

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ODYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**GÜRÜLTÜYE MARUZ BIRAKILAN SIÇANLARDA ASTAKSANTİN
KULLANIMININ ETKİLERİNİN ODYOLOJİK VE
HİSTOPATOLOJİK OLARAK GÖSTERİLMESİ**

HAZIRLAYAN

SEHER YILMAZ

DOKTORA TEZİ

ANKARA – 2024

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ODYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**GÜRÜLTÜYE MARUZ BIRAKILAN SIÇANLARDA ASTAKSANTİN
KULLANIMININ ETKİLERİNİN ODYOLOJİK VE
HİSTOPATOLOJİK OLARAK GÖSTERİLMESİ**

HAZIRLAYAN

SEHER YILMAZ

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. IŞILAY ÖZ

İKİNCİ DANIŞMAN

PROF. DR. M. BÜLENT ŞERBETÇİOĞLU

ANKARA – 2024

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Odyoloji Doktora Programı çerçevesinde Seher YILMAZ tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 2/10/2024

Tez Adı: Gürültüye Maruz Bırakılan Sıçanlarda Astaksantin Kullanımının Etkilerinin Odyolojik Ve Histopatolojik Olarak Gösterilmesi

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

İmza

Prof. Dr. Levent N. ÖZLÜOĞLU

.....

Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ

.....

Doç Dr. Alper KÖYCÜ

.....

Doç. Dr. Sabuhi JAFAROV

.....

Doç. Dr. Alev CUMBUL

.....

ONAY

Enstitü Müdürü

Tarih: ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 23 / 09 /2024

Öğrencinin Adı, Soyadı: Seher YILMAZ

Öğrencinin Numarası:21810140

Anabilim Dalı: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları

Programı: Odyoloji Doktora

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı:Doç. Dr. Işlay ÖZ

Prof. Dr. M. Bülent ŞERBETÇİOĞLU

Tez Başlığı: Gürültüye Maruz Bırakılan Sıçanlarda Astaksantin Kullanımının Etkilerinin Odyolojik ve Histopatolojik Olarak Gösterilmesi

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans/Doktora tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 54 sayfalık kısmına ilişkin, 23 / 09 /2024 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından TURNİTİN adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 9'dur. Uygulanan filtrelemeler:

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

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

Öğrenci İmzası:.....

ONAY

Tarih: 23 / 09 / 2024

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyad, İmza:

.....
.....

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim esnasında ilgi ve desteği ile yanımda olan doktora yapmam için Başkent Üniversitesinin kapılarını bana açan Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. Levent Özlüoğlu'na en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, tez danışmanım Doç. Dr. Işıl Öz'e her aşamadaki değerli görüşleri, sabır ve yol göstericilikleri ve en önemlisi samimi, pozitif enerjisi için sonsuz teşekkürlerimi ifade etmek isterim. Eş danışmanım Prof. Dr. Bülent Şerbetçioğlu'na, her adımdaki yardım, destek ve rehberliği için; bana Medipol Üniversitesi Odyoloji laboratuvarlarında çalışma şansı verdiği için ve her aşamayı yakından takip edip ve değerli görüşlerini bildirdiği için ayrıca sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın her adımında yanımda olan ve desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Uzm. Ody. Caner Yatmaz ve Uzm. Ody. Furkan Büyükkala'a, bu yolculukta bana eşlik ederek kattıkları bilgi, deneyimleri, emekleri ve destekleri için teşekkürlerimi sunarım. Desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan Medipol Odyoloji Aileme ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi ifade etmek isterim. Histopatoloji çalışmaları esnasında yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen Doç. Dr. Alev Cumbul'a ve laboratuvarlardaki destekçilerim Özge Pehlivan'a ve İremnur Kızıldağ'a teşekkürlerimi ifade etmek isterim.

Her koşulda ilgi ve sevgisi ile yanımda olan en büyük destekçim Değerli Hocam, Abim Prof. Dr. Bülent Gündüz'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, her zaman yanımda olan, bana inanan ve destekleriyle güç veren çok değerli aileme, bu uzun ve zorlu süreci aşmamda gösterdikleri sabır ve sevgileri için minnettarım. Hep yanımda olan değerli ailem Annem Saliha Yılmaz'a, Babam Kadri Yılmaz'a, Anneannem Sebiha Aşını'ya, Abim Haydar Yılmaz'a ve Eşi Ümran Yılmaz'a yeğenlerim, canlarım Abdülkadir Yılmaz' a ve Halil İbrahim Yılmaz'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimle.

ÖZET

YILMAZ S. Gürültüye maruz bırakılan sıçanlarda astaksantin kullanımının etkilerinin odyolojik ve histopatolojik olarak gösterilmesi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Odyoloji Doktora Programı, 2024

Bu çalışmada, gürültüye bağlı işitme kaybına karşı astaksantin potansiyel koruyucu etkisi ve işitme fonksiyonlarını koruyabilme kapasitesi araştırılmıştır. Çalışmada, toplam 25 erkek Wistar albino sıçan kullanılarak 5 farklı grup (her grup için n=5) oluşturuldu. Gruplar; kontrol (sadece serum fizyolojik verilen grup), gürültü, gürültü+ serum fizyolojik grubu, sadece astaksantin verilen grup ve gürültü+ astaksantin grubu olarak 5 gruba ayrıldı. Gürültü uygulaması 120 dB SPL şiddetinde 4 kHz dar bant ile 4 saat boyunca gerçekleştirildi. Astaksantin; gürültü sonrasında, 10 mg/kg dozda 5 gün boyunca intraperitoneal yolla uygulandı. Deneklerin işitme fonksiyonları Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) testi ile 1, 2, 4, 6, 8 kHz’de ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Cevapları (İUBC) testiyle 4, 8, 12, 16, ve 32 kHz’de değerlendirildi. Değerlendirmeler; ön test (0. Gün), gürültü sonrası 1. Gün, 7 gün ve 21. Günde yapıldı. 21. Gün son testler yapıldıktan sonra sakrifikasyon ve temporal kemiğin diseksiyonu gerçekleştirildi. Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler yapılarak, astaksantin koruyucu etkisi analiz edildi. ABR testlerinde, 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarında gürültü grubu ve astaksantin tedavi grubu arasında 1., 7. ve 21. günlerde anlamlı farklar bulundu. DPOAE testinde, 2, 4 ve 6 kHz’de 1. günde anlamlı farklar elde edildi, ancak 8 kHz’de 1. ve 21. günlerde anlamlı fark gözlemlendi. Astaksantin verilen grupta, 1. günden 21. güne kadar sinyal-gürültü oranlarında artış eğilimi görüldü. Histopatolojik incelemelerde, astaksantin gürültüye maruz kalan gruplarda doku hasarını azalttığı ve hücresel düzeyde koruma sağladığı tespit edildi. Sonuç olarak; Astaksantin gürültü kaynaklı işitme kaybına karşı koruyucu etkisi olduğu ve işitme fonksiyonlarının korunmasında potansiyel etkinin olabileceği göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Astaksantin, Gürültü Bağlı İşitme Kaybı, Antioksidan

ABSTRACT

YILMAZ S. The audiological and histopathological effects of astaxanthin in rats exposed to noise Başkent University Institute of Health Sciences, Department of Otorhinolaryngology, Audiology Doctorate Program, 2024

This study investigated the potential protective effect of astaxanthin against noise-induced hearing loss (NIHL) and its capacity to preserve auditory functions. In the study, 5 different groups (n=5 for each group) were formed using a total of 25 male Wistar albino rats. The groups were divided into 5 groups as control (saline only group), noise, noise+ saline group, astaxanthin only group and noise+ astaxanthin group. Noise presented to rats with 4 kHz narrow band at 120 dB SPL for 4 hours. Astaxanthin was administered intraperitoneally at a dose of 10 mg/kg for 5 days after noise. Hearing functions of the subjects were evaluated by Distortion Product Otoacoustic Emission (DPOAE) test at 1, 2, 4, 6, 8 kHz and Auditory Evoked Brainstem Potentials (ABR) test at 4, 8, 12, 16, and 32 kHz. The evaluations were performed at pretest (Day 0), post-noise Day 1, 7 days and 21 days. On day 21, sacrifice and dissection of the temporal bone were performed after the final tests. Histopathological and immunohistochemical examinations were performed and the protective effect of astaxanthin was analysed. As a results in the ABR tests, significant differences were observed between the noise-exposed and astaxanthin-treated groups at frequencies of 4, 8, 12, 16, and 32 kHz on days 1, 7, and 21. In the DPOAE test, significant differences were found at 2, 4, and 6 kHz on day 1, while at 8 kHz, significant differences were observed on days 1 and 21. In the group treated with astaxanthin, an increasing trend in the signal-to-noise ratio was observed from day 1 to day 21. Histopathological examinations revealed that astaxanthin reduced tissue damage and provided cellular protection in the groups exposed to noise. In Conclusion the study demonstrated that astaxanthin has a potential protective effect against NIHL and may be effective in preserving auditory function.

Keywords: Astaxanthin, Noise-Induced Hearing Loss, Antioxidant

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	ix
GİRİŞ.....	1
1. GENEL BİLGİLER	2
1.1. İşitme Sisteminin Yapı ve Fonksiyonları.....	2
1.1.1. Korti.....	3
1.1.1.1. Tüylü hücreler.....	4
1.1.1.2. Spiral ganglion	6
1.1.1.3. Spiral ligament.....	6
1.1.1.4. Stria vaskülaris	7
1.1.1.5. Koklear sinir	8
1.1.2. Santral işitsel sistem	8
1.2. Ratların İşitmesi	9
1.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybının (GBİK) Patofizyolojisi.....	10
1.3.1. Mekanik hasar	10
1.3.2. Metabolik hasar	11
1.4. Sıçanlarda Odyolojik Değerlendirme	12
1.4.1. Davranışsal testler	12
1.4.2.1. İşitsel uyarılmış beyin sapı cevapları (İUBC)	13
1.4.2.2. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE)	14
1.5. Antioksidanlar	15
1.5.1. Ksantofiller.....	16
1.5.1.1. Astaksantin.....	17

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	19
2.1. Deney Hayvanları ve Grupların oluşturulması	19
2.2. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı (GBİK) Modelinin Oluşturulması	21
2.3. İşitsel Sistemin Değerlendirilmesi	22
2.3.1. DPOAE testi	23
2.3.2. İUBC testi	24
2.4. Anestezi Uygulaması.....	26
2.5. Etken Maddelerin Verilişi.....	27
2.6. Histopatolojik İnceleme	27
2.7. İmmunohistokimyasal İnceleme (Tunel Boyama)	28
2.8. İstatistiksel Analiz.....	30
3. BULGULAR.....	31
3.1. DPOAE Bulguları.....	31
3.2. İUBC Bulguları.....	38
3.3. Histopatolojik ve İmmunihistokimyasal İnceleme Bulguları	46
4. TARTIŞMA.....	62
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR.....	70
EKLER	

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Formik asit-sodyum sitrat solüsyonu karışım miktarlar.....	27
Tablo 2.2. Permeabilizasyon solüsyonu karışım miktarları	29
Tablo 2.3. Citrat buffer (retrival solüsyonu) karışım miktarları.....	29
Tablo 2. 4. Dab + substrat karışımı hazırlanışı.....	30
Tablo 3.1. 1 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	32
Tablo 3.2. 2 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	33
Tablo 3.3. 4 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	34
Tablo 3.4. 6 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	35
Tablo 3.5. 8 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	36
Tablo 3.6. 4 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	39
Tablo 3.7. 8 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	39
Tablo 3.8. 12 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	40
Tablo 3.9. 16 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	41
Tablo 3.10. 32 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi.....	42
Tablo 3.11. Spiral ganglion (apoptatik indeks ortalamaları)	50
Tablo 3.12. Spiral ligament (apoptatik indeks ortalamaları)	53
Tablo 3.13. Stria vaskülaris (apoptatik indeks ortalamaları).....	56
Tablo 3.14. Dış tüylü hücrelerin canlılık oranlarının bulguları	59
Tablo 3.15. İç tüylü hücrelerin canlılık oranlarının bulguları	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1: İşitme sisteminin anatomik yapısı

Şekil 1.2: Gürültünün kokleaya etkisi ve işitme kaybı mekanizması

Şekil 2.8: Kokleanın parafine gömülme açısı .

Şekil 3.1: 1 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Şekil 3.2: 2 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.3: 4 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.4: 6 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.5: 8 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Şekil 3.6: ABR testlerinde 4 kHz frekansında tespit edilen dalga morfolojisi ve eşik değerleri

Şekil 3.7: ABR testlerinde 8 kHz frekansında tespit edilen dalga morfolojisi ve eşik değerleri

Şekil 3.8: 8 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.9: 12 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.10: 12 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.11: 32 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi .

Şekil 3.12: Gruplara göre 21. günde 8 kHz’de İUBC dalga morfolojisi ve eşik değerleri gösterimi .

Şekil 3.13: Normal işiten (Grup 1) korti örneği gösterimi (10x) .

Şekil 3.14: Sadece SF verilen grupta (Grup 1) korti örneği gösterimi (20x) .

Şekil 3.15: Gürültü verilen grupta (Grup 2) korti örneği gösterimi (20x) .

Şekil 3.16: Gürültü ve Astaksantin verilen (Grup 5) korti örneği gösterimi (20x) .

Şekil 3.17: Gürültü maruziyetinden sonra 8 kHz frekansında ortalama dalga latansı

Şekil 3.18: 8 kHz’de tüm grupların İUBC eşik değerleri karşılaştırması

Şekil 3.19: Stria vasküleriste gruplara göre apoptotik ve canlı hücre gösterimleri (40x); beyaz üçgen canlı hücreleri siyah ok işareti apoptotik hücreleri göstermektedir .

Şekil 3.20: Normal işiten grupta (Grup 1) tüylü hücrelerin resim olarak gösterimi (40x) .

Şekil 3.21: Gürültü grubunda (Grup 2) tüylü hücrelerin resim olarak gösterimi (40x) .

Şekil 3.22: Gürültü ve Astaksantin verilen grupta (Grup 5) tüylü hücrelerin resim olarak gösterimi (40x) .

