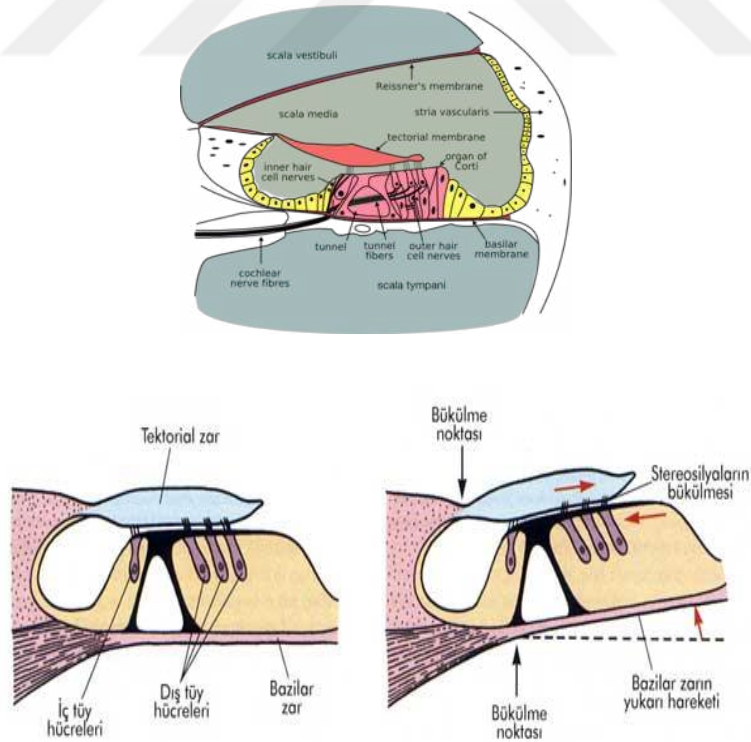
c) Kulak zarının ve stapes tabanının titreşen bölümlerinin genişlikleri arasındaki oran 15/1 ile 20/1 arasında değişir. Ses kulak zarından kendisine göre çok küçük bir yüzeye sahip olan stapes tabanına geçerken bu iki yüzeyin oranı ölçüsünde şiddetlenir. Böylece kulak zarındaki enerji, stapes tabanına yaklaşık 17 kat arttırılmış olarak iletilir (Hidrolik lever) (5).

2. Dönüşüm (transduction) fazı: Frekansların iç kulakta analizi yapılır ve ses enerjisi bir takım biyokimyasal olaylarla elektrik enerjisi haline dönüştürülür (6).

Bekesy'nin yaptığı araştırmalarda ses dalgalarının baziller membranda meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir. Ses dalgaları perilemfe geçerek perilemfe hareketlendirir ve bazal turdan başlayarak apikal tura doğru baziller membranda titreşimler oluşur. Bekesy buna ilerleyen dalga teorisi (travelling wave) adını vermiştir.

Baziller membran, bazal turda daha katı ve dar (0.12 mm), apikal turda daha esnek ve geniştir (0,5 mm). Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da baziller membran amplitüdünün sesin frekansına göre değişiklik göstermesidir. En büyük amplitüdle titreşen bölge yüksek frekanslarda baziller membranın bazal turundadır. Frekans düştükçe baziller membranın en çok titreşen bölgesi kokleanın apeksine yaklaşır (7).

Kokleada yaklaşık 12.500 dış tüy hücresi (DTH) ve 3.500 iç tüy hücresi (İTH) bulunur. Bu hücreler mekanik enerjinin elektrik potansiyele çevrilmesinde rol oynar. En uzun DTH stereosiliyası (kinosilyum), tektorial membranın alt yüzüne bağlı olup, daha kısa silialar ve iç tüy hücre stereosiliyasının tektorial membrana bağlı olmadığı düşünülmektedir. Bazal membrandaki yer değişimi, tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki DTH'lerini bükerek hareketlendirir. Tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki sıvı kayma hareketi İTH'lerini hareketlendirir. Bu durumda İTH'leri hız, DTH'leri yer değiştirme algılayıcısı olarak görev yapar. Her tüy hücresinin titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır. Bu durum baziller membran amplitütleri için de geçerlidir (6,8,9) (Şekil 2.1)



Şekil 2.1: Koklea kesiti

Kokleada 4 tip elektriki potansiyel vardır:

a-Endolenfatik Potansiyel(EP): Koklea uyarılmadığı zaman da var olan elektrik potansiyelidir. Kokleadaki stria vaskularisten kaynaklanır. Bir doğru akım olup 80-100 mV luk çapa sahiptir. EP, transdüksiyon için şarttır. Oluşumunda Na⁺, K⁺ ve ATPaz'ın rolü vardır. Endolenfin meydana gelişindeki patolojiler EP'yi etkiler ve metabolik presbiakuziye neden olur.

b- Koklear mikrofonik (KM): Dış titretek tüylü hücrelere ve bunların ortaya çıkardığı K⁺ iyon akımına bağlı olan KM, koklea içinde veya oval pencere kenarında ölçülen alternatif akımdır. Baziler membran hareketleri ve ses uyarıları ile direk ilişkilidir. Dış titretek tüylü hücrelerin tahribinde kaybolur.

c- Sumasyon potansiyeli (SM): Dış titretek tüylü hücrelerin hücre içi potansiyeli ile ilgili olup ses uyarısına, frekansına ve şiddetine göre değişir.

d- Tüm Sinir Aksiyon Potansiyeli (TSAP): Kafatasına, dış kulak yoluna, yuvarlak pencereye veya sinire yerleştirilen elektrotlarla ölçülen TSAP, Meniere hastalığı tanısı için kullanılmaktadır (10).

Transdüksiyonun meydana gelişinde titretek tüylü hücreler ve stereosilyaların rolü çok önemlidir. İTH 'lerin stereosilyaları tectoriyal membran ile doğrudan ilişki kurmazken DTH'ler sıkı bir ilişki içindedir. Stereosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları bulunur. Bu kanallar baziler membran hareketi ile hareket eden stereosilyalar ile açılır veya kapanır. Endolenfte +80 mV luk EP mevcuttur. Titretek tüylü hücrelerin içinde ise negatif yük bulunur. Bu yük İTH 'lerde -45 mV, DTH'lerde -70 mV'dir. Bu fark hücre içine doğru K⁺ akımı ortaya çıkarır ve elektriki polarizasyon ortaya çıkar. Sonuç olarak baziler membrandaki hareket elektriki akıma dönüşür ve bu potansiyeli kendisi ile ilişkili sinir lifine aktarır. Böylece transdüksiyon oluşmuş olur (11).