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

GBİK	Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı
İUBC	İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Cevapları
DPOAE	Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon
dB SPL	Desibel Ses Basınç Birimi
Hz	Hertz (Frekans Birimi)
DTH	Dış Tüylü Hücre
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin)
SF	Serum Fizyolojik
SGO	Sinyal-Gürültü Oranı
TUNEL	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Dntp Nick End Labeling
µm	Mikrometre
mg/kg	Miligram/Kilogram
ROS	Reaktif Oksijen Türleri

GİRİŞ

Gürültüye bağılı işitme kaybı (GBİK), modern toplumda yaygın bir sağıık sorunudur ve özellikle yüksek gürültü seviyelerine maruz kalan işçilerde önemli morbiditeye neden olur. İç kulakta bulunan hassas dış tüylü hücrelerin gürültü kaynaklı hasarı, GBİK'nın temelini oluşturur. Bu hasar, oksidatif stres ve enflamasyon gibi karmaşık mekanizmalarla tetiklenir ve geri dönüşümsüz işitme kaybına yol açabilir.

Bu bağlamda, son yıllarda yapılan araştırmalar, güçlü antioksidan ve anti-enflamatuar özellikleriyle bilinen astaksantine odaklanmıştır. Astaksantin, doğal olarak oluşan bir karotenoid pigmentidir ve deniz ürünlerinde bol miktarda bulunur. Çeşitli hastalık modellerinde oksidatif stresi azaltma ve hücresel hasarı önleme potansiyeli gösterilmiştir.

Bu çalışmada, astaksantin GBİK'ya karşı koruyucu etkisi, deneysel bir sıçan modelinde incelenmiştir. Sıçanlar, belirli bir süre boyunca kontrollü bir şekilde gürültüye maruz bırakılmış ve ardından astaksantin tedavisi uygulanmıştır. İşitme fonksiyonları, işitsel beyin sapı yanıtı ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, koklear dokularda histopatolojik analizler yapılarak, astaksantin gürültü kaynaklı hasara karşı yapısal koruma sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, astaksantin GBİK'ya karşı potansiyel bir koruyucu ajan olarak kullanılabileceğine dair önemli bilgiler sunmaktadır. Elde edilen veriler, astaksantin GBİK'nın önlenmesi ve tedavisi için yeni stratejiler geliştirmede önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. İşitme Sisteminin Yapı ve Fonksiyonları

İşitme duyumuzun karmaşık yapısı, ses dalgalarının alınmasından anlamlı sinyallere dönüştürülmesine kadar bir dizi aşamayı içerir. Bu süreçte kulak, sadece pasif bir alıcı olarak değil, aynı zamanda sesin temel özelliklerini analiz eden aktif bir organ olarak görev yapar (1,2).

Dış kulağın işitmedeki temel rolü, sesi toplayıp kulak zarına iletmek ve bu sırada belirli frekansları amplifiye etmektir. Kulak kepçesinin ortasında yer alan konkav yapı, yaklaşık 5 kHz frekansındaki ses dalgalarıyla rezonans olarak bu frekanstaki seslerin daha belirgin duyulmasını sağlar (3,4). Dış kulak kanalı ise 2.5-4 kHz arasındaki frekanslarda rezonans olur ve bu aralıktaki seslerin şiddetini artırarak orta kulağa iletir. Dolayısıyla sesler timpanik membrana 1.5-7 kHz arası 5-20 dB amplifikasyon ile ulaşır(4,5)

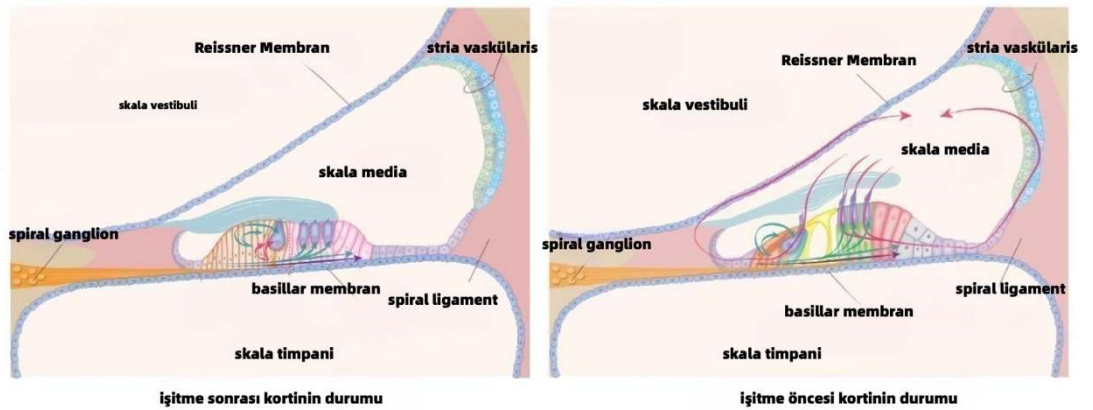
Orta kulağın işitmedeki temel rolü ise, hava dolu yapısıyla kokleanın sıvı dolu ortamı arasında bir köprü görevi görür. Bu geçiş sırasında, orta kulaktaki özel yapılar, empedans eşleştirici bir transformatör görevi ile iletilmesini sağlar (6,7). Orta kulağın dış duvarını, yarı saydam bir zar olan timpanik membran oluşturur. İç kısımda ise, birbirleriyle eklemleşmiş malleus, incus ve stapes vasıtasıyla akustik titreşimleri iç kulaktaki sıvı dolu ortama aktarır (8). Timpanik membranın titreşen yüzey alanı, stapes tabanının alanından yaklaşık 17 kat daha geniştir. Bu da gelen ses enerjisinin yaklaşık 27-34 dB kadar yükseltilerek iç kulağa gönderilmesini sağlar. Buna bağlı olarak hava ortamdan sıvı ortama geçerken ses enerjisinin kaybedilen miktarınca enerji tamamlanır ve iç kulağa gönderilir (9). Bunlara ek olarak; orta kulakta ayrıca, ses titreşimlerinin kontrolünde görev alan iki küçük kas bulunur: tensor timpani ve stapedius. Tensor timpani kası, malleusa bağlıdır ve yüksek seslere karşı timpanik membranı gererek iç kulağı korur. Stapedius kası ise stapes'e bağlıdır. Bu kas, yüksek seslere karşı stapes'in hareketini akustik refleks ile sınırlayarak iç kulağın aşırı uyarılmasını engeller (10-12).

İç kulağa orta kulaktan iletilen ses enerjisi, burada sıvı titreşimlerine dönüştürülerek duyu hücrelerini harekete geçirir. Aynı zamanda gelen sesin bazı temel özelliklerini de analiz ederek işitsel bilginin daha detaylı bir şekilde işlenmesine katkıda bulunur. Bu ön analiz, işitsel sinir sistemi tarafından daha ileri seviyede işlenecek olan sinyallerin oluşmasını sağlar (13). Koklea yaklaşık 2,5 turnden oluşan 25 mm uzunluğunda bir yapıdır. Kemik ve membranöz labirent olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Scala tympani ve scala vestibul arasında kalan scala media'yı; scala vestibuliden ayıran Reissner membrandır, scala tympaniden ayıran ise baziler membran mevcuttur (13,14).

1.1.1. Korti

Kokleanın duktus koklearisinde yer alan Korti organının; üstünde skala media'da bulunan tektorial membran ile temas halindedir. Altında ise skala media'nın tabanını oluşturan baziler membran üzerinde yer alır (15).

Baziler membran, kokleanın tabanında dar ve sert iken, apekse doğru giderek genişler ve daha esnek hale gelir (16). Baziler membranın sese tepkisi temelde mekaniktir. Gelen ses dalgaları orta kulak kemikçiklerinden geçerek oval pencereyi harekete geçirir. Bu titreşim, sıvı dolu koklea içindeki baziler membran boyunca ilerleyen bir dalga başlatır (Şekil1.1.) (17,18).



Şekil 1. 1. İşitme öncesi ve sonrası kortinin durumu

Membranın değişen sertliği ve genişliği nedeniyle, ilerleyen dalga sesin frekansına bağlı olarak belirli bir yerde tepe yapar. Yüksek frekanslı sesler sert tabanın yakınında maksimum yer değiştirme yaratırken, düşük frekanslı sesler daha esnek tepeye doğru zirve yaparak daha uzağa gider. Belirli frekansların membran boyunca farklı yerleri uyardığı bu tonotopik organizasyon, frekans bilgisinin kodlanması için çok önemlidir (13).

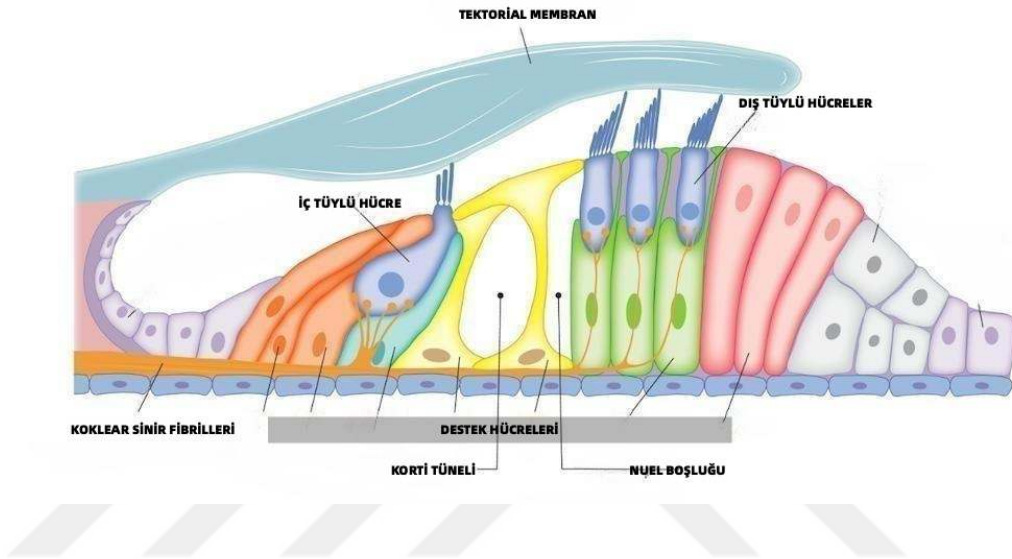
Baziler membranın hareketi, işitme sisteminin duysal reseptörleri olan tüy hücrelerinin aktivasyonu ile yakından bağlantılıdır. Corti organı içindeki membran üzerinde yer alan tüy hücreleri, membran hareketine yanıt olarak yön değiştiren stereosilyalar ile kaplıdır. Bu yön değiştirme tüylü hücrelerin üzerindeki stereosilyaları büker ve bir dizi elektrokimyasal olayı tetikler. Tüy hücreleri mekanik enerjiyi elektrik enerjisine dönüştürür ve bu enerji ses dalgalarının nöral aktiviteye kritik dönüşümünü gerçekleştirerek spiral ganglion olarak adlandırdığımız bipolar nöronlarının depolarizasyonunu başlatır (19,20).

Baziler membranın rolü pasif frekans analizinin ötesine uzanır. Özel bir sa hücresi türü olan dış sa hücreleri elektromotiliteye sahiptir, yani elektriksel uyarıma yanıt olarak uzunluklarını değiştirebilirler. Koklear amplifikatör olarak bilinen bu aktif süreç, özellikle düşük şiddetteki sesler için baziler membranın titreşimlerinin hassasiyetini ve frekans seçiciliğini artırır. Rezonans frekansında hareket eden dalgayı yükselterek, dış tüy hücreleri ayarı keskinleştirir ve işitme duyumuzun dinamik aralığını artırır (21).

1.1.1.1.Tüylü hücreler

Kortide baziler membranın hareketi ile mekanoelektriksel bir süreç başlar, titreşimlerle başlayan mekanik enerji kortideki özelleşmiş duyu hücreleri vasıtasıyla elektriksel enerjiye dönüştürülür. Bu duyu hücreleri i tüylü hücreler ve dış tüylü hücreler olarak ikiye ayrılırlar (22). Birincil duysal reseptörler olarak adlandıracağımız i tüylü hücreleri koklea boyunca tek sıra halinde uzanır. İ tüylü hücrelerin transdüksiyonu işlevi vardır ve bunun için çok önemli yapılarından biri de aktin dolu mikrovilluslar olarak niteleyebileceğimiz stereosilyalardır (şekil 1.2.). Merdiven şeklindeki stereosilyalar yöne duyarlıdır; en uzun sıraya doğru sapma eksitasyona neden olurken, uzağa sapma inhibe eder. Transdksiyona katılan iyon kanalları elastik yapılar (tip link) ile kapalıdır. “Tip link” kanalın kapısına bağlanır. Bir stereosiliumun distal sonlanımını en uzun yandaş stereosiliumun kenarına

bağlar. Kanalların açılıp kapanması bunun gerimi ile kontrol edilir. Tüy demeti dinlenme durumunda iken kanallar büyük oranda kapalıdır. Pozitif yönde hareket “tip link’deki” gerimi arttırır → kanallar açılır → katyon girişi ile depolarize edici reseptör potansiyeli oluşur ve hücre içine alınan potasyum ile depolarize olur. Tip I afferent 8. sinir liflerini innerve ederek elektriksel enerjiye dönüşüm işlemini gerçekleştirmiş ve 8. Siniri innerve etmiş olur (8,23,24).



Şekil 1.2. Dış tüylü ve iç tüylü hücrelerin konumu (23).

Dış tüylü hücreler ise, Tip 2 efferent sinir lifleri girdi alır. Bu, santral sistemin kokleanın hassasiyetini modüle etmesini ve işitmeye ince ayar yapmasını sağlar. Baziler membran boyunca 3 sıra halinde dizilmiş olan dış tüylü hücreler koklear amplifikatör görevini de üstlenmektedir. Bu da elektromotilite ile; prestin proteinin baş rolü oynadığı bir ince ayar mekanizmasıyla gerçekleşir. Prestin dış tüylü hücrenin duvarına gömülüdür ve voltaj sensörü gibi görev yapar. Membran potansiyelindeki değişimlere bağlı olarak konformasyonel değişime uğrar. Hücre hiperpolarize olduğunda prestin daha kompakt ve sıkı hal alır. Hücre depolarize olduğunda prestin genişler veya uzar. Dış tüylü hücre membranına gömülü olması nedeniyle hücre iskeletine baskı yaparak da dış tüylü hücrenin uzayıp kısalmasına neden olur. Bu da frekans seçiciliğinde alçak şiddetlerde avantaj sağlar (25).

1.1.1.2.Spiral ganglion

Kokleanın kemik labirenti için yer alaran bipolar nöronlar olan spiral ganglionlar. Santral sistem ile tüylü hücreler arasında önemli aracılardır. Spiral ganglionlar iki temel nöronal oluşan yapılardır: Tip I ve Tip II spiral ganglion nöronları. Yaklaşık %95 i Tip I nöronlardır ve büyük miyelinli aksonları ile karakterize edilir ve iç tüylü hücreleri innerve eder. Daha olan Tip II nöronlar ise daha küçük, miyelinsiz aksonları ile dış tüylü hücreler ile snaps yaparak koklear amplifikasyon ve frekans seçiciliğinde rol oynar (26).

Spiral ganglion hücrelerin aynı zamanda bakımında, snaptik iletimin modülasyonunda, metabolik destek ve yalıtımda çeşitli hücreler tarafında desteklenmektedir. Bunlar; Schwann hücreleri ve uydu glial hücreler gibi hücreler de dahil olmak üzere çeşitli nöronal olmayan hücre popülasyonu ile desteklenir (27) .

Stereosilyaların sapması ile tüylü hücrelerden glutamat salınmasıyla nörotransmitterlar spiral ganglionun postsinaptik membranındaki reseptörlere bağlanır ve aksiyon potansiyelini oluşturur. Burada spiral ganglionun rolü sadece iletim değildir. İletilen işitsel bilgiyi şekillendirir. Şiddet, frekans ve zamansal özelliklerin kodlanmasına katkıda bulunur. Farklı ateşleme özellikleri, eşikler ve dinamik aralıklar sergiler (28).

Spiral ganglionlar çeşitli faktörlere karşı hasara karşı açıktır. Özellikle gürültüye maruziyet, ototoksisite, genetik mutasyonel faktörler gibi etkenler ile işitme kaybı gelişebilir. Bunun yanı sıra özellikle gelişim sırasında plastisede de spiral ganglionlar hasar aldıktan sonra sinaptik güçte, nöronal uyarılabilirlikte ve hatta nörogenez için sınırlı bir potansiyelde değişiklikler olarak kendini gösterebilmektedir (29,30).

1.1.1.3.Spiral ligament

Kortide transdüksiyon için gerekli hassas ortamın korunmasında mekanik ve biyokimsayal kritik görevler mevcuttur. Koklear mekaniğe, sıvı homeostazona ve hücrel desteğe katkıda bulunmak bu görevlerdendir. Spiral limbus, orta bölge, periferik bölge olarak özelleşmiş alanları mevcuttur. Limbus tüylü hücrelerin üzerinden tektorial membrana bağlanan jelatinimsi bir yapıdır ve tektorial membrana yapısal destek sağlar. Orta bölge ise;

fibroblastlar ve kılcal damarlar açısından zengin olan bu bölge, spiral bağı hücre dışı matrisinin üretilmesinden ve korunmasından sorumludur. Periferik Bölge; kemik otik kapsülü çevreleyen en dış bölgedir ve koklear sıvıların iyonik bileşiminin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynadığına inanılan fibrosit adı verilen özelleşmiş hücreler içerir (31).

Spiral bağ, sertlik ve esneklik gibi mekanik özellikleriyle, koklea içindeki ses dalgası iletimini etkiler. Koklear amplifikasyonu sağlayan dış tüy hücreleriyle etkileşime girdiği düşünülen spiral bağ, "Deiters hücreleri" aracılığıyla koklear bölümün mekanik özelliklerini düzenler ve işitme hassasiyeti ile frekans ayırımını optimize eder (32).

Spiral ligament, saç hücrelerinin işlevi ve işitsel iletim için gerekli olan endolenf ve perilenfin iyonik bileşiminin korunmasında kritik bir rol oynar. Periferik bölgesindeki fibrositler, koklear sıvılar ve çevre dokular arasında iyon ve molekül geçişini düzenleyen seçici bir bariyer oluşturur. Bu düzenleme, işitme için elkin olan endokoklear potansiyelin korunması için hayati öneme sahiptir. Koklear sıvı iyon dengesindeki bozulmalar işitme kaybına yol açabilir. Spiral ligament, yaşlanma ve gürültü gibi faktörlerden kaynaklanan hasara karşı hassastır, çünkü sınırlı bir yenilenme kapasitesine sahiptir (33).

1.1.1.4.Stria vaskülaris

Stria vaskülaris, cortide yer alan, endolenf üretiminden ve korunmasından sorumlu, oldukça vaskülarize bir epitel dokusudur. Stria vaskülaris, endolenf ile doğrudan temas halinde olan ve potasyum iyonlarını aktif olarak salgılayarak endokoklear potansiyelin korunmasında hayati bir rol oynayan marginal hücreler, marginal hücreleri çevreleyen ve yapısal destek sağlayan ve iyon dengesinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu düşünülen orta (bağ dokusu) hücreler ve stria vaskülaris'in en dış katmanında bulunan ve hücre yenilenmesinde rol oynayarak stria vaskülaris'in bütünlüğünü ve işlevini korumak için gerekli olduğu düşünülen progenitör bazal hücrelerden oluşan üç farklı hücre katmanına sahiptir (34) .

Stria vaskülaris'in temel işlevi, işitsel transdüksiyon için gerekli olan +80 mV'luk pozitif bir elektrik potansiyeli olan endokoklear potansiyeli üretmek ve korumaktır. Stria vaskülaris, marginal hücrelerindeki Na⁺/K⁺-ATPaz pompaları ve K⁺ kanalları aracılığıyla

endolenfte yüksek bir K^+ konsantrasyonu ve düşük bir Na^+ konsantrasyonu oluşturarak endokoklear potansiyeli korur ve bu da saç hücresi depolarizasyonu ve işitsel sinyal iletimi için gereklidir. Stria vaskularis'in disfonksiyonu, endokoklear potansiyelin bozulmasına ve işitme kaybına yol açabilir. Bu disfonksiyona genetik mutasyonlar, yaşlanma, gürültüye maruz kalma ve ototoksik ilaçlar gibi faktörler katkıda bulunabilir (35).

1.1.1.5. Koklear sinir

Yaklaşık 30.000 akson içeren spiral ganglion nöron topluluğundan doğan koklear sinir, iç kulak kanalı (internal auditory meatus) aracılığıyla temporal kemikten geçerek beyin sapındaki koklear çekirdeklere ulaşır. Temel işlevi, kokleadan gelen mekanik titreşimleri beyin tarafından yorumlanabilen sinirsel sinyallere dönüştürmek olan koklear sinir, bu işitsel bilgiyi beyinsapına iletmek için belirli adımları takip eder. Mekanik-Elektriksel Transdüksiyon ile başlayan bu süreç, sırasıyla sinaptik iletim, aksiyon potansiyeli üretimi ve frekans-şiddet kodlaması ile devam eder (36). Frekans kodlaması, sinirin dış kısmındaki liflerin yüksek frekanslı sesleri, iç kısımda bulunan liflerin ise düşük frekanslı sesleri kodlaması prensibiyle işler. Şiddet kodlaması ise üç temel mekanizmaya dayanır: ateşleme hızı, tüylü hücre popülasyonu ve dinamik aralık fraksiyonasyonu. Yüksek şiddetli sesler, kokleadaki tüylü hücrelerde daha büyük depolarizasyonlara ve dolayısıyla spiral ganglion nöronlarında daha yüksek ateşleme hızlarına neden olarak şiddetin algılanmasını sağlar. Ayrıca, düşük şiddetli sesler yalnızca düşük eşikli tüylü hücreleri uyarabilirken, yüksek şiddetli sesler hem düşük hem de yüksek eşikli tüylü hücrelerini uyararak farklı şiddet seviyelerinin kodlanmasına katkıda bulunur. Son olarak, dinamik aralık fraksiyonasyonu sayesinde, farklı spiral ganglion nöronları farklı dinamik aralıklara sahip olur ve bazıları düşük şiddetli seslere karşı hassasken, diğerleri yalnızca yüksek şiddetli seslere yanıt verir (37).

1.1.2. Santral işitsel sistem

Koklear çekirdekler, koklear sinirden gelen işitsel bilgileri alıp frekans, şiddet ve zamansal özellikler açısından analiz ederek üst işitsel merkezlere ileten ilk istasyondur (38). Her iki kulaktan gelen işitsel bilgileri birleştiren superior olivary kompleks, ses lokalizasyonu ve lateralizasyonunda kritik bir rol oynar (39). Lateral lemniscus, işitsel bilgiyi superior

olivary kompleksten talamusa taşıyan sinir lifleri yoludur. Inferior colliculus ise orta beyinde bulunan ve gelen işitsel bilgileri işleyerek ses kaynağının yerini belirleme, ses tanıma ve dikkat gibi işlevlere katkıda bulunan bir yapıdır(40). Talamusta bulunan Medial Geniculate Nucleus, işitsel bilginin işlenmesinde son durak olup, bu bilgileri işitsel kortekse iletir. İşitsel korteks ise temporal lobda bulunur ve frekans bantları, ses şiddeti, zamansal özellikler ve karmaşık ses örüntüleri gibi unsurların işlenerek anlamlandırıldığı en karmaşık işitsel analiz merkezidir (41).

Santral işitsel sistem, ses lokalizasyonu (yön ve uzaklık), frekans ayrımı, şiddet kodlaması gibi önemli işlevleri yerine getirir. Ayrıca, sesin zamansal özelliklerini analiz eden zamansal işleme, karmaşık ortamlarda farklı sesleri ayırt etmemizi sağlayan işitsel sahne analizi, ilgili seslere odaklanmamızı sağlayan işitsel dikkat ve sesleri tanımamızı ve hatırlamamızı sağlayan işitsel bellek gibi yeteneklerimiz de bu sistemin işlevlerindendir (42).

1.2.Ratların İşitmesi

İnsanlar ve sıçanlar, memeliler sınıfına ait olmaları nedeniyle benzer işitme sistemlerine sahip olsalar da anatomik yapılarında bazı önemli farklar bulunur. Bu farklar, her iki türün de kendi ekolojik nişlerine uyum sağlamalarının bir sonucudur (43).

Dış kulak; ratlarda kulak kepçesi, insanlara kıyasla daha hareketli ve hunimsi bir yapıya sahiptir. Bu yapı, ses kaynağının lokalizasyonunda daha etkili olmalarını sağlar. Ayrıca, ratların auriculası, çevre sıcaklığını düzenlemede de rol oynar. Dış kulak yolu ise insanlara göre daha kısa ve daha geniştir (44).

Orta kulak; ratlarda orta kulak yapısı, insanlara benzer şekildedir fakat orta kulak boşluğu daha küçüktür ve östaki borusu daha geniştir. Bu yapı, yüksek frekanslı seslerin iletimini optimize eder. Ratlarda stapes kemiği, insanlara göre daha büyüktür. Bu fark, ratların daha yüksek frekanslı sesleri algılama yeteneklerine katkıda bulunur (45).

İç kulak; ratlarda koklea, insanlara göre daha basit bir yapıya sahiptir. Ancak, tüy hücrelerinin dağılımı ve yoğunluğu farklıdır. Kokleaları insan kokleasından daha küçüktür

(1.5 tur sarmal yapmıştır), ancak tüy hücresi yoğunluğu daha yüksektir. Yüksek frekanslara duyarlı bazal bölge, kokleanın daha büyük bir bölümünü kaplar (46).

İşitme aralığı 1 kHz ile 90 kHz arasındadır, yani insanlardan çok daha yüksek frekanslı sesleri duyabilirler. En hassas oldukları frekans aralığı 4-32 kHz arasındadır, bu da ultrasonik vokalizasyonlarını içerir (47).

1.3.Gürültüye Bağlı İşitme Kaybının (GBİK) Patofizyolojisi

GBİK, aşırı gürültüye maruz kalmanın iç kulaktaki hassas yapılara zarar vermesi sonucu ortaya çıkar. Bu hasar, mekanik ve metabolik olmak üzere iki temel mekanizma ile gerçekleşir (48) .

1.3.1. Mekanik hasar

Yüksek şiddetli ses dalgalarının neden olduğu şiddetli titreşimler, iç kulakta mekanik strese yol açar. Bu stres, başta kokleadaki tüy hücrelerinin üzerinde bulunan hassas stereosilyalar olmak üzere, işitsel sistemin çeşitli bileşenlerini etkiler(49) .

Şiddetli gürültüye maruz kalma, stereosilyalarda yıkıcı etkilere sahip olabilir. Yüksek şiddetli ses dalgaları, bu yapıların tamamen kopmasına veya kırılmasına neden olarak, tüy hücrelerinin ses titreşimlerini algılama ve bu titreşimleri sinir impulslarına dönüştürme yeteneğini bozar. Bu durum, ani ve genellikle kalıcı işitme kaybına yol açar. Bununla birlikte, gürültü kaynaklı hasar, sadece stereosilyaların kırılmasıyla sınırlı değildir. Bu yapılar, birbirlerine ince filamentlerle bağlıdır ve bu bağlantılar, ses dalgalarına yanıt olarak koordineli hareket etmelerini sağlar. Gürültüye maruz kalma, bu hassas bağlantıları kopararak stereosilyaların düzensiz hareket etmesine ve tüy hücresi fonksiyonunun bozulmasına neden olabilir. Ayrıca, aşırı titreşim, tüy hücrelerinin dayanak noktası olan baziler membranda da hasara yol açabilir. Bu yapıda meydana gelen yırtılmalar veya hasar, tüy hücrelerinin destek yapısını bozarak işitme kaybına katkıda bulunur (50).