3. Nöral şifre (neural coding) fazı: Tüy hücrelerinde meydana gelen elektrikselsel akım, kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde elektrikselsel enerji, frekans ve şiddetine göre korti organında kodlanmış olur. İnsanlarda işitme siniri 30.000 liften oluşur. Bu liflerin %90-95'i tip 1 nöron şeklinde olup, miyelinli, bipolar ve İTH' nde sonlanır. Geri kalan %5-10'u ise miyelinsiz, unipolar ve DTH'nde sonlanan, tip II nöron

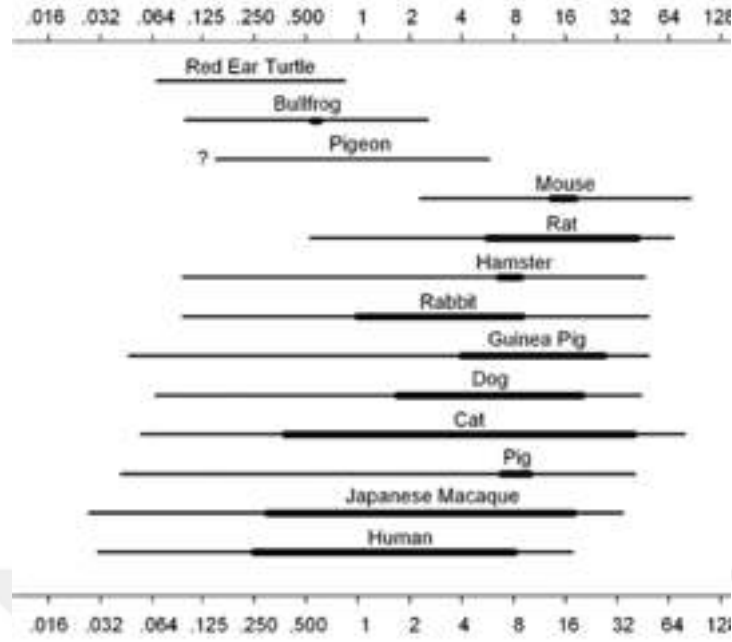
şeklindedir. Her sinir lifinin duyarlı olduğu bir frekans bölgesi mevcuttur (5,12).

4. Algı (cognition) – birleştirme (association) fazı: Gelen bu sinir iletimleri, işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür. Böylece sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale gelmiş olur (13).

2.2. Rat Kulak Anatomisi ve İşitsel Özellikler

Ratlarla insanlar arasında temel olarak işitme sistemi benzerdir. (14). Bundan ötürü rat çalışmaları insan çalışmaları için öncü olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Ratlar gerek uzun yaşamları (özellikle de kronik veya yaşlanma ile ilgili çalışmalarda faydalıdır), gerekse de guinea piglere göre çoklu dozda anestezi ajanlara daha az hassas oluşları ile alternatif bir hayvan modeli olarak karşımıza çıkmaktadır. Ratlarda da insanlardaki gibi koklea 2,5 tur dönüş yapar (14). Timpanik membranları tüm dış kulak yolunu doldurmaz. Ratların timpanik membranında orta kulağa girişi sağlayan incus ve malleus arasında bir açıklık vardır. Bu açıklık bu hayvanlardaki otitis media sebebi olabilir. Guinea piglerle mukayese edildiğinde, ratların orta kulak anatomik yapıları insanlara daha çok benzer. Ancak ratların fasiyal sinir lokalizasyonu insan ve guinea piglere göre daha yüzeysel ve antero-rostral pozisyonundadır (15). Yine ratlarda insanlardan farklı olarak stapes anterior, posterior krus ve footplate arasında aşağı inen stapediale arter mevcuttur (14). Ratlar stapes cerrahisi ve ossikuloplasti için uygun modeller değildir. Çünkü karotis arter koklea tabanı ve stapes cruraları boyunca ilerler (15). Ratların iç kulak yapıları da insana çok benzer olmakla birlikte Hensen hücreleri yoktur. Ratlarda östaki tüpü (ÖT), yaklaşık 4,5 mm.dir. Hemen hemen horizontal yerleşimli bir ÖT vardır ve az miktarda müköz bezler, çok miktarda da goblet hücresi mevcuttur (16).

Ratların işitme duyuları iyi gelişmekle beraber işitme aralığı 70 dB'de 250- 80.000 Hz aralığında değişmektedir. Ancak en duyarlı aralık 8.000- 50.000 Hz'dir. Yüksek frekansta iyi işitmeleri baş ve pinna uzunlukları, bunların birbirlerine göre uzaysal konumları, kafalarının şekli (sferik oluşu) ve pinna hareketliliğinin mevcudiyeti ile açıklanmaktadır. İnsanlar ve laboratuvar hayvanlarının işitme aralıkları şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2: İnsanlar ile laboratuvar hayvanlarının işitme aralıklarının karşılaştırılması (İnce çizgiler 60 dB SPL (Sound Pressure Level)'de duyulabilen frekans aralığını, kalın çizgiler ise 10 dB SPL'de duyulabilen frekans aralığını göstermektedir) (17) (Heffner'in çalışmasından alınmıştır)

2.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

Gürültüye bağlı işitme kaybı dünya çapında erişkin popülasyonun işitme kaybının en önemli nedenlerinden biridir (18). Kısa süreli gürültü maruziyeti sonrası işitmede geçici eşik kaymaları olurken, uzun süreli gürültüde kalıcı eşik kaymaları ve sonuçta irreversible işitme kayıpları olmaktadır. Ani ve yüksek şiddetteki gürültüye maruziyet sonrası oluşan akustik travmada ise geçici veya kalıcı işitme kayıpları oluşabilmektedir. Bu tip travmada; timpanik membranda perforasyonlar, kemikçik zincirde kopmalar, oval ve yuvarlak pencere fistülleri ve korti organında mekanik hasarlar oluşabilmektedir. Gürültüye bağlı işitme kaybı orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasara yol açabilmektedir. Çoğunlukla dış saçlı hücrelerin fonksiyonel ünitelerinde biyokimyasal değişimlere ve işitsel sinir liflerinde hücre hasara neden olmaktadır (19,20). Gürültü sonrası kokleada reaktif oksijen seviyeleri artmaktadır ve koklear kan akımı bozulmaktadır (21). Serbest oksijen radikalleri hücrelerin DNA hasarına, lipid ve protein kırılmalarına ve hücre

ölümüne neden olmaktadır (22). Ayrıca serbest radikaller hücre apoptozisini tetiklemektedir (22).

Gürültüye bağlı işitme kaybı tedavisinde antioksidan moleküller oksidatif stresi azaltarak hücre ölümünü azaltabilirler (23). Ayrıca serbest oksijen radikalleri için supresörler ve anti-inflamatuvar ajanlar da işitme kaybından etkilenmeyi azaltabilmektedir.

2.4. Elektrofizyolojik Ölçümler

Bu bölümde gürültüye bağlı işitme kaybının etkilerinin saptanmasında çalışmamızda kullanılan İşitsel beyinsapı odyometrisi (Auditory Brain-stem Response Audiometry) (ABR) ölçümlerinden bahsedilecektir.

2.4.1. İşitsel beyinsapı odyometrisi (Auditory Brain-stem Response

Audiometry - ABR)

İşitsel yolların alt bölümündeki çok sayıdaki nöronun senkronize cevaplarının kaydedildiği, akustik uyarana verilen elektriksel yanıtlardır. İç kulaktan başlayıp beyin sapı düzeyindeki nöral yolların akustik uyarana karşı gösterdiği elektriksel aktivitenin sonucu oluşurlar.

Normal bir ABR trasesinde, roma rakamları ile numaralandırılan, 10 msn içinde ortaya çıkan yedi verteks pozitif dalga yer alır. ABR trasesinde, I. ve II. dalgalar işitsel sinir kaynaklı senkronize nöral aktiviteyi gösterir. III. dalganın koklear nükleus ve kontralateral superior olivar kompleksden, IV. dalganın superior olivar nükleusdan kaynaklandığı kabul edilmektedir. İnsanlarda ABR dalgaları tanınırken temel alınan dalga olan V. dalganın tepe kısmı lateral lemniskustan inen kısmı ise inferior kollikulustan kaynaklanmaktadır. ABR ölçümlerinde bir dalganın amplitüdü kişiler arasında ve aynı kişinin değişik ölçümleri arasında farklılıklar gösterebilirken, latanslar daha stabildir (24).

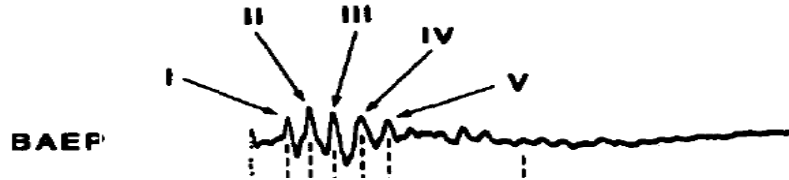
2.5.1. Ratlarda ABR ölçümü

Ratlarda ve kemirgenlerde işitme siniri sadece bir dalganın oluşturulmasını takip edebilecek kadar kısa olduğu için insanlar ile karşılaştırıldığında; insanlardaki I. ve II. dalga hayvanların I. dalgasıyla, III. dalga hayvanın II. dalgasıyla ve IV. dalga hayvanın III.

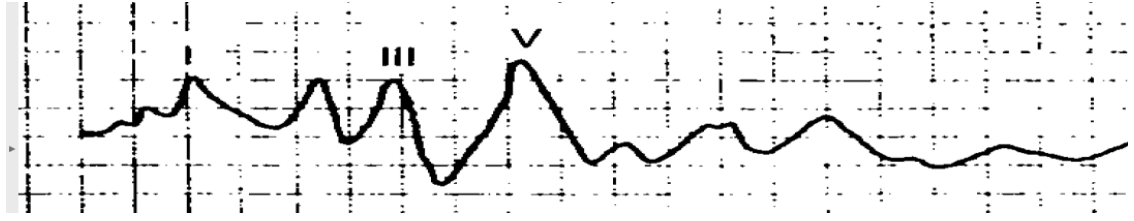
dalgasıyla eşittir(25). İnsanlarda işitme sinirinin uyarılması ile I. ve II. dalga oluşur çünkü işitme sinirinin uzunluğu proksimalinden ve distalinden bölünmüş iki ayrı dalga kaydı alacak kadar uzundur (26). Yapılan bir çalışmaya göre ratlarda II. dalga posterior ventral nükleusdan, III. dalga anterior ventral nükleusdan ve trapezoid cisimden, IV. dalga superior olivar kompleksden ve V. dalga lateral lemniskus ve inferior kollikulusdan kaynaklanmaktadır (27). Henry ve ark.'a göre IV. dalga lateral lemniskus ve inferior kollikulusdan, V. dalga ise medial genikulat cisim ve/veya talamokortikal yollardan kaynaklanmaktadır (28). Başka bir çalışmaya göre lateral lemniskustaki patolojiler IV. ve V. dalgada değişiklikler yapmaktadır (29).

İnsanlarda I., III. ve V. dalgalar belirgindir ve inter-peak latanslar için sıklıkla kullanılırlar. Ayrıca III. ve V. dalga en geniş dalgalar olduğu için işitme eşiklerinin tespiti için kullanılırlar. İnsanların aksine ratlarda II. dalga en geniş, III. dalga ise en küçük dalgadır ve V. dalga ise ABR ölçümlerinde eşik tespitinde kullanılmaz (30).

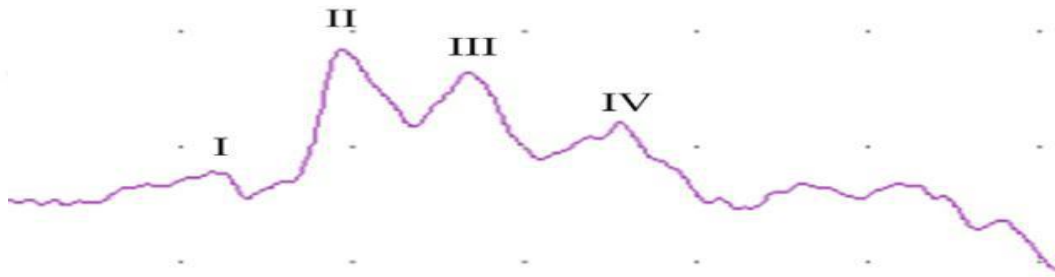
Ratlarda santral işitsel iletim zamanını hesaplamak için genellikle II. dalga (koklear nükleus kaynaklı) kullanılır (31). Ratlarda dalga II, koklear nükleus kompleksinden kaynaklanır ve insanlardaki karşılığı dalga III' dür. Ratlardaki en belirgin dalganın neden II. dalga olduğu bu hipotez ile açıklanmaktadır (29). Diğer dalgaları tanımak için referans dalga olarak II. dalga kullanılır. (Ratlarda ABR örnekleri şekil 2.3-2.5)



Şekil 2.3: Ratlarda ABR dalga örneği (39)



Şekil 2.4: Ratlarda ABR dalga örneği (40)



Şekil 2.5: Ratlarda ABR dalga örneği (41)

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışma, 24/04/2017 tarih ve 17/11 sayılı karar ile DA 17/15 proje onay numarasıyla Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra Ankara Başkent Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada, uluslararası Helsinki Deklarasyonu'nda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyuldu. Çalışmaya başlamadan önce güç analizi planlaması istatistiksel bir yazılım kullanılarak gerçekleştirildi.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya başlamadan önce güç analizi planlaması istatistiksel bir yazılım kullanılarak yapıldı ve çalışma 24 adet sağlıklı, 11 aylık ve ortalama 300-350 gr erkek Sprague Dawley cinsi ratlar üzerinde yapıldı.

Ratlar; 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta, 25 °C sıcaklıkta serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'in altında olduğu bir ortamda barındırıldı.

Tüm ratlara genel anestezi altında otoskopik muayene yapıldı, dış kulak yolundaki debris ve buşonlar temizlendi ve normal timpanik membran görüntüsü sağlandı. Ayrıca herhangi bir orta kulak patolojisi veya timpanik membran patolojisi olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen 24 adet rat, altışar ratdan oluşan dört gruba ayrıldı.

Tablo 3.1 Deney Grupları

GRUP	UYGULANAN İŞLEM	RAT SAYISI
1.GRUP	İLAÇ	6
2.GRUP	KONTROL	6
3.GRUP	AKUSTİK TRAVMA+İLAÇ	6
4.GRUP	AKUSTİK TRAVMA	6

a) İlaç Grubu (1.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak ABR ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21° sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara 1. günden itibaren 300mg/kg'dan alfa lipoik asit gavaj yoluyla günde bir kez her gün aynı saatte her hayvana verildi. Alfa lipoik asit hayvanlara 21 gün boyunca aynı şekilde uygulandı. Ardından ratlar 3.gün 15 saat süreyle 107 dB SPL şiddetinde, hoparlör mesafesi eşit olacak şekilde serbest ortamda white noise ile akustik travmaya maruz bırakıldı. (İnteracoustic AC 40 Odyometri cihazı ile). Aynı zamanda çalışma süresince bu grup ratlara akustik travmadan sonra 1.ve 21. gün ABR ölçümleri yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. Ratlar çalışmanın 23. gününde sakrifiye edildi.

b) Kontrol Grubu (2.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak ABR ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21° sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Çalışma süresi olan 23 gün boyunca bu grup ratlara 1mg/kg'dan serum fizyolojik gavaj yoluyla uygulandı. Çalışmada bu grup ratların travma sonrası 1.gün ve travma sonrası 21.gün genel anestezi altında ABR ölçümleri yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. Ratlar çalışmanın 23. gününde sakrifiye edildi.

c) Travma+İlaç Grubu (3.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak DPOAE ve ABR ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21° sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Bazal ölçümler sonrası her rata 300mg/kg'dan gavaj yoluyla 23 gün boyunca alfa lipoik asit verildi. Ardından ratlar 3.gün 15 saat süreyle 107 dB SPL şiddetinde, hoparlör mesafesi eşit olacak şekilde serbest ortamda white noise ile akustik travmaya maruz bırakıldı. (İnteracoustic AC 40 Odyometri cihazı ile). Aynı zamanda çalışma süresince bu grup ratlara akustik travmadan sonra 1.ve 21. gün ABR ölçümleri yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. Ratlar çalışmanın 23. gününde sakrifiye edildi.

d) Travma Grubu (4.grup):

Bu grup ratlarda ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazin HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal verilerek sağlanan genel anestezi ile otoskopik kulak muayenesi yapıldı ve varsa debris ve buşonları temizlenerek bazal olarak ABR ölçümleri yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21° sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Bu grup ratlar 15 saat süreyle 107 dB SPL şiddetinde, hoparlör mesafesi eşit olacak şekilde serbest ortamda white noise ile akustik travmaya maruz bırakıldı (İnteracoustic AC 40 Odyometri cihazı

ile). Çalışma süresi olan 23 gün boyunca bu grup ratlara ek herhangi bir işlem uygulanmadı. Çalışmada bu grup ratlara genel anestezi altında akustik travmadan sonraki 1.ve 21. gün ABR ölçümleri yapıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. Ratlar çalışmanın 23. gününde sakrifiye edildi.