1.3.2. Metabolik hasar

GBİK başlangıçta mekanik olsa da metabolik olayları tetikler ve hücre ölümünü hızlandırarak devam ederek kalıcı işitme kaybına neden olur (51).

Aşırı gürültü, kokleanın hücresel düzeyde hassas bir dengeyi korumasını zorlar. Normal şartlarda hücresel metabolizmanın bir parçası olan reaktif oksijen türlerinin üretimi, gürültüye maruziyetle orantısız şekilde artar. Bu kararsız moleküllerin fazlalığı, oksidatif stres olarak bilinen ve hücrelere zarar veren bir durum yaratır. Gürültünün zararlı etkileri bununla da sınırlı kalmaz; tüy hücrelerinde enerji üretiminden sorumlu mitokondri de hedef alınır. Hasar gören mitokondri, hem ROS üretimini daha da artırarak kısır bir döngüye yol açar hem de hücreleri enerji krizine sürükler. Kokleanın, ROS'u etkisiz hale getirmek için antioksidan savunma mekanizmaları bulunsa da sürekli gürültü bu sistemleri yıpratır. Sonuç olarak, koklea oksidatif strese karşı daha savunmasız hale gelir ve kalıcı hasar riski artar (52).

Gürültünün metabolik hasara yol açan etkilerinden biri de kalsiyum homeostazını bozmasıdır. İşitme sürecinde kritik bir sinyal molekülü olan kalsiyumun (Ca^{2+}), hücre içi konsantrasyonu sıkı bir şekilde düzenlenmelidir. Gürültü, bu hassas dengeyi bozarak tüy hücrelerinde Ca^{2+} birikmesine neden olur. Bu durumun başlıca iki nedeni vardır: Gürültü, kokleada uyarıcı bir nörotransmitter olan glutamat salınımını artırır ve aşırı glutamat da tüy hücreleri üzerindeki reseptörleri aşırı uyurarak hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonlarında toksik bir artışa neden olur. Ek olarak, gürültü, protein katlanması ve Ca^{2+} depolanmasında rol oynayan bir organel olan endoplazmik retikulumda strese neden olur. Bu stres de hücre içi Ca^{2+} dengesini daha da bozarak hücre fonksiyonlarını olumsuz etkiler (53).

Gürültüye maruz kalma, kokleada vücudun doğal savunma mekanizması olan enflamasyonu tetikler. Ancak kontrolsüz devam eden enflamasyon, faydadan çok zarar getirir ve doku hasarına yol açabilir. Gürültüye maruz kalan tüy hücreleri ve diğer koklear hücreler, enflamasyonu destekleyen sinyal molekülleri olan proinflatuar sitokinleri salgılar. Bu sinyaller, bağışıklık hücrelerini kokleaya çeker. Bağışıklık hücreleri, ilk aşamada hasarlı hücreleri temizleyerek faydalı bir rol oynasalar da uzun vadede enflamasyonu körükleyerek ve doku hasarına katkıda bulunarak olumsuz etkilere neden olabilirler(54).

Tüm bu metabolik değişiklikler bir araya geldiğinde, tüy hücrelerinde enerji tükenmesine ve sonunda hücre ölümüne yol açar. Gürültünün neden olduğu mitokondriyal hasar, hücresel enerji üretimini baltalayarak tüy hücrelerini sürekli bir metabolik stres altında bırakır. Bu durum, hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürme becerisini zayıflatır ve onları daha savunmasız hale getirir. Sonuç olarak, gürültüye maruz kalan tüy hücreleri, programlanmış hücre ölümü olarak da bilinen apoptoza meyilli hale gelir. Apoptoz, hücrenin kendi kendini kontrollü bir şekilde yok etmesini içeren doğal bir süreç olsa da gürültüye bağlı hasar bu süreci hızlandırarak işitme kaybına katkıda bulunur (55).

1.4.Sıçanlarda Odyolojik Değerlendirme

1.4.1. Davranışsal testler

Hayvan modelleri, işitme duyusu ve işitme kaybı üzerine yapılan araştırmalarda önemli bir rol oynar. Ancak, bu modellerde kullanılabilecek işitsel tanı yöntemleri sınırlıdır. Genellikle objektif testler, sonuçların daha güvenilir ve tekrarlanabilir olması nedeniyle tercih edilir. Bununla birlikte, araştırmanın amacına ve tasarımına bağlı olarak davranışsal testler de değerli bilgiler sağlayabilir (56).

Davranışsal testler, hayvanın işitsel uyarana verdiği tepkiyi gözlemleyerek işitme fonksiyonunu değerlendirir. Bu testlerin sonuçları, hayvanın motivasyonu, dikkat süresi ve öğrenme kapasitesi gibi faktörlerden etkilenebileceği için dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır (57).

Şartlandırılmış tepki verme, yaygın olarak kullanılan bir davranışsal test yöntemidir. Bu yöntemde, hayvana bir ses uyarısı sunulur ve ardından ödül veya ceza verilir. Hayvan, sesi ödülle veya cezayla ilişkilendirmeyi öğrendikten sonra, uyarana karşı belirli bir davranış sergiler. Örneğin, bir sıçan, bir ses uyarısını takiben elektrik şoku verilmesiyle ilişkilendirebilir ve daha sonra aynı sesi duyduğunda kaçınma davranışı gösterebilir. Bu test, hayvanın sesi duyup duymadığını ve hangi şiddette duyduğunu belirlemek için kullanılabilir (58) .

Prepulse inhibisyonu, işitsel sistemin merkezi işleme yeteneğini değerlendiren bir diğer davranışsal testtir. Bu testte, hayvana önce zayıf bir ses uyarısı (prepulse) ve ardından daha güçlü bir ses uyarısı (pulse) sunulur. Normalde, prepulse, pulse'a verilen irkilme refleksini azaltır. Ancak, işitme kaybı olan hayvanlarda bu inhibisyon etkisi azalır. PPI testi, özellikle şizofreni ve otizm gibi merkezi işitsel işleme bozukluklarının araştırılmasında yaygın olarak kullanılır (59).

Sonuç olarak, hayvan modeli araştırmalarında tanı, hem objektif hem de davranışsal testlerin bir kombinasyonunu içerir. Her testin kendine özgü avantajları ve sınırlamaları vardır ve araştırmacılar, araştırma sorularını en iyi şekilde yanıtlayan yöntemleri seçmelidir (60) .

1.4.2. Elektrofizyolojik testler

1.4.2.1. İşitsel uyarılmış beyin sapı cevapları (İUBC)

İUBC testi, işitme duyusunun objektif bir değerlendirmesini sağlayan ve beyin sapındaki işitsel yolların elektriksel aktivitesini ölçen bir elektrofizyolojik yöntemdir. Çeşitli uyaranlar verilerek, işitsel sinirden başlayarak beyin sapındaki işitsel yollar boyunca bir elektriksel aktiviteyi tetiklenir. Hastanın başının üzerine yerleştirilen elektrotlar, bu aktiviteyi algılar ve kaydeder (61).

Kaydedilen elektriksel aktivite, dalgalar halinde görüntülenir ve her dalga, işitsel yolun belirli bir bölümündeki aktiviteyi temsil eder. Dalgalar, oluşum sırasına göre I'den VII'ye kadar numaralandırılır. En sık kullanılan dalgalar I, III ve V'tir. Dalga I, işitsel sinirin distal kısmından kaynaklanırken, Dalga III, koklear nükleus ve üst olivary kompleks gibi beyin sapındaki işitsel yapıların aktivitesini yansıtır. Dalga V ise, lateral lemniscus ve inferior kollikulus gibi daha yüksek işitsel merkezlerin aktivitesini gösterir(62) .

İUBSP, çeşitli klinik durumlarda işitme duyusunu değerlendirmek için kullanılır. Yeni doğan bebeklerde işitme kaybını taramak, işitme kaybının derecesini ve türünü belirlemek, beyin sapı tümörlerini teşhis etmek, multipl skleroz gibi demiyelinizan hastalıkları izlemek

ve koma veya beyin ölümü tanısında beyin sapı fonksiyonunu değerlendirmek için başvurulan önemli bir testtir (63).

İUBSP'nin birçok avantajı vardır. Hastanın aktif katılımını gerektirmeyen objektif bir testtir. Ayrıca, ağırlı veya invaziv prosedürler gerektirmeyen non-invaziv bir yöntemdir. Genellikle tamamlanması yaklaşık 30-60 dakika süren nispeten hızlı ve bilinen bir yan etkisi olmayan güvenli bir testtir (64).

1.4.2.2.Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (DPOAE)

DPOAE Ürünü Otoakustik Emisyonlar, iç kulakta bulunan ve işitmede kritik bir rol oynayan dış tüy hücrelerinin sağlığını değerlendirmek için kullanılan bir işitme testidir. DTH'ler, gelen ses dalgalarını yükseltmek ve beyne iletilen sinyalleri güçlendirmek için mekanik bir yanıt üretirler. Bu hücreler hasar gördüğünde, işitme kaybı meydana gelir (65).

DPOAE testi sırasında, kulağa iki farklı saf ton (f_1 ve f_2) aynı anda verilir. Sağlıklı bir iç kulakta, DTH'ler bu iki tonu işlerken, "distorsiyon ürünü" olarak adlandırılan ek bir ses üretirler. Bu ek ses, $2f_1-f_2$ frekansında oluşur. Örneğin, 1000 Hz (f_1) ve 1200 Hz (f_2) frekanslarında iki ton verildiğinde, 800 Hz ($2f_1-f_2$) frekansında bir distorsiyon ürünü oluşur. DPOAE testi, bu distorsiyon ürününün varlığını, seviyesini ve diğer özelliklerini ölçerek DTH'lerin işlevselliğini değerlendirir. Distorsiyon ürününün güçlü olması, DTH'lerin sağlıklı olduğunu ve düzgün çalıştığını gösterirken, zayıf veya hiç distorsiyon ürünü olmaması, DTH'lerde hasar olduğunu ve işitme kaybı riskini artırdığını düşündürür (66).

DPOAE testi, yeni doğan işitme taramasından işitme kaybının değerlendirilmesine ve takibine kadar çeşitli klinik durumlarda kullanılır. Özellikle hafif ve orta dereceli işitme kayıplarında, işitme kaybının varlığını ve derecesini belirlemeye yardımcı olabilir. Ayrıca, gürültüye maruz kalma, ilaç kullanımı veya diğer faktörler nedeniyle zaman içinde meydana gelebilecek işitme değişikliklerini izlemek için de kullanılabilir. DPOAE'nin önemli bir kullanım alanı da, DTH'lere zarar verebilen ve işitme kaybına neden olabilen ototoksik ilaçları kullanan hastalarda işitme fonksiyonunu izlemektir (67).

DPOAE testinin birçok avantajı vardır. Hastanın aktif katılımını gerektirmeyen objektif bir testtir ve ağrılı veya invaziv prosedürler gerektirmez. Genellikle tamamlanması birkaç dakika süren hızlı ve bilinen bir yan etkisi olmayan güvenli bir testtir. Sonuç olarak DPOAE, iç kulağın dış tüy hücrelerinin sağlığını değerlendirmek için kullanılan güvenilir ve objektif bir testtir ve çeşitli klinik durumlarda işitme duyusunu değerlendirmek ve izlemek için yaygın olarak kullanılır(68) .

Sonuç olarak, hayvan modeli araştırmalarında işitsel tanı hem objektif hem de davranışsal testlerin bir kombinasyonunu içerir. Her testin kendine özgü avantajları ve sınırlamaları vardır ve araştırmacılar, araştırma sorularını en iyi şekilde yanıtlayan yöntemleri seçmelidir (69).

1.5.Antioksidanlar

Oksidatif stres, hücresel bileşenlere zarar verebilen eşleşmemiş elektronlara sahip reaktif moleküller olan serbest radikallerle tetiklenir. Antioksidanlar ise bu serbest radikallerle etkileşime girerek oksidatif stresin etkilerini azaltır veya geciktirir. Bu tür hücresel hasarın yaşlanma, kanser, kalp hastalığı ve diğer kronik hastalıklar gibi çeşitli sağlık sorunlarına yol açabileceği düşünülmektedir (70).

Vücudumuzdaki antioksidanları, serbest radikallerle nasıl savaştıklarına göre ikiye ayırabiliriz: enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engeller veya onları etkisiz hale getirir. Diğer yandan C vitamini, E vitamini, karotenoidler ve flavonoidler gibi enzimatik olmayan antioksidanlar ise oluşan serbest radikalleri temizleyerek zincirleme reaksiyonlarla daha fazla zarar vermelerini durdurur (71).

Antioksidanlar çeşitli meyveler, sebzeler, kuruyemişler ve tohumlar gibi birçok gıdada bulunur. Ayrıca, takviye olarak da alınabilirler (72).

1.5.1. Ksantofiller

Ksantofiller, doğada geniş bir renk yelpazesinden sorumlu olan pigmentlerdir. Özellikle bitkilerde, alglerde ve bazı bakteri türlerinde bulunan ksantofiller, sarı, turuncu ve kırmızı tonlarını oluştururlar. Bu pigmentler, karotenoidler olarak bilinen daha geniş bir pigment ailesinin bir parçasını oluştururlar (73).

Ksantofilleri diğer karotenoidlerden ayıran temel özellik, moleküler yapılarındaki oksijen atomlarıdır. Karotenoidler gibi, ksantofiller de konjuge çift bağlardan oluşan uzun bir karbon iskeletine sahiptir. Ancak, ksantofiller ek olarak oksijen içeren fonksiyonel gruplar da bulundurulur. Bu farklılık, ksantofillere özgü kimyasal özellikler ve biyolojik fonksiyonlar kazandırır (74).

Bitkilerde ksantofiller, fotosentez sürecinde önemli bir rol oynarlar. Fotosentetik pigmentler olarak görev yapan ksantofiller, klorofil tarafından etkili bir şekilde yakalanamayan belirli ışık dalga boylarını absorbe ederler. Bu sayede, fotosentez için kullanılabilen ışık enerjisi miktarını artırarak bitkinin daha verimli bir şekilde enerji üretmesine yardımcı olurlar. Ayrıca, ksantofiller bitkiyi aşırı ışık ve serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumak için de görev yaparlar (75).

Beslenme açısından bakıldığında, bazı ksantofiller insanlar tarafından tüketildiğinde A vitaminine dönüştürülebilir. Örneğin beta-karoten, vücutta A vitaminine dönüştürülebilen önemli bir ksantofildir. Ksantofiller ayrıca güçlü antioksidan özellikler sergilerler ve bu özellikleri sayesinde çeşitli sağlık yararları sağlayabilirler (76).

Doğada yaygın olarak bulunan ksantofiller arasında lutein, zeaksantin ve astaksantin gibi önemli örnekler yer alır. Lutein, yeşil yapraklı sebzelerde bolca bulunan ve özellikle göz sağlığı için önemli bir ksantofildir. Mısır, portakal ve diğer sarı meyve ve sebzelerde ise zeaksantin adı verilen ksantofil bulunur. Astaksantin ise, alglerde, kabuklularda ve balıklarda bulunan kırmızımsı bir pigmenttir ve güçlü antioksidan özellikleriyle dikkat çeker (75,76).

Ksantofiller, bitkiler, algler ve bazı bakteri türleri için büyük öneme sahip pigmentlerdir. Fotosentezde ve koruma mekanizmalarında oynadıkları rollerin yanı sıra, insanlar için de sağlık açısından faydalıdırlar (73).

1.5.1.1.Astaksantin

Astaksantin, *Haematococcus pluvialis* gibi bazı alglerde, kabuklularda ve balıklarda bulunan kırmızımsı bir pigment olan bir ksantofildir. Serbest radikalleri temizleyerek, singlet oksijeni söndürerek ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan etkiler gösterir. Moleküler yapısı, hücre zarında konumlanmasını ve hem suda hem de yağda çözünen antioksidanlar olarak işlev görmesini sağlar (77).

Astaksantin, son yıllarda sağlık alanında giderek artan bir ilgiyle karşılaşıyor ve yapılan araştırmalar, bu güçlü antioksidanın potansiyel sağlık yararlarına ışık tutuyor. Özellikle göz sağlığı üzerindeki olumlu etkileri dikkat çekiyor. Yapılan çalışmalar, astaksantinın maküler dejenerasyon ve katarakt gibi yaygın göz hastalıklarının riskini azaltmada etkili olabileceğini gösteriyor (78).

Astaksantinın kardiyovasküler sağlık üzerinde de olumlu etkileri olduğu düşünülüyor. Araştırmalar, astaksantinın kan basıncını düşürmeye, kolesterol seviyelerini düzenlemeye ve kan pıhtılaşması riskini azaltmaya yardımcı olabileceğini gösteriyor. Bu etkileri sayesinde, kalp krizi ve felç gibi ciddi kardiyovasküler olayların önlenmesinde potansiyel bir rol oynayabilir (79).

Astaksantinın beyin sağlığını desteklediğine dair de umut verici bulgular mevcut. Yapılan çalışmalar, astaksantinın bilişsel fonksiyonları iyileştirebileceğini ve Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların riskini azaltabileceğini gösteriyor. Astaksantinın bu etkileri, güçlü antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklerine bağlanıyor (80).

Sporcular ve aktif bireyler için de astaksantin ilgi çekici bir takviye olabilir. Yapılan araştırmalar, astaksantinın kas dayanıklılığını artırdığını, yorgunluğu azalttığını ve egzersiz sonrası toparlanmayı hızlandırdığını gösteriyor. Astaksantinın bu etkileri, spor

performansını artırma ve egzersiz sonrası kas ağrılarını azaltma potansiyeline işaret ediyor(81) .

Astaksantin cilt sağığı üzerinde de olumlu etkileri olduğı düşünölüyor. Bazı çalışmalar, astaksantin kırışıklıkları azaltabileceğini, cilt elastikiyetini artırabileceğini ve güneşin zararlı UV ışınlarına karşı koruma sağlayabileceğini gösteriyor. Bu etkileri, astaksantin güçlü antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklerine bağlanıyor (82)



2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu araştırma, Başkent Üniversitesi Odyoloji Anabilim Dalı bünyesinde yürütülen bir doktora tezi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın deneysel aşamaları, İstanbul Medipol Üniversitesi'nin iki farklı biriminin iş birliğiyle yürütülmüştür. Deney hayvanlarının barındırılması, bakımının sağlanması ve deneylerin bir bölümü, İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü bünyesinde yer alan Tıbbi Araştırma Merkezi (MEDİTAM) bünyesindeki laboratuvarlarda gerçekleştirilmiştir.

Araştırmanın odyolojik testlerini içeren diğer aşamaları ise, yine İstanbul Medipol Üniversitesi Kavacık Kuzey Kampüsü'nde bulunan Odyoloji Laboratuvarı Test Kabininde yürütülmüştür.

Çalışmada, deney hayvanlarının kullanımı, Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 05.05.2023 tarihinde onaylanmıştır (Karar No: E-38828770-772.02-2866). Araştırma süresince, Helsinki Deklarasyonu'nda belirtilen hayvan deneyleriyle ilgili etik ilkelere azami özen gösterilmiştir. Bu tezin tüm maliyeti araştırmacı tarafından karşılanmıştır.

2.1. Deney Hayvanları ve Grupların oluşturulması

Çalışmamızda, deney hayvanı olarak toplamda 25 adet erkek Wistar cinsi albino sıçan kullanıldı. Deney gruplarının homojen bir yapıya sahip olmasını sağlamak amacıyla, tüm sıçanlar aynı yaş aralığında (yaklaşık 3,5 aylık) seçildi. Sıçanların temini, İstanbul MEDİTAM'den Deney Hayvanları Birimi tarafından sağlandı.

Araştırma süresince, tüm sıçanlar, Deney Hayvanları Laboratuvarlarında, kontrollü bir ortamda barındırıldı. Bu ortamda, hayvanların doğal yaşam döngülerini taklit etmek ve stres faktörlerini en aza indirmek amacıyla 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsü uygulandı. Oda sıcaklığı, 22-24 °C derece aralığında sabit tutuldu.

Sıçanların beslenmesi, araştırma boyunca ad-libitum prensibiyle gerçekleştirildi. (Sıçanların sürekli olarak yiyecek ve suya erişimleri sağlandı ve besin tüketimleri herhangi bir şekilde kısıtlama yapılmadı.)

Hayvanların barındırıldığı kafeslerin bulunduğu alanın akustik özellikleri düzenli olarak kontrol edildi. Ortam gürültüsü seviyesi, PCE 430 Class I Sound Level Meter (SLM) 50 dBA'nın altında tutuldu.

Otoakustik emisyon testi ile yapılan ön taramada işitmesi normal olduğu tespit edilen 25 sıçan her bir gruba 5 hayvan olmak üzere 5 gruba rastgele dağıtıldı.

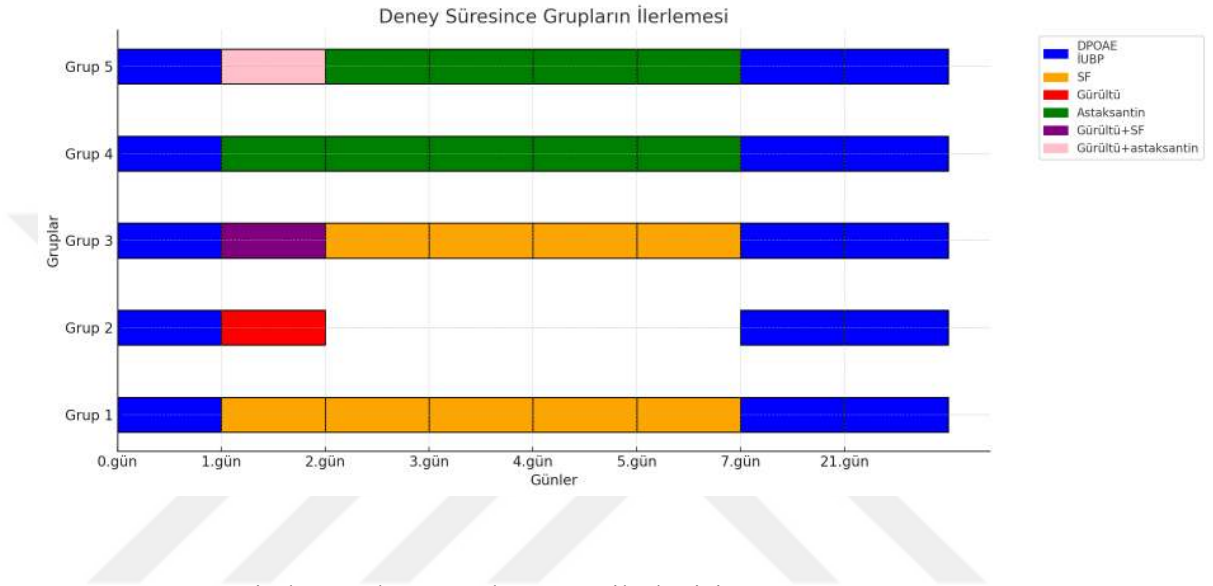
Grup 1 (n=5): Bu gruptaki deneklere ön testler uygulandıktan 24 saat sonra tedavi grubundaki (grup 5) etken madde ile aynı oranda serum fizyolojik (SF), aynı süre (5 gün) ile verildi. Akabindeki 6 saatte 1. gün testleri yapıldı. Ardından 7. ve 21. günlerde testleri tekrar edilerek, 21. gün testleri bittikten sonra, aynı gün sakrifiye edildi ve sıçanların temporal kemiklerinin diseksiyonu gerçekleştirildi

Grup 2 (n=5): Bu gruptaki deneklere ön testlerin uygulamasının 24 saat sonrasında, 4 kHz dar bant gürültü kullanılarak, 120 dB SPL şiddetinde 4 saat boyunca ve tek seferlik gürültü verildi. Sonrasındaki ilk 6 saat 1. Gün testleri yapıldı. Ardından 7. ve 21. günlerde testler tekrarlandı. 21. gün testlerinin hemen ardından, aynı gün sakrifiye edilen kontrol grubundaki sıçanların temporal kemiklerinin diseksiyonu gerçekleştirildi.

Grup 3 (n=5): Bu gruptaki deneklere grup 2'deki prosedürlerin aynısı uygulandı. Ek olarak gürültü uygulaması ile aynı anda başlatılan (etken madde ile aynı oranda) SF aynı süre (5 gün) ile verildi.

Grup 4 (n=5): Bu gruptaki deneklere ön testler uygulandıktan 24 saat sonra tedavi grubu (grup 5) ile aynı oranda (10 mg/kg/gün) etken madde, aynı süre (5 gün) ile verildi. Akabindeki 6 saatte 1. gün testleri yapıldı. Ardından 7. ve 21. günlerde testleri tekrar edilerek, 21. gün testleri bittikten sonra, aynı gün sakrifiye edildi ve sıçanların temporal kemiklerinin diseksiyonu gerçekleştirildi

Grup 5 (n=5): Bu gruptaki deneklere ön testlerin uygulanışının 24 saat sonrasında, 4 kHz dar bant gürültü kullanılarak, 120 dB SPL şiddetinde 4 saat boyunca ve tek seferlik gürültü verildi. Bununla birlikte eş zamanlı olarak 10 mg/kg/gün oranında astaksantin 5 gün süre ile verildi. Akabindeki 6 saatte 1. gün testleri yapıldı. Ardından 7. ve 21. günlerde testleri tekrar edilerek, 21. gün testleri bittikten sonra, aynı gün sakrifiye edildi ve sıçanların temporal kemiklerinin diseksiyonu gerçekleştirildi (Şekil2.1.).



Şekil 2.1. Deney sürecinde grupların günlere göre ilerleyişi

2.2. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı (GBİK) Modelinin Oluşturulması

Bu çalışmada, GBİK modeli oluşturmak için deney hayvanları, gürültü maruziyeti süresince 18cm x 18cm x 18cm boyutlarında standart tel kafeslerde tutuldu. Gürültü kaynağı olarak, yüksek frekanslarda etkili bir iletim sağlamak amacıyla özel olarak tasarlanmış bir sistem kullanıldı. Bu sistem, Spekon marka CT-51AS model tweeter hoparlör ve 21cm x 21cm boyutlarında, tabandan 35 cm yüksekliğe sahip bir boynuzdan oluşmaktaydı.

Sistemin kalibrasyonu, gürültü maruziyetinin gerçekleştirildiği ortamda ve kafesin yerleştirildiği konuma göre yapıldı. Kalibrasyon işlemi, PCE 430 Class I Sound Level Meter kullanılarak, tabandan 5 cm yükseklikte gerçekleştirildi.

Gürültü maruziyeti, 4 kHz frekansında dar bant gürültü kullanılarak gerçekleştirildi. Sıçanlara, 120 dB SPL şiddetinde 4 saat tek seferlik gürültü uyarımı verildi (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Gürültü maruziyeti sırasında gürültünün eşit dağılımı için sağlanan ekipman

2.3.İşitsel Sistemin Değerlendirilmesi

Çalışmada yer alan sıçanların işitsel sistemlerini değerlendirmek amacıyla Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Cevapları (İUBC) testleri kullanıldı.

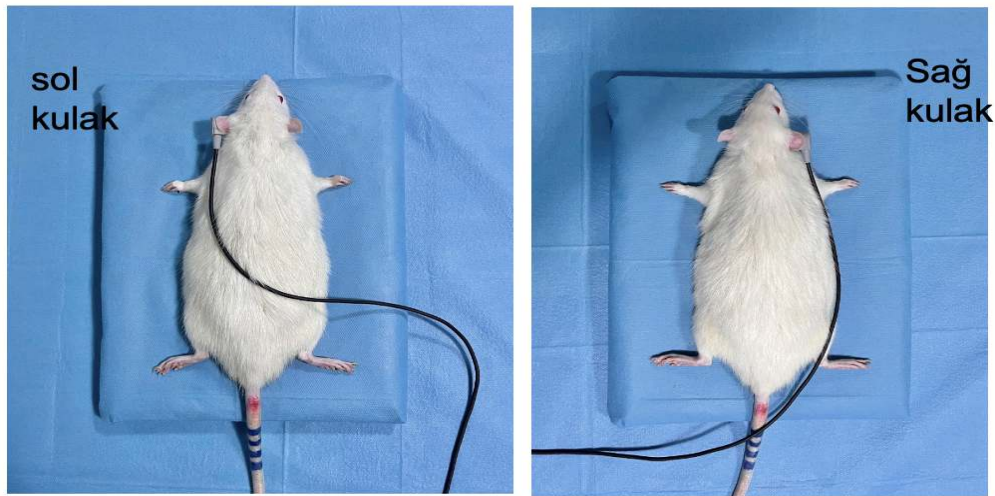
Deney protokolüne dahil edilmeden önce, tüm sıçanlara otoskopik muayene yapıldı ve dış kulak yolu ile kulak zarının normal olduğu doğrulandı. Otoskopik muayeneden geçen sıçanlara daha sonra DPOAE testi uygulandı. Bu test, 2 kHz ile 8 kHz arasındaki frekans aralığında gerçekleştirildi. Cevap elde edilen sıçanlar çalışmaya dahil edildi.