3.2. Gereçler



Şekil 3.1: Elektrofizyolojik ölçümler *OtoPhyLab* (RT Conception, Ferrand, Fransa) ABR cihazı kullanılarak gerçekleştirildi

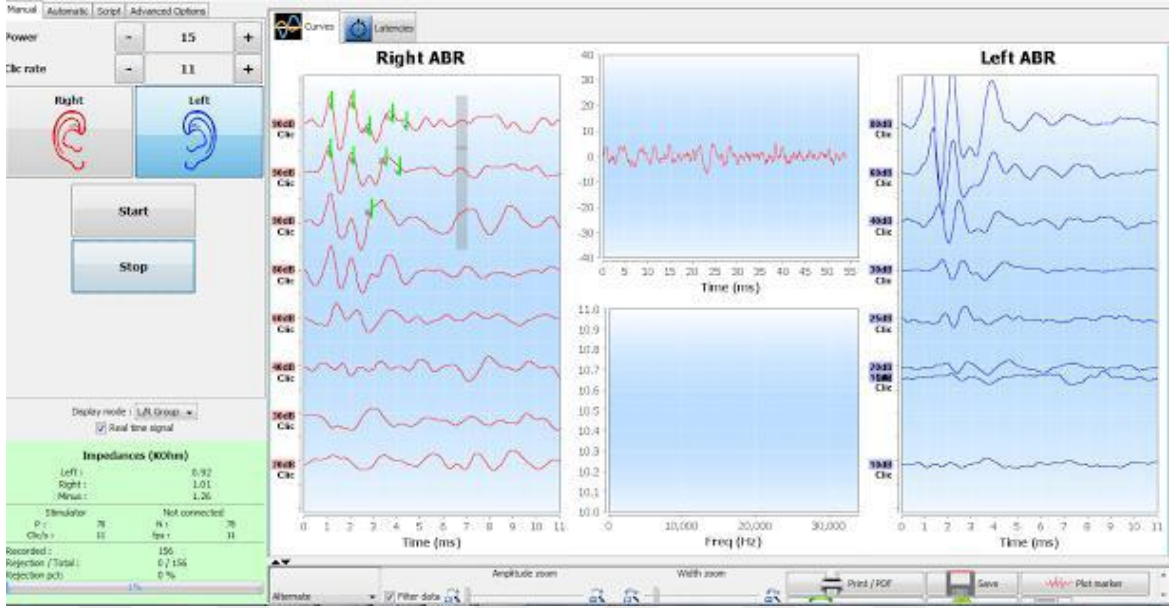


Şekil 3.2: ABR cevapları, cilt altı “*electrode aiguille 3/10 connecteur*” L5CM UU (Medical Equipment International, Saint Georges, Fransa) steril iğne elektrotlar kullanılarak elde edildi.



Şekil 3.3: Elektrot yerleşimi; aktif elektrot vertekste, referans elektrotlar her iki mastoid üzerinde ve topraklama elektrotu sırt bölgesinde olacak şekilde cilt altına yerleştirildi.

İşitsel uyaran olarak klik (100 msn), 8-32 kHz uyaran kullanılmıştır. Çalışmamızdaki set up; alternan polarite ve klik uyaran için 150-1500 Hz band-pass filtre, zaman aralığı 30 msn ve uyaran tekrar oranı 11,1/sn olarak ayarlanmış, ardışık 500 uyaran alındıktan sonra test tamamlanmıştır (şekil 2.9). Ölçüm yapılmadan önce impedans bakılmış ve 0 ile 1,5 kOhm arasında olması sağlanmıştır. Test 90 dB seviyesinde verilmeye başlanmış, 20 dB'lik azalışlarla ve retest yapılarak ölçümler kaydedilmiştir ve II.dalganın ve V. dalganın elde edildiği en düşük ses seviyesi (dB) o kulağın işitme eşik seviyesi olarak kabul edilmiştir. İşitme eşiğinin 30 dB düzeyinde alınması çalışmaya alınma kriteri olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.4: ABR ekran görüntüsü

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda istatistiksel değerlendirmeler 24 rat(48 kulak) 6'şarlı 4 grup şeklinde yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede program olarak IBM SPSS 21. veriyon kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testiyle homojenitesi ise Levene testi ile kontrol edildi. ABR eşik değerlerinin analizinde ise nonparametrik testlerden gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testinden yararlanıldı. Tanımlayıcı istatistikler için nonparametrik testlerde ortalama, standart deviasyon (SD), median, minimum-maksimum değerleri verildi.

4. BULGULAR

Her bir grup için 6 ratın her iki kulağı olmak üzere toplam 12 kulak değerlendirildi. ABR eşik değerleri ve 90dB HL'da II.dalga latans değerleri hesaplandı. Akustik travma uygulama öncesi (bazal ölçümler) ile travma sonrası 1. ve 21. gün ABR eşik değerleri ve II. dalga latans süreleri ölçümlerinin sonuçları karşılaştırıldı.

4.1. İşitsel Beyin Sapı Cevabı Eşik Sonuçları

**Tüm gruplar arasında bazal ölçümlerde ABR eşikleri bakımından istatistiksel fark izlenmedi ($p=0,835$)

** Gruplar arasında akustik travma sonrası 21.günde ölçülen ABR eşiklerinde anlamlı fark saptandı . ($p=0,000$)

**Gürültü sonrası 21.günde ABR eşiklerinde grup 1-3, grup 2-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi.

**Grup 3'de grup içi karşılaştırmada ABR eşiklerinde anlamlı fark saptandı. ($p=0,000$)

Grup 3 grup içi karşılaştırmada bazal ile posttravma1.gün karşılaştırmasında, bazal posttravma21.gün ve posttravma1.gün ile posttravma21.gün karşılaştırmasında anlamlı fark bulunmuştur.

**Grup 4'de grup içi karşılaştırmada ABR eşiklerinde anlamlı fark saptandı. ($p=0,001$)

Grup 4 grup içi karşılaştırmada bazal ile posttravma1.gün karşılaştırmasında, bazal posttravma21.gün karşılaştırmasında anlamlı fark bulunmuştur.