Testler sırasında, sıçanların vücut sıcaklıkları rektal yoldan termometre ile düzenli olarak izlendi ve hipotermi gelişmesi engellendi.

2.3.1. DPOAE testi

DPOAE testleri, Otodynamics ILO-V6 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Kayıtlar, sıçanların kulak kanallarına uygun boyuttaki yenidoğan probları ile alındı (Şekil 2.3.).

Test protokolü; İki saf ses sinyalinin frekans oranı $f2/f1 = 1.22$ olarak ayarlandı ve $2f1-f2$ frekans bölgesi değerlendirildi. Kullanılan saf ses sinyallerinin şiddetleri $f1$ için $L1 = 65$ dB SPL ve $f2$ için $L2 = 55$ dB SPL olarak belirlendi. Test edilen frekanslar 1, 2, 4, 6 ve 8 kHz idi. Her bir frekansta elde edilen DPOAE yanıtı, sinyal-gürültü oranı cinsinden dB SPL olarak analiz edildi. Her frekans için ölçümler üç kez tekrarlandı. DPOAE testleri, tüm gruplara gürültü maruziyetinden önce (ön test) ve gürültü maruziyetinden sonraki 1., 7. ve 21. günlerde tekrarlandı (Şekil 2.4.).



Şekil 2.3. DPOAE testi sırasında probe yerleşiminin gösterilmesi



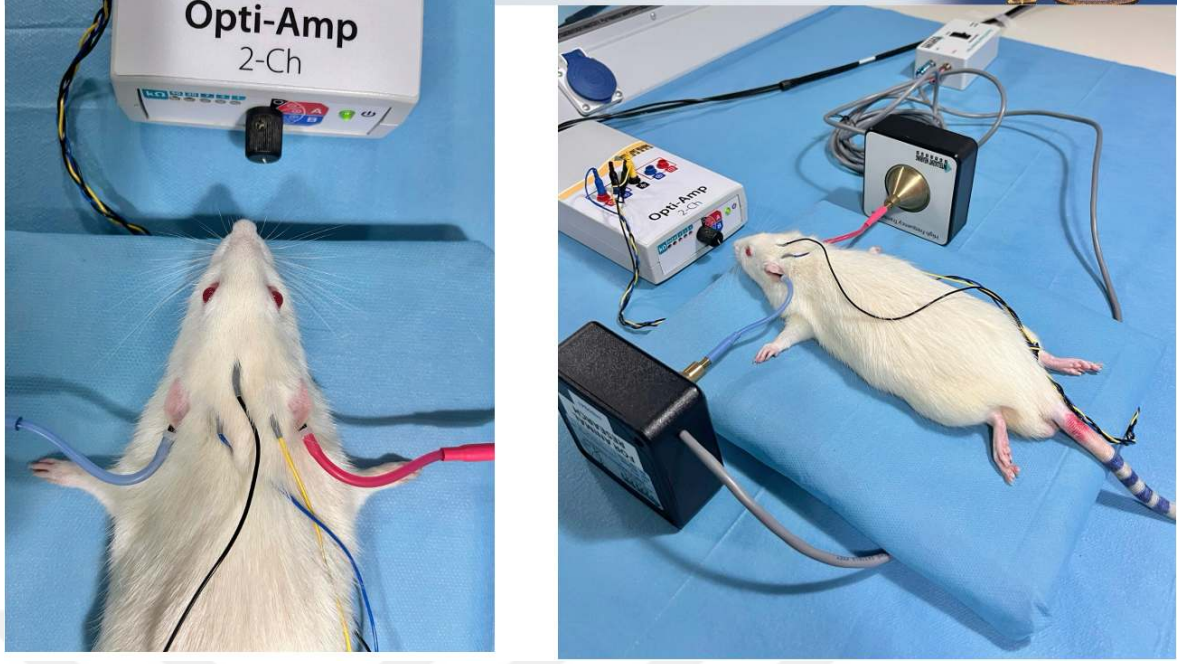
Şekil 2.4. DPOEA testinin uygulanış sırasındaki görüntüsü

2.3.2. İUBC testi

İUBC testleri, Intelligent Hearing Systems cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Testlerden önce cihaz, ANSI standartlarına uygun olarak kalibre edildi.

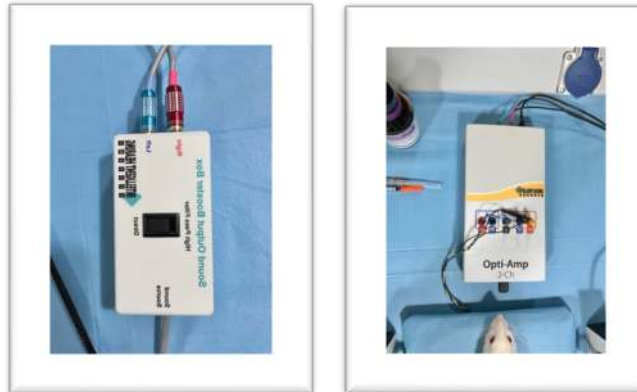
Sıçanlara anestezi uygulandıktan sonra, başlarının orta hattına deri altına aktif elektrot, test edilecek kulak kepçesinin altına referans elektrot ve karşı kulak kepçesinin altına toprak elektrot yerleştirildi. Elektrot empedansları 0-3 kohm arasında olduğunda test başlatıldı (Şekil 2. 5.).

İşitsel uyarı olarak 0.1 milisaniyelik klik uyarılar ve 4 milisaniyelik (2 ms yükseliş, 0 ms plato, 2 ms düşüş) tone burst uyarıları kullanıldı. Tone burst uyarıları için 4, 8, 12, 16, 20 ve 32 kHz frekansları test edildi ve Blackman zarfı kullanıldı. 1, 2, 4 ve 8 kHz frekanslı tone burst uyarılar ve klik uyarılar insert kulaklıklar aracılığıyla, 12, 16 ve 32 kHz frekanslı tone burst uyarılar ise yüksek frekanslı hoparlörler aracılığıyla verildi (Şekil 2. 6.).



Şekil 2. 5. İUBC testinde elektrot yerleşimi gösterimi

Kayıtlar, saniyede 19.3 uyarın sunum sıklığı kullanılarak alındı ve 750 dalga formu ortalaması alındı. Kaydedilen elektriksel sinyaller 100-3000 Hz bant geçiren filtreden geçirildi. İşitme eşikleri, 80 dB SPL başlangıç şiddetinden 10 dB'lik adımlarla azaltılarak belirlendi. Dalga genliklerinin azaldığı ve işitme eşiğine yaklaşıldığı düşünülen şiddetlerde, azaltma adımı 5 dB'ye düşürüldü. II. dalganın son tespit edildiği en düşük şiddet, işitme eşiği olarak kabul edildi.



Şekil 2.6. Yüksek frekans İUBC ekipmanı

Kayıt penceresi 14 milisaniye olarak ayarlandı (uyarıdan 2 ms önce ve 12 ms sonra). İUBC testi, her bir sıçan için yaklaşık 1.5 saat sürdü (Şekil 2. 7.).

İUBC testleri, tüm gruplara gürültü maruziyetinden önce (ön test) ve gürültü maruziyetinden sonraki 1., 7. ve 21. günlerde tekrarlandı.



Şekil 2.7. İUBC testi uygulaması gösterimi

2.4. Anestezi Uygulaması

Sıçanlara genel anestezi uygulamak için 40 mg/kg Ketamin ve 10 mg/kg Xylazine karışımı intraperitoneal olarak uygulandı. Anestezik maddeler, insülin enjektörü kullanılarak verildi. Anestezi derinliği, bıyık ve pençe refleksleri izlenerek değerlendirildi. Anestezi sırasında uyanma belirtileri gösteren veya bıyık/pençe refleksleri geri dönen sıçanlara, başlangıç dozunun yarısı kadar ek bir doz Ketamin/Xylazine karışımı uygulandı.

2.5.Etken Maddelerin Verilişi

Sıçanlara, gürültü maruziyetinden sonraki ilk günden itibaren 7 gün boyunca günde bir kez 10 mg/kg İntraperitoneal yolla Astaxanthin uygulandı.

2.6.Histopatolojik İnceleme

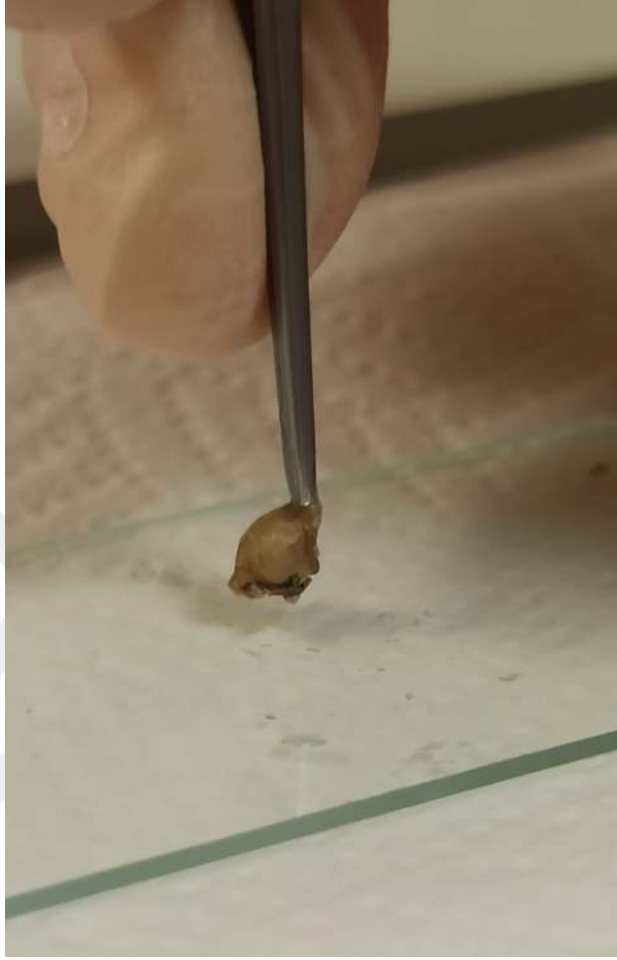
21.gün testlerinin tamamlanmasının ardından, sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi ve temporal kemikleri otik kapsülleri çıkarmak için disekse edildi. Kemik dokular, %10'luk Nötral formaldehit ile 3-5 gün fıkse edildi. 5 gün boyunca düzenli olarak fiksatif materyali değiştirildi. Kemik dokusu fiksatifin içinde asılı olarak kalana kadar devam edildi. Daha sonra, örneklerin dekalsifikasyon süreciyle devam edildi.

2.1. Formik asit-sodyum sitrat solüsyonu karşım miktarlar

Formik Asit-Sodyum Sitrat Solüsyonu:	
Solüsyon A:	Solüsyon B:
Sodyum sitrat: 50 gr	%90'lık formik asit: 125 ml
Distile su: 250 m	Distile su: 125 ml

A ve B solüsyonları eşit miktarda karışırıldı ve elde edilen karışım (Formik Asit-Sodyum Sitrat Solüsyonu) ile dekalsifikasyon işlemi yapıldı (Tablo 2.1.). İşlem süresi kemiklerin yumuşamasına kadar devam ettirildi. Dekalsifikasyon süresince solüsyon gün aşırı değiştirildi ve kemiğin yumuşaması kontrol edildi. Kemikler, solüsyon içinde asılı vaziyette kalana kadar takip edildi. Örnekler daha sonra parafin bloklara gömüldü (Şekil 2. 8.) ve 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler, Leica Application Suite yazılımına sahip bir Leica DM 6000 B mikroskobu kullanılarak analiz edildi.

Lama alınan örneklere Hematoksilen-eosin boyama ve TUNEL boyaması gerçekleştirildi.



Şekil 2.8. Kokleanın parafine gömülme açısı

2.7.İmmunohistokimyasal İnceleme (Tunel Boyama)

TUNEL tekniği kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve boyandı. Objektif bir yaklaşım sağlamak için her karede bir sayma alanı tanımlandı ve apoptotik hücre sayısının o bölgedeki toplam hücre sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla apoptotik indeks (%) ölçüldü.

TUNEL prosedürü uygulanışında öncelikle, deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Bunun için kesitler etüvde 15 dakika boyunca 65-75°C'de tutuldu. Ardından xylene ile iki kez 15 dakika (15-25°C) işlem yapıldı. Bu aşamada, bir strafor içerisine buz hazırlandı. Daha sonra rehidratasyon işlemi uygulandı. Kesitler sırasıyla %100, %96 (ilk ve ikinci), %90, %80, %70 ve %60'lık alkol serilerinden her biri için 3 dakika geçirildi ve son olarak Permeabilizasyon solüsyonunda (PBS) 3 dakika bekletildi (Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. Permeabilizasyon solüsyonu karışım miktarları

Permeabilizasyon Solüsyonu	
Madde	Miktar
Tri Na Citrate x 2H ₂ O (MW: 294,14 g) (%0,1)	0,1 g
Triton X-100	0,1 ml
Double Distile Su (DDS)	100 ml

PBS'da 2-8 dakika buz içinde tutulduktan sonra kesitler, PBS ile 2 kere yıkanarak işlemler devam etti. Bu aşamada, TUNEL Kit'in Label 1 (eflatun) solüsyonu +4°C'ye alındı. Kesitler, Citrat Buffer (Retrival solüsyonu) içerisinde (Tablo 2.3.) 750 Watt'lık mikrodalgada 45 saniye ile 1 dakika arasında tutuldu. Soğutmak için kesitler hızla buz içindeki PBS'ye konuldu ve 5 dakika bekletildi.