**Grup 2'de (kontrol) yapılan 3 ölçüm arasında ABR eşikleri bakımından istatistiksel fark izlenmedi ($p=0,511$).

ABR Eşikleri Ölçüm Tablosu Tablo 4.1: ABR eşik ölçümlerinin gruplar arası ve grup içi bazal, gürültü sonrası 1.ve 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması

Gruplar	Bazal	Post 1.gün	Post 21.gün	P*	P**
1.grup ilaç grubu n=12 mean+_SD (min-max)	2,294+_0,455 (1,88-3,15)	2,014+_0,089 (1,88-2,19)	2,003+_0,169 (1,50-2,13)	0,510	
2.grup kontrol grubu n=12 mean+_SD (min-max)	2,187+_0,235 (1,84-2,66)	2,040+_0,145 (1,78-2,31)	2,055+_0,141 (1,80-2,25)	0,472	
3.grup ilaç+travma grubu n=12 mean+_SD (min-max)	2,125+_0,142 (1,94-2,50)	1,690+_0,539 (0-2,00)	4,516+_0,722 (3,47-6,16)	0,000	Pre,post1:0,002 Pre,post21:0,002 Post1,post21:0,002
4.grup travma grubu n=12 mean+_SD (min-max)	2,260+_0,385 (1,90-3,05)	1,844+_0,105 (1,66-2,00)	1,963+_0,132 (1,78-2,22)	0,000	Pre,post1:0,002 Pre,post21:0,008 Post1,post21:0,023
P***	0,630	0,026	0,000		
P** **			Grup1,2:0,478 Grup1,3:0,00 Grup2,3:0,000 Grup1,4:0,160 Grup2,4:0,128 Grup3,4:0,000		

p* Grup karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile yapıldı (istatistiksel anlamlılık p<0,05), p** Gruplar arası farklar için Mann-Whitney U testi kullanıldı (anlamlılık seviyesi için Bonferroni düzeltmesi ile p<0,0083 alındı), p*** Grup içi karşılaştırmaları Friedman testi ile yapıldı (istatistiksel anlamlılık p<0,05), p**** Grup içi ölçümlerinin birbirleriyle karşılaştırması için Wilcoxon testi uygulandı (anlamlılık seviyesi için Bonferroni düzeltmesi ile p<0,016 alındı)

Latans Tablosu

Tablo 4.2: ABR II. dalganın latans ölçümlerinin gruplar arası ve grup içi bazal, travma sonrası 1. ve 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırılması

Gruplar	Bazal	Post1.gün	Post21.gün	P**
1.grup ilaç grubu n=12 mean+_SD (min-max)	4,955+_0,571 (3,99-6,04)	4,622+_0,379 (4,12-5,44)	4,947+_0,295 (4,60-5,54)	0,093
2.grup kontrol grubu n=12 mean+_SD (min-max)	4,884+_0,454 (4,29-6,01)	5,071+_0,504 (4,39-6,18)	5,084+_0,505 (4,35-6,21)	0,387
3.grup ilaç+travma grubu n=12 mean+_SD (min-max)	4,961+_0,418 (4,16-5,557)	4,513+_0,716 (3,55-5,88)	4,577+_0,725 (3,52-6,25)	0,151
4.grup travma grubu n=12 mean+_SD (min-max)	4,850+_0,418 (3,72-5,27)	4,554+_0,428 (3,79-5,24)	4,678+_0,344 (3,96-5,17)	0,268
P*	0,921	0,054	0,059	

p*One Way Anova p**tekrarlayan ölçüm analizleri

5. TARTIŞMA

Gürültüye bağlı işitme kaybı erişkin popülasyonda işitme kaybının en önemli sebepleri arasındadır. Gürültüye maruziyet sonrası orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasar oluşabilmekte, koklear kan akımı bozulmakta bununla birlikte kokleada reaktif oksijen molekül konsantrasyonu artmaktadır. Bu sebepten dolayı birçok antioksidan molekülün gürültüye bağlı işitme kaybından koruyucu etkisi araştırılmıştır. Alfa lipoik asit de bilinen etkili antioksidanlar arasındadır fakat literatürde alfa lipoik asitin gürültüye bağlı işitme kaybındaki etkisini araştıran yeterli çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız kontrollü deneysel hayvan çalışmamızda gavaj yoluyla alfa lipoik asit verdiğimiz rat grubunda akustik travma sonrası ABR ölçümlerimizde işitme eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde işitme eşiklerinde düzelme görülmüştür. ($p<0.05$)

Gürültünün koklea ve işitme yolları üzerinde oluşturduğu etkiler metabolik ve mekanik hasar olmak üzere iki şekilde incelenir. Mekanik hasar, ani başlayan ve kısa süreli şiddetli bir gürültünün koklear yapılar üzerindeki etkisi ile oluşur. Mekanik hasar genellikle akustik travma sonucu oluşur ve korti organında tüylü hücrelerin, sinir liflerinin ve sinir uçlarının kabarmasına ve dejenerasyonuna, korti organının yırtılıp skala media içerisinde hareket etmesine (bohne,1978), baziler ve Reissner membran yırtıklarına (Spendilin,1978) retiküler lamina yırtılmalarına (Bohne veRabbit,1983) yol açar (32).

Metabolik hasar ise daha çok yavaş ve sinsi bir şekilde kronik gürültüye bağlı olarak oluşmaktadır. Hasarın etkileri yavaş yavaş ve uzun sürede görülür.(Henderson ve Hamernik,1986) (32).

Genel olarak yüksek şiddette gürültünün tüylü hücreler üzerindeki etkileri şöyledir: a) iç tüy hücre hasarından önce dış tüy hücre hasarı olur. Dış tüy hücre hasarı ve kaybı iç tüylü hücrelere göre daha fazladır (32). Gürültüye bağlı işitme kaybında hücre ölümünün altında yatan biyokimyasal mekanizam ile ilgili farklı görüşler vardır. Bu görüşler a) kalsiyum iyon dengesinin b) potasyum-sodyum dengesinin c) glutamat salgısının bozulmasıyla açıklanmaktadır. (32)

Gürültüye bağlı işitme kaybı çoğunlukla dış tüylü hücrelerin fonksiyonel ünitelerinde biyokimyasal değişimlere ve işitsel sinir liflerinde hücre hasara neden

olmaktadır. (19,20) Bu yapısal ve metabolik hasarda primer rolü hücresel düzeyde reaktif oksijen radikallerinin artması ve koklear kan akımının bozulması oynar. (21)

Serbest oksijen radikalleri hücrelerin DNA hasarına, lipid ve protein kırılmalarına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. (22) Yapılan bir çalışmada hayvanlar gürültüye maruz bırakıldıktan sonra serbest oksijen radikallerinin kontrol grubuna göre 30 kat arttığı tespit edilmiştir (33). Reaktif oksijen radikalleri (ROS) GBİK' nda primer rol oynar ve bunların hücresel konsantrasyonu DTH 'lerinde apoptotik sinyali başlatır. Ohlemiller ve arkadaşları sürekli gürültüye maruziyetten sonra fare kokleasında hidroksi radikal seviyesinin on kat arttığını göstermişlerdir. (34) ROS, DTH 'lerine hücresel DNA'sının yapısını değiştirerek, lipid peroksidasyonu aracılığıyla hücre membranına hasar vererek ve koklear kan akımını azaltarak zarar verir. (35,36) Sonuç olarak kokleada ROS 'lerinin kronik aşırı birikmesi ve eşlik eden inflamasyon akustik travmada esas rol oynar. Bundan ötürü ROS azaltıcı antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçlar akustik travmaya bağlı işitme kayıplarında kurtarma veya profilakside kullanılabilecek potansiyel ilaçlardır. (37) Bu nedenle akustik travmadan iç kulağın korunmasında antioksidanların rolü son yıllarda birçok çalışmada yer almıştır. Lipoik asit insanlarda enerji üretiminde yer alan 2-oxo-asid dehidrogenaz multienzim kompleksinin bir parçasıdır. Lipoik asitin in vivo ve in vitro şartlarda gösterilmiş 4 farklı antioksidan özelliği vardır.