Tablo 2.3. Citrat buffer (retrival solüsyonu) karışım miktarları

Citrat Buffer (Retrival Solüsyonu)	
Madde	Miktar
Tri Na Citrate x 2H ₂ O (MW: 294,14 g)	5,88 g
Double Distile Su (DDS)	200 ml
HCl (10 ml HCl + 100 ml DDS)	3,55 ml

Daha sonra oda sıcaklığındaki PBS ile muamele edildi ve Blocking solüsyonunda (Normal Horse Serum %2,5, R.T.U. VECTASTAIN Universal Quick Kit, Cat No: PK 7800) humidified chamber içinde 15-25°C'de 30 dakika bekletildi. Bu aşamada TUNEL Kit hazırlandı ve buz içine konuldu.

Devamında, kesitler 2 kez PBS ile yıkandı. Daha önce hazırlanan TUNEL Reaction Kit'ten her preparat için 50 µl alındı ve karanlık humidified chamber içinde 37°C'deki etüvde 60 dakika bekletildi. Bu süreçte, POD Converter +4°C'ye alındı.

Sonraki aşamada, 5 dakika boyunca x3 PBS ile yıkama yapıldı ve preparatın suyu alındı. Ardından 50 µl POD Converter (Vial 3) eklendi, karanlık ve humidified chamber içinde 37°C'deki etüvde 30 dakika bekletildi ve x3 PBS ile tekrar yıkandı.

Prosedürün devamında DAB + Substrat eklendi (Tablo 2.4.) ve 15-25°C'de 5 dakika bekletildi. Bu işlemin ardından x3 PBS ile yıkama yapıldı. Preparatlar, 3-5 dakika boyunca Mayer Hematoksilen ile zıt boyama işlemine tabi tutuldu ve çeşme suyunda mordantlaşması sağlandı. Son olarak, xylene ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi ve preparatlar entellan ile kapatıldı.

Tablo 2. 4. Dab + substrat karışımı hazırlanışı

DAB + Substrat	
Madde	Miktar
Substrat	200 µl
DAB	10 l

2.8.İstatistiksel Analiz

Veri analizi çeşitli istatistiksel testleri içermektedir. İlk olarak, her bir zaman noktasında (ön test, 1. gün, 7. gün ve 21. gün) veri dağılımının normalliğini değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Shapiro-Wilk testi normal olmayan bir dağılım gösterdiğinden ($p<0.05$), sonraki analizlerde parametrik olmayan yöntemler kullanılmıştır. Genel grup karşılaştırmaları için Kruskal-Wallis testi seçilmiş ve her zaman noktasında kontrol ve tedavi grupları arasında ABR eşikleri ve histolojik bulgulardaki farklılıklar incelenmiştir. Gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Tüm istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) sürüm 25, International Business Machines (IBM) Corporation, Armonk, Newyork, ABD kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (ortalama $\pm$ SD) olarak sunulmuştur. İstatistiksel anlamlılık $p<0.05$ olarak belirlenmiştir

3. BULGULAR

Araştırmada, astaksantin wistar albino sıçanlarda gürültüye maruziyette etkisi analiz edildi. Gürültü verilen ve gürültü verilmeyen gruplarda İşitsel uyarılmış Beyinsapı Potansiyeli (İUBC) yanıtları, Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE), histopatolojik ve immunihistakimsal incelemeler arasındaki farklar incelendi. Testler ön test (0. Gün), 1,7,21. Günlerde tekrarlandı. Gürültü verildikten sonra etken maddenin yapılan testlerle incelendi.

3.1. DPOAE Bulguları

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon testi, f_2/f_1 frekans oranı 1.22 olan iki saf ses kullanılarak gerçekleştirildi ($f_1=65$ dB SPL, $f_2= 55$ dB SPL). Test sırasında 1, 2, 4 ve 8 kHz frekanslarındaki sinyal-gürültü oranları analiz edildi.

Ön testlerde, frekans arttıkça sinyal-gürültü oranının da arttığı gözlemlendi. En yüksek sinyal-gürültü oranı 8 kHz’de, en düşük oran ise 1 kHz’de elde edildi. Hatta birçok hayvanda 1 kHz frekansında DPOAE yanıtı alınamadı (Şekil 3.1.).

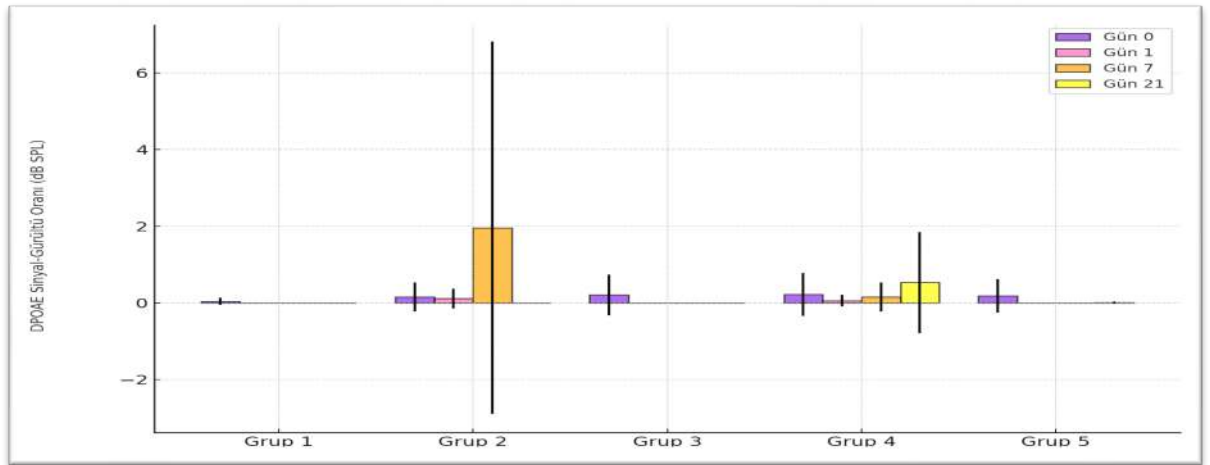
Gürültü maruziyetinden sonra, en belirgin etki 8 kHz frekansında gözlemlendi (Şekil 3.5.). Verilerin analizi sırasında, her bir zaman dilimi (0., 1., 7. Ve 21. Günlerde) için gruplar arası ve gruplar içi karşılaştırmalar yapıldı.

Tüm zamanlar için (0., 1., 7. Ve 21. Günlerde) için tüm frekanslarda, deney grupları arasında bir fark olup olmadığını tespit etmek için Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Farklı frekanslar için elde edilen test sonuçlarının p değerleri tablolatırılmıştır. P değeri 0.05 eşik değerinden küçük çıkan sonuçlar anlamlı fark olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3.1. 1 khz’de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

1 kHz				
	0. gün	1. gün	7. gün	21. gün
Grup 1	0.04 ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Grup 2	0.15 ± 0.38	0.11 ± 0.26	1.96 ± 4.86	0.00 ± 0.00
Grup 3	0.21 ± 0.53	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Grup 4	0.22 ± 0.56	0.06 ± 0.15	0.15 ± 0.38	0.53 ± 1.32
Grup 5	0.18 ± 0.44	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.03
$p^{Grup\ 2,3,5}$	1.00	0.37	0.37	0.37
$p^{Grup\ 1,4}$	0.97	0.74	0.74	0.74

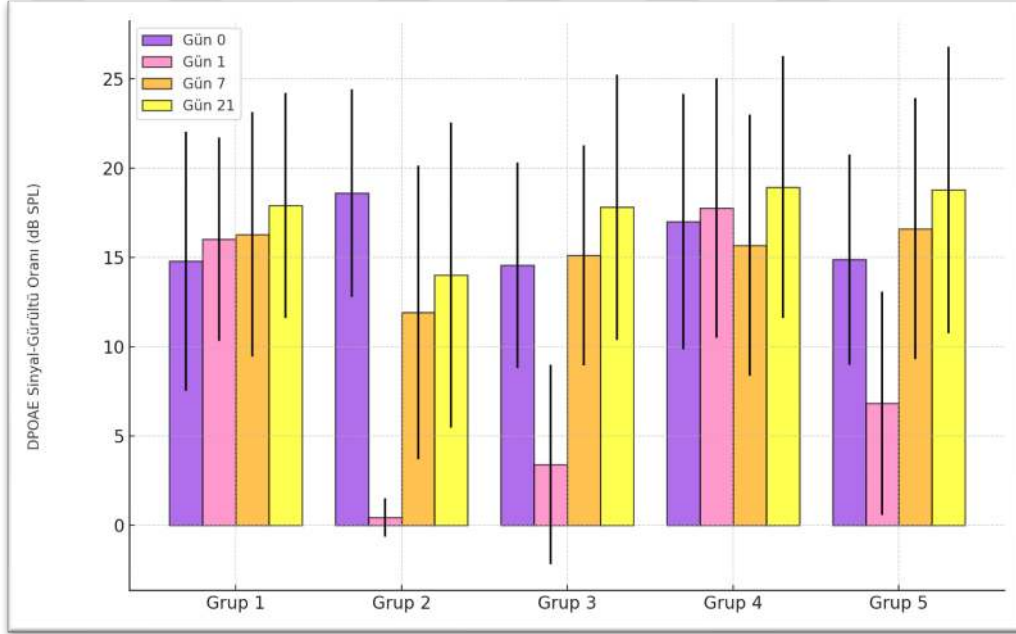
Tablo 3.1. teki sonuçlara göre, 0., 1., 7. Ve 21. Günlerde 1 Khz gürültü verilen gruplarda (2,3, ve 5. Gruplar) da gürültü verilmeyen gruplarda (1 ve 4. Gruplar) da gruplar arasında fark bulunmamıştır. (Şekil 3.1)



Şekil 3.1 1 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Tablo 3.2. 2 khz’de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

2 kHz				
	0. gün	1. gün	7. gün	21. gün
Grup 1	14.79 ± 7.24	16.02 ± 5.69	16.30 ± 6.84	17.91 ± 6.30
Grup 2	18.61 ± 5.82	0.44 ± 1.08	11.92 ± 8.23	14.02 ± 8.55
Grup 3	14.58 ± 5.76	3.40 ± 5.58	15.13 ± 6.16	17.82 ± 7.42
Grup 4	17.01 ± 7.16	17.76 ± 7.26	15.69 ± 7.31	18.94 ± 7.33
Grup 5	14.88 ± 5.89	6.84 ± 6.24	16.62 ± 7.32	18.78 ± 8.03
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.13	0.017*	0.38	0.30
$p^{Grup\ 1,4}$	0.35	0.35	0.85	0.44



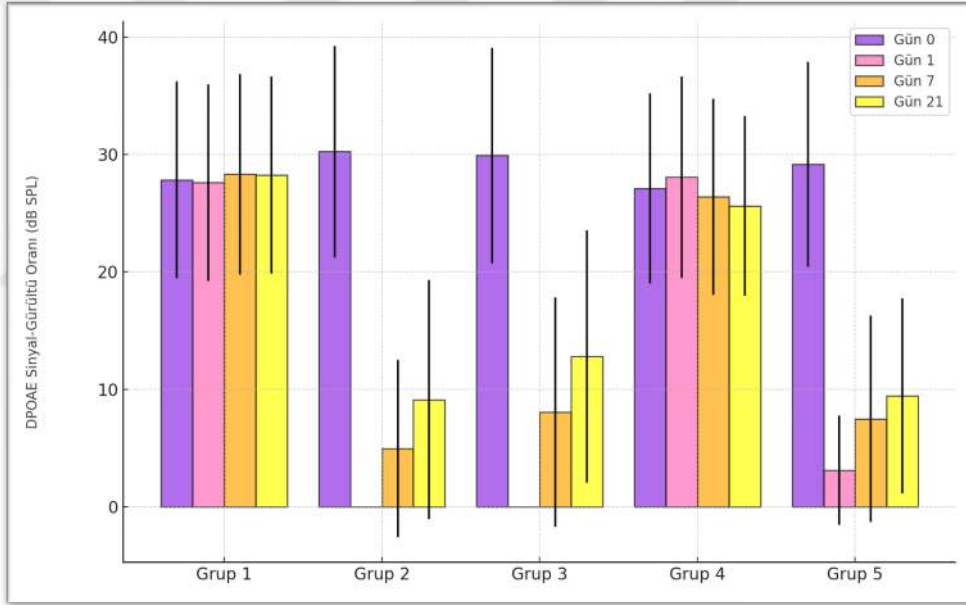
Şekil 3.2. 2 kHz’de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Tablo 3.2.’teki ve şekil 3.2.’teki sonuçlara göre, 2 kHz gürültü uygulanan gruplar (2, 3 ve 5) ile kontrol grupları (1 ve 4) karşılaştırıldığında, 0., 7. Ve 21. Günlerdeki verilere göre anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Bu bulgu hem tablo hem de şekil verileriyle uyumludur. Ancak, gürültü uygulamasının hemen ardından, yani 1. Gün, gürültüye maruz kalan gruplarda belirgin bir farklılık ortaya çıkmıştır. Şekil 3.2. üzerinde yapılan detaylı

incelemeler, etken maddenin verildiği günden itibaren SGO'da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış eğilimi olduğunu göstermiştir.