- 1) Metallerle şelat oluşturma kapasitesi
- 2) Oksijen radikalleri yakalama özelliği
- 3) Endojen antioksidanları yenileme kapasitesi
- 4) Tamir sisteminde rol oynama

Bu çalışma alfa lipoik asitin antioksidan, serbest oksijen radikallerini azaltıcı etkisinin gürültüye bağlı işitme kaybında da koruyucu ve tedavi edici olabileceği görüşü üzerine yapılmıştır. Kemirgenler ile insanların işitme sistemleri aralarında yapısal ve fonksiyonel olarak ufak farklar olmasına rağmen benzerdir. (38) Ayrıca kemirgenlerin işitme sistemleri diğer hayvanlara göre çok iyi bilinmektedir. (39) Bu nedenlerle kemirgen modelleri insan çalışmaları için sıkça kullanılmaktadır. Kemirgenler arasında ratlar maliyetlerinin az oluşu, orta kulak enfeksiyonlarına dirençli oluşu, uzun ömürlü oluşu,

anestezik ajanlara hassasiyetlerinin guinea piglerden daha az oluşu ve yaşam koşullarına kolay adaptasyon yetenekleri nedeniyle işitme ile ilgili çalışmalarda sıkça tercih edilmektedirler. (40) Bu nedenlerden ötürü çalışmamızda Sprague - Dawley ratları tercih edilmiştir.

Akustik travma modellerinde kullanılan gürültünün cinsi, frekansı, şiddeti, süresi ve yöntemi arasında literatürde çok farklı örnekler vardır. Standart bir travma modelinin olmaması çalışmalar arasındaki sonuçların karşılaştırılabilmesini güçleştirmektedir. Loukzadeh ve arkadaşları askorbik asidin GBİK 'larında etkinliğini tespit etmek amacıyla ratlara 105 dB SPL 3 kHz oktav bant gürültüyü 2 saatlik sürede vermişlerdir ve gürültü öncesinde verilen askorbik asidin koklear koruma özelliğinin doz bağımlı olduğunu göstermişlerdir. (41) Aksoy ve arkadaşları ratlarda akustik travma modelinde timokinon etkinliğini araştırmışlar ve 105 dB SPL beyaz gürültüyü 4 saat kullanmışlardır. Enerjisinin çoğu tek oktav bandda olan dar band gürültülerde ve saf seslerde daha çok lokalize hasarların meydana geldiğini, tüm frekanslarda eşit miktarda ses şiddeti içeren geniş band gürültülerle (beyaz gürültü) tüm koklea boyunca homojen bir hasar meydana geldiğini belirtmişlerdir. (42) Yang ve arkadaşları ise yoğun çevresel gürültüde koklear damarlardaki değişiklikleri analiz etmek istemişler ve gürültü modeli olarak 120 dB SPL beyaz gürültüyü 4 saat süreyle kullanmışlardır. 120 dB SPL beyaz gürültünün akustik travmaya neden olduğunu, çünkü beyaz gürültünün normal dış çevredeki gürültü ile çok benzediğini ileri sürmüşlerdir. (43) Beyaz gürültünün; 1-12 kHz bandında 110 dB 6 saat (44), 6 kHz 115 dB de 1 m³ alanda 2 saat (45), oktav bant gürültünün; 4 kHz 126 dB 5 saat (46), 8 kHz 105 dB 4 saat (47), 10-20 kHz 104 dB 35 gün (48) ya da iki gün 12 saat arayla 2 kez 6 saatlik 4 kHz 105 dB (49), 125-20.000 Hz 110 dB 2 saat (50), saf sesin; 10 kHz 120 dB 60 dakika (51) verildiği gibi literatürde çok değişik gürültü tipinde, frekans aralığında, şiddetinde ve süresinde çalışma bulunmaktadır. Ayrıca gürültünün verilmiş şekilleri de oldukça değişiklik göstermektedir: odyoloji kabinlerinde, hayvanlara özel küçük kabinlerde, amplifikatörlerin kafes ağızlarına yerleştirilmesiyle ya da hayvanlara anestezi verilerek insert kulaklıklar aracılığıyla. Odyolojik kabinlerde verilen gürültü süresinin kulaklıklar aracılığıyla verilen gürültü süresine göre uzun olması gerekmektedir. Çalışmamızda serbest alanda akustik travma uygulandığı için kulaklar arasında fark gözlemlendi. Ratlar, 60 dB gürültü izolasyonu sağlanan kabinde 4 kHz 107 dB SPL şiddetinde, hoparlör mesafesi eşit olacak şekilde serbest ortamda 12 saat boyunca Başkent

Üniversitesi Ankara Hastanesi Kulak Burun Boğaz polikliniğinde gürültüye maruz bırakıldı.

Gürültü maruziyeti öncesi tüm grupların ABR eşiklerinin değerlendirildiği bazal ölçümlerde gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu, tüm grupların işitme eşikleri benzerdi. Bu sonuç yaşları aynı olan ratların benzer ortamlarda bulunan, gürültüye ve ototoksisiteye maruz kalmamış, işitmesi normal sağlıklı ratlar olduğunu göstermektedir.

Gürültü maruziyetinin olduğu gürültü ve gürültü+alfa lipoik asit gruplarının gürültü sonrası 1. günde işitme eşikleri bazal ölçümlere göre istatistiksel anlamlı yükselmiş, bu durum gürültü modelimizin başarılı olduğunu düşündürmektedir, gürültü grubunun bazal ölçümü ile travma sonrası 1.gün ve 21.günlerle arasında anlamlı fark varken travma sonrası 1.gün ile 21.gün ölçümü arasında anlamlı fark yoktur, bu bize travma sonrası yükselen işitme eşiklerinin zamanla çok fazla düşmediğini göstermektedir. Travma ve ilaç grubunda ise bazal ölçümle travma sonrası 1. gün ve 21.gün ölçümü arasında anlamlı fark bulundu, yine travma sonrası 1.gün eşikleri ile travma sonrası 21.gün eşikleri arasında da anlamlı bir farklılık çıkmıştır, bu bize alfa lipoik asitin özellikle akustik travma sonrası uzun dönemde işitme eşiklerinde bir düzelme sağladığını kısa vadede ise işitme eşiklerini korumada çok etkili olmadığını düşündürmektedir. Bu sonucumuz insanlar üzerinde yapılan bir gönüllü çalışmasıyla uymamaktadır, bunun sebebi çalışmanın insanlarda yapılmasından dolayı 90db 10 dakika verilen gürültünün işitme yolunda daha reversibl ve az hasar vermiş olması olabilir (52).

Deneysel bir gönüllü çalışması sonucunda günde 600 mg alfa lipoik asidin kokleayı akustik travmadan koruduğu gösterilmiştir.(52) Akustik aşırı uyarılma iskemik reperfüzyonun, glutamat eksitotoksitesinin ve mitokondriyal serbest radikallerin yapım artışının sebep olduğu oksidatif stress artışı ile ilişkilidir. (53,54) Alfa lipoik asit mitokondriyal enzimler için esansiyel bir kofaktördür ve kokleayı koklear glutatyon (GSH) sentezinde substrat olarak, serbest radikalleri yakalayarak, apoptoz yolağını inhibe ederek korur. (55) Alfa lipoik asitin hücre kültürlerinde ve in vivo intraselüler glutatyon seviyesini %30-70 arasında arttırdığı gösterilmiştir. (61) Hayvan modelinde alfa lipoik asit yaşlılıkla indüklenen ve sisplatinle indüklenen işitme kaybından koruyucu özelliği olduğu gösterilmiştir. (56,57) Seidman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 24 aylık ratlara 6 hafta plasebo, asetil-L-karnitin veya alfa lipoik asit verilmiş ve ALA verilen ratlarda işitme

kaybı ilerlemesinin sadece 3khz'de geciktiği gösterilmiştir. Otoriteler ALA ve asetil-L-karnitin gibi mitokondriyal metabolitlerin yaş ilişkili işitsel sensitivite ve koklear fonksiyonları mitokondriyal DNA hasarından koruyarak ve tamirini yaparak sağlamaktadır (56). Rybak ve arkadaşları ALA'nin Wistar ratlarda sisplatinle indüklenen ROS aracılı ototoksisiteden koruyucu etkisini incelemiştir. Ratlara sisplatin ve ALA verilmiş ve işitme eşiklerinde anlamlı yükselme olmamış. ALA glutatyon tükenmesini superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon reduktaz aktivitesini olabildiğince azaltarak engellemiştir. (57) ALA'nin koruyucu etkisi onun ROS yakalayıcı ve kokleadaki platin şelasyonu ile ilgilidir. Enteresan olarak sisplatin toksisitesinden koruyacak ALA dozu diğer şelatlardan 3 ila 13 kez daha düşüktür. ALA mideden hızla absorbe olmaktadır ve kan beyin bariyerini geçer. (58) Oral alımdan 60 dakika sonra pik plazma konsantrasyonuna erişir. (58) İnsanlar üzerinde yapılan çalışmada akustik aşırı uyarıdan 60 dakika önce tek doz verilen ALA'nin herhangi bir koruyucu etkisinin olmadığı, 10 gün verilen ALA tedavisinde ise 6khz'de TEOAE'da anlamlı koruma sağlandığı belirtilmektedir. Çalışmada ALA'nin ana etkisinin GSH sentezini artırarak ve serbest radikalleri yakalayıp ortadan kaldırarak koruyucu etkisini sağladığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda gruplar arasında ve grup içlerinde üç ölçüm arasında (pre-, gürültü sonrası 1.ve 21. günler) ABR' nin V. dalga latanslarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Bu sonuç Mannström ve arkadaşlarının ratlarda değişen şiddet seviyelerinde (101 dB, 104 dB, 107 dB ve 110 dB), tekrarlayan gürültüler ile kalıcı ve geçici işitme kaybı oluşturdıkları çalışmaya benzerdir. (59) Bu çalışmada ABR latanslarında kontrol grubuna göre hiçbir grupta anlamlı fark saptanmamıştır.

Ancak bu bulguların aksine Alvarado ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; gürültü maruziyeti sonrası ratlarda yedi farklı frekans (0,5, 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz) içinden sadece 8 kHz' de dalga II. latansında uzama saptanmıştır. (60)

Sonuç olarak günümüzde gürültünün iç kulakta yaptığı hasarın azaltılması veya tedavi edilmesi amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışma, ratlarda akustik travmada gavaj yoluyla verilen alfa lipoik asitin etkinliğini araştıran ve akustik travmanın yarattığı hasarı onardığını gösteren ilk çalışmadır. İnsanlardaki etkinliğinin gösterilebilmesi için randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. 15 saat süreyle 107 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü ratlarda akustik travma yaratmış ve ABR eşiklerinde yükselmeye neden olmuştur.
2. Akustik travma grubunda travma sonrası 1. Ve 21. Gün ABR eşiklerinde yükselme gözlenirken, akustik travma ile birlikte alfa lipoik asit verilen grupta travma sonrası 1. gün ABR eşikleri yükselmiş, travma sonrası 21. günde düzelme gözlenmiştir.
3. Sadece alfa lipoik asit verilen grupta 3 ölçümde de ABR eşiklerinde fark oluşmamıştır.
4. Gavaj yoluyla alfa lipoik asit uygulaması akustik travmaya bağlı iç kulak hasarına karşı tedavi edici sonuçlar vermiştir.
5. Alfa lipoik asitin insanlarda akustik travmaya bağlı iç kulak hasarına karşı tedavi ediciliğinin belirlenmesi için randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1) Gerreke ph. Biewenga, Guido R.M.M Haenen, Aalt Bast The Pharmacology of the Antioxidant Lipoic Acid Gen. Pharmac. vol. 29 No:3 pp 315-331,1997
- 2) Stroman F.Herold H. Erdmann R. Ulrich H., and Szelenyi I. Zur Protektiven Wirkung der Thioctsaure Neue biochemische pp. 279-288,1989
- 3) Plack C.J. Sense of hearing. Lawrence. First edition. Manwah, Erlbaum Associates Inc. 15-52, 2005.
- 4) Fleischer G.Evolutionary principles of the mammalian middle ear. Adv Anat Embryol Cell Biol 5: 3-70, 1978
- 5) Akyıldız N.İşitme Fizyolojisi, Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi (Akyıldız N,ed).Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 78-103,1998.
- 6) Brenda L. Lansbury M., Martin GK., Luebke AE. İşitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. Otolaringoloji Bas Boyun cerrahisi.(Ballenger JJ, Snow JB, editors. (Senocak D, çev.ed.).15. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 879-929.
- 7) Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. Otolaryngology Head & Neck Surgery(Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE eds). 3rd ed. St Louis, Mosby-year Book.2533-46,1998.
- 8) Bluestone CD. Physiology of the Middle Ear and Eustachian Tube. Otolaryngology.(Paparella MM, Shamrock A, Gluckman JL, Meyerhpff WL, editors.).3 rd ed.Philadelphia, WB Saunders Company,163-97,1991
- 9) Brownell WE, Bader CR, Bertrand D, Ribaupierre YD. Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. Science227:194-96,1985.
- 10) Moller AR. Hearing: its physiology and pathophysiology, ch.3,4. Academy Press, California, 2000.
- 11) Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL. Dynamic Properties of the fluids. Otolaryngology. 3rd ed. WB. Philadelphia, Saunders Company, vol 1, 206-217,1991.
- 12) Abbas PJ., Miller CA. Physiology of the auditory system. Otolaryngology Head & Neck Surgery.(Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors).3 rd ed. St. Louis, Mosby-Year Book.2831-74,1998.
- 13) Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 12th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 633-9,2011.
- 14) Li P, Gao K, Ding D, Salvi R. Characteristic anatomical structures of rat temporal bone. Journal of Otology : 118-124,2015.

- 15) Albuquerque AA1, Rossato M, Oliveira JA, Hyppolito MA. Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research. *Braz J Otorhinolaryngol*. Jan-Feb;75: 43-9,2009.
- 16) Daniel HJ 3rd, Fulghum RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol*.91: 82-9,1982.
- 17) Heffner HE, Heffner RS. Hearing ranges of laboratory animals. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS* 46: 20-22,2007.
- 18) Nelson DI, Nelson RY, Concha-Barrientos M, et al. The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *Am J Ind Med* 6:
- 19) Dinh CT, Goncalves S, Bas E, et al., Molecular regulation of auditory hair cell death and approaches to protect sensory receptor cells and/or stimulate repair following acoustic trauma. *Front Cell Neurosci* 9: 96, 2015.
- 20) Turcot A, Girard SA, Courteau M, et al., Noise-induced hearing loss and combined noise and vibration exposure. *Occup Med (Lond)* 3: 238-44, 2015.
- 21) Bielefeld EC. Reduction in impulse noise-induced permanent threshold shift with intracochlear application of an NADPH oxidase inhibitor. *J Am Acad Audiol* 6: 461-73, 2013.
- 22) Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, et al., The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 1: 1-19, 2006.
- 23) Le Prell CG, Yamashita D, Minami SB, et al., Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. *Hear Res* 1: 22-43, 2007.
- 24) Gorga MP, Kaminski JR, Beauchaine KA, et al. Auditory brainstem responses to tone bursts in normally hearing subjects. *J Speech Hear Res* 1: 87-97, 1988.
- 25) Zaaroor M. and Starr A. Auditory brain-stem evoked potentials in cat after kainic acid induced neuronal lossI. Superior olivary complex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 5: 422-35, 1991.
- 26) Hashimoto I, Ishiyama Y, Yoshimoto T, et al., Brain-stem auditory-evoked potentials recorded directly from human brain-stem and thalamus. *Brain* 4: 841-59, 1981.
- 27) Alvarado JC, Fuentes-Santamaria V, Jareno-Flores T, et al., Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in Wistar rats. *Neurosci Res* 4: 302-11, 2012.
- 28) Henry KR. Differential changes of auditory nerve and brain stem short latency evoked potentials in the laboratory mouse. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 4: 452-9, 1979.

- 29) Chen TJ. and Chen SS. Generator study of brainstem auditory evoked potentials by a radiofrequency lesion method in rats. *Exp Brain Res* 3: 537- 42, 1991.
- 30) Overbeck GW. and Church MW. Effects of tone burst frequency and intensity on the auditory brainstem response (ABR) from albino and pigmented rats. *Hear Res* 2: 129-37, 1992.
- 31) Shaw NA. The temporal relationship between the brainstem and primary cortical auditory evoked potentials. *Prog Neurobiol* 2: 95-103, 1995.
- 32) E.Belgin A.Sanem Şahlı Temel Odyoloji Ankara Güneş Tıp Kitabevi s:388-399
- 33) Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, et al., Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res* 1-2: 28-34, 2000.
- 34) Ohlemiller KK, McFadden SL, Ding DL, Flood DG, Reaume AG, Hoffman EK, Scott RW, Wright JS, Putcha GV, Salvi RJ. Targeted deletion of the cytosolic Cu/Zn-superoxide dismutase gene (Sod1) increases susceptibility to noise-induced hearing loss. *Audiol. Neurotol* 4: 237-246,1999
- 35) Van Campen LE, Murphy WJ, Franks JR, Mathias PI, Toraason MA. Oxidative DNA damage is associated with intense noise exposure in the rat. *Hear Res* 164:29–38,2002.
- 36) MillerJM, Brown JN, SchachtJ.8-iso-prostaglandinF(2alpha), a product of noise exposure, reduces inner ear blood flow. *Audiol Neurotol* 8: 207–21,2003.
- 37) Mukherjea D, Ghosh S, Bhatta P, Steth S, Tupal S, Borse V, Brozoski T, Sheehan KE, Rybak LP, Ramkumar V. Early investigational drugs for hearing loss. *Expert Opin. Invest. Drugs* 24: 201-17,2015.
- 38) Fay RR. Comparative psychoacoustics. *Hear Res* 3: 295-305, 1998.
- 39) Willott JF. Factors affecting hearing in mice, rats, and other laboratory animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 1: 23-7, 2007.
- 40) Martini, A, Hatzopoulos S, Rubini R, et al., An animal model based on the Sprague Dawley rat for the evaluation of ototoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 884:85-98, 1999.
- 41) Loukzadeh Z, Hakimi A, Esmailidehaj M, Mehrparvar AH. Effect of Ascorbic Acid on Noise Induced Hearing Loss in Rats. *Iran J Otorhinolaryngol*27:267-72,2015
- 42) Aksoy F, Dogan R, Yenigun A, Veyseller B, Ozturan O, Ozturk B.Thymoquinone treatment for inner-ear acoustic trauma in rats. *J Laryngol Otol*.129 : 38-45,2015
- 43) Yang D, Zhou H, Zhang J, Liu L.Increased endothelial progenitor cell circulation and VEGF production in a rat model of noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol*135:622-8,2015

- 44) Kaymakci M, Acar M, Burukoglu D, et al., The Potential Protective Effects of 2-aminoethyl Diphenylborinate against Inner Ear Acoustic Trauma: Experimental Study Using Transmission and Scanning Electron Microscopy. *J Int Adv Otol* 1: 1-5, 2015.
- 45) Cascella V, Giordano P, Hatzopoulos S, et al., A new oral otoprotective agent. Part 1: Electrophysiology data from protection against noise-induced hearing loss. *Med Sci Monit* 1: BR1-8, 2012.
- 46) Kurioka T, Matsunobu T, Niwa K, et al., Activated protein C rescues the cochlea from noise-induced hearing loss. *Brain Res* **1583**: 201-10, 2014.
- 47) Kurioka T, Matsunobu T, Niwa K, et al., Activated protein C rescues the cochlea from noise-induced hearing loss. *Brain Res* **1583**: 201-10, 2014.
- 48) Chen GD, Sheppard A, and Salvi R, Noise trauma induced plastic changes in brain regions outside the classical auditory pathway. *Neuroscience* 315: 228- 45, 2016.
- 49) Campbell KC, Meech RP, Klemens JJ, et al., Prevention of noise- and drug induced hearing loss with D-methionine. *Hear Res* 1-2: 92-103, 2007.
- 50) Jahani L, Mehrparvar AH, Esmailidehaj M, et al., The Effect of Atorvastatin on Preventing Noise-Induced Hearing Loss: An Experimental Study. *Int J Occup Environ Med* 1: 15-21, 2016.
- 51) Fetoni AR, Troiani D, Eramo SL, et al., Efficacy of different routes of administration for Coenzyme Q10 formulation in noise-induced hearing loss: systemic versus transtympanic modality. *Acta Otolaryngol* 4: 391-9, 2012.
- 52) The effect of alpha-lipoic acid on temporary threshold shift in humans: a preliminary study N. Quaranta, A. Dicorato, V. Matera, A. D'Elia, A. Quaranta Otolaryngology Unit, Department of Neuroscience and Sensory Organs, University of Bari "A. Moro", Italy
- 53) Lamm K, Arnold W. *The effect of blood flow promoting drugs on cochlear blood flow, perilymphatic pO₂ on auditory function in the normal and noise-damaged hypoxic and ischemic guinea pig inner ear.* *Hear Res* 2000;141;199-219.
- 54) Yamane H, Nakai Y, Takayama M, et al. *The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow.* *Acta Otolaryngol Suppl* 1995;519: 87-92.
- 55) Packer L, Trischler HJ, Wessel K. *Neuroprotection by the metabolic antioxidant α -lipoic acid.* *Free Rad Biol Med* 1997;22: 359-78.
- 56) Seidman MD, Khan MJ, Shirwany N, et al. *Biologic activity of mitochondrial metabolites on aging and age-related hearing loss.* *Am J Otol* 2000;21: 161-7.
- 57) Rybak LP, Husain K, Whitworth C, et al. *Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system.* *Pharmacol Toxicol* 2000;86: 234-41.

58) Bilska A, Wlodek L. *Lipoic acid-the drug of the future?* Pharmacol Rep 2005;57: 570-7.

59) Mannstrom P, Kirkegaard M, and Ulfendahl M. Repeated Moderate Noise Exposure in the Rat--an Early Adulthood Noise Exposure Model. J Assoc Res Otolaryngol 6: 763-72, 2015.

60) Alvarado JC, Fuentes-Santamaria V, Gabaldon-Ull MC, et al., Noise-Induced "Toughening" Effect in Wistar Rats: Enhanced Auditory Brainstem Responses Are Related to Calretinin and Nitric Oxide Synthase Upregulation. Front Neuroanat 10: 19, 2016.

61) Busse E, Zimmer G, Schopohl B, et al. *Influence of alphas-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo.* Arznei Forschung 1992;42: 829-31.