Tablo 3.3. 4 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

4 kHz				
	0. gün	1. gün	7. gün	21. gün
Grup 1	27.83 ± 8.37	27.59 ± 8.36	28.30 ± 8.54	28.23 ± 8.40
Grup 2	30.24 ± 8.99	0.00 ± 0.00	4.94 ± 7.55	9.13 ± 10.18
Grup 3	29.90 ± 9.16	0.00 ± 0.00	8.07 ± 9.77	12.79 ± 10.73
Grup 4	27.11 ± 8.10	28.06 ± 8.57	26.38 ± 8.34	25.61 ± 7.65
Grup 5	29.16 ± 8.71	3.11 ± 4.65	7.49 ± 8.79	9.43 ± 8.30
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.93	0.04*	0.95	0.66
$p^{Grup\ 1,4}$	0.91	0.74	0.28	0.08

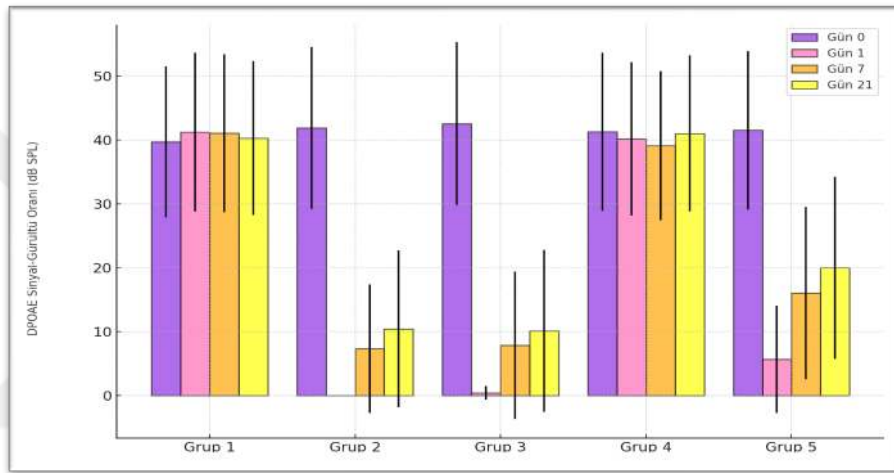


Şekil 3.3. 4 kHz'de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Tablo 3.3.'teki ve şekil 3.3.'teki sonuçlara göre; 0., 7. Ve 21. Günlerde 4 kHz gürültü uygulanan gruplar (2, 3 ve 5) ile kontrol grupları (1 ve 4) arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Ancak, gürültü uygulamasının hemen ardından, yani 1. Gün, gürültüye maruz kalan gruplarda belirgin bir farklılık gözlemlenmiştir. Şekil 3.3. Üzerinde yapılan detaylı incelemelerde, etken maddenin verildiği günden itibaren SGO'da anlamlı olmasa da artış eğilimi olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.4. 6 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

6 kHz				
	0. gün	1. gün	7. gün	21. gün
Grup 1	39.72 ± 11.83	41.26 ± 12.40	41.09 ± 12.38	40.34 ± 12.05
Grup 2	41.91 ± 12.68	0.00 ± 0.00	7.34 ± 10.06	10.45 ± 12.29
Grup 3	42.58 ± 12.77	0.44 ± 1.08	7.88 ± 11.56	10.15 ± 12.67
Grup 4	41.33 ± 12.38	40.22 ± 12.01	39.12 ± 11.67	41.05 ± 12.24
Grup 5	41.53 ± 12.38	5.71 ± 8.39	16.05 ± 13.49	20.02 ± 14.26
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.85	0.044*	0.30	0.15
$p^{Grup\ 1,4}$	0.22	0.28	0.14	0.91

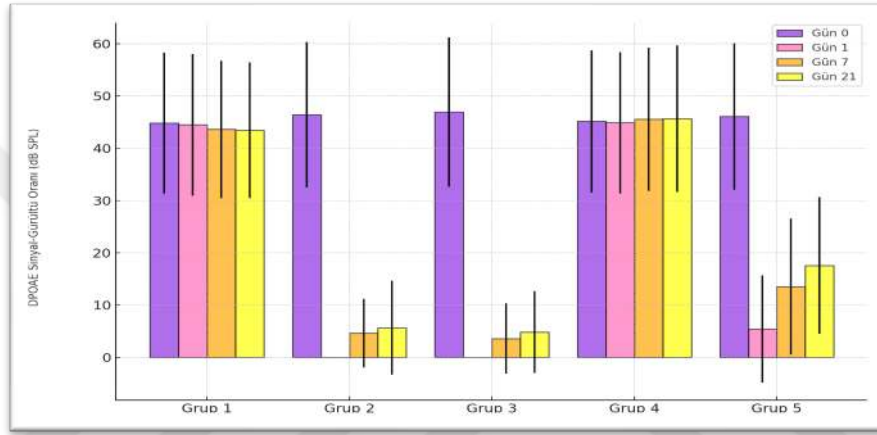


Şekil 3.4. 6 kHz'de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Tablo 3.4. 'teki ve şekil 3.4.'teki sonuçlara göre; 6 kHz gürültüye maruz bırakılan grupların (2, 3 ve 5) analizleri, 0., 7. Ve 21. Günlerde kontrol gruplarıyla (1 ve 4) karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık ortaya koymamıştır. Bu sonuçlar hem tablo hem de şekil verileriyle desteklenmektedir. Bununla birlikte, gürültü uygulamasının hemen ardından, yani 1. Gün, gürültüye maruz kalan gruplarda belirgin bir farklılık gözlemlenmiştir. Şekil üzerinde yapılan detaylı incelemeler, etken maddenin verildiği günden itibaren SGO'da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış eğilimi olduğunu göstermiştir.

Tablo 3.5. 8 khz'de DPOAE sinyal gürültü oranlarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

8 kHz				
	0. gün	1. gün	7. gün	21. gün
Grup 1	44.80 ± 13.47	44.48 ± 13.54	43.61 ± 13.14	43.45 ± 12.99
Grup 2	46.43 ± 13.91	0.00 ± 0.00	4.62 ± 6.57	5.66 ± 8.99
Grup 3	46.93 ± 14.26	0.00 ± 0.00	3.60 ± 6.70	4.81 ± 7.82
Grup 4	45.13 ± 13.59	44.88 ± 13.53	45.55 ± 13.71	45.64 ± 14.02
Grup 5	46.07 ± 14.00	5.41 ± 10.27	13.52 ± 13.01	17.57 ± 13.10
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.63	0.04*	0.12	0.028*
$p^{Grup\ 1,4}$	0.74	0.85	0.12	0.14

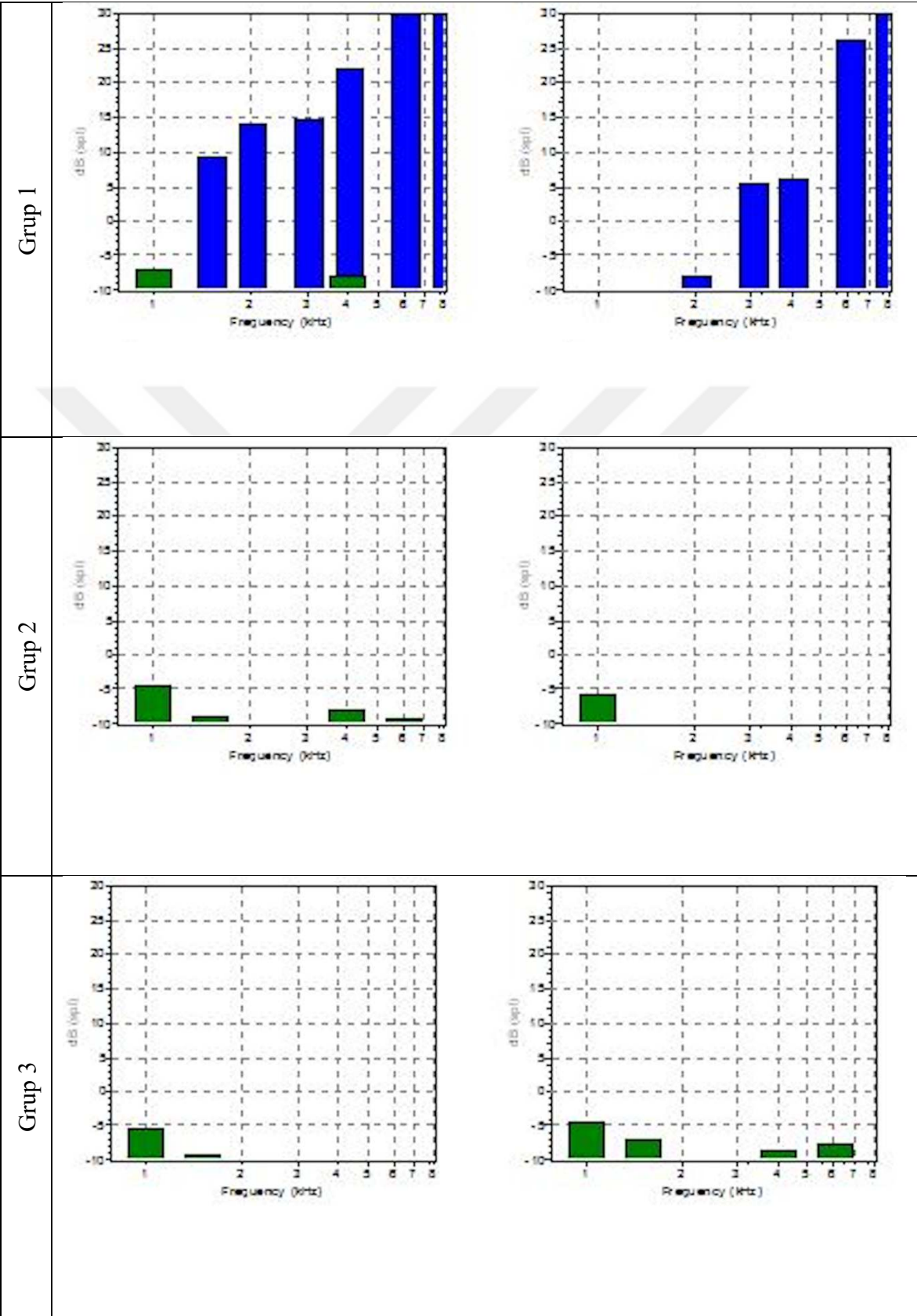


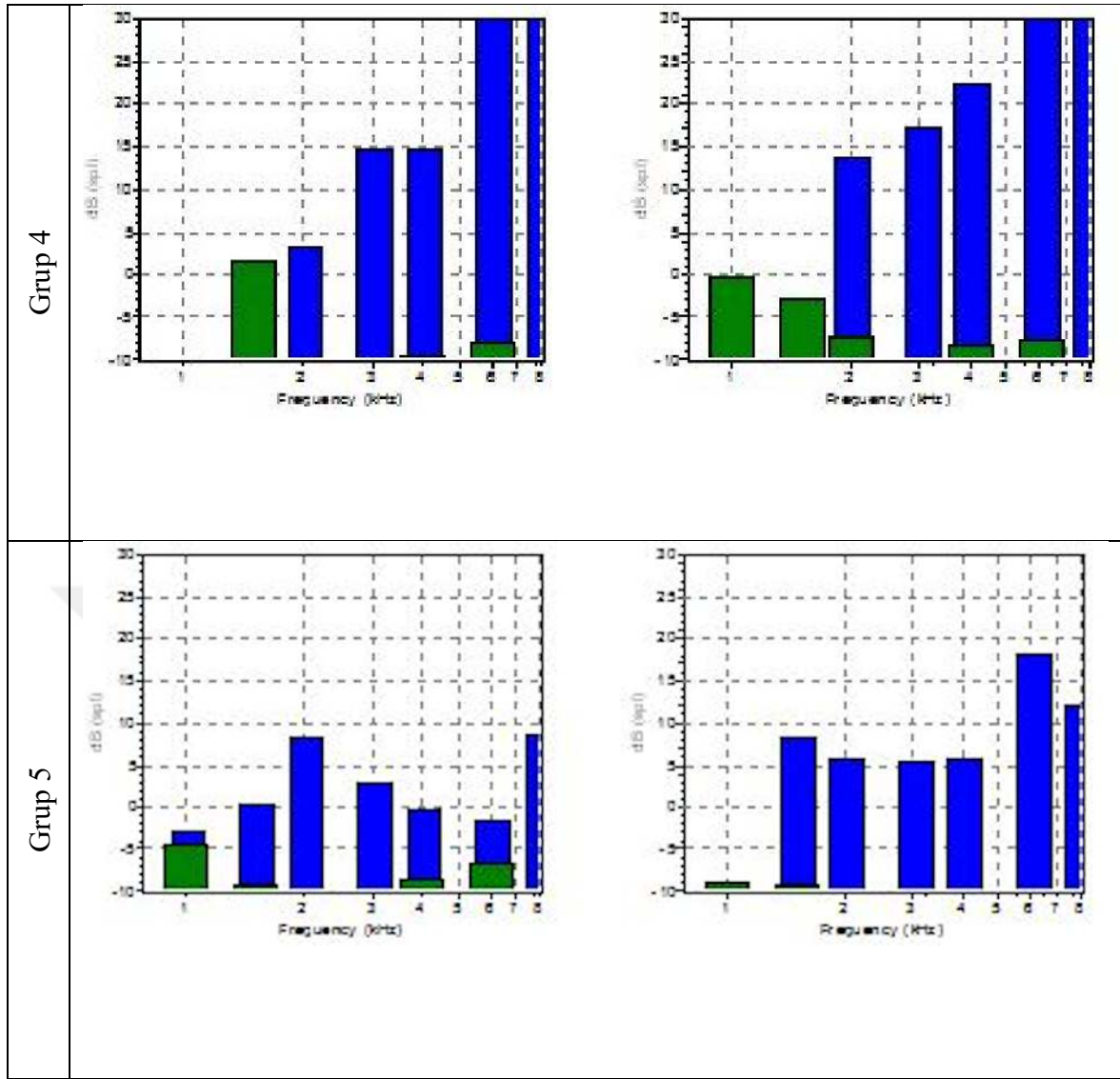
Şekil 3.5. 8 kHz'de tüm gruplarda DPOAE sinyal gürültü oranlarının ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

8 kHz gürültüye maruz bırakılan gruplar (2, 3 ve 5) ile kontrol grupları (1 ve 4) karşılaştırıldığında, 0. Ve 7. Günlerdeki ölçümler anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Ancak hem tablo hem de şekil verilerine göre, gürültü uygulamasından hemen sonra (1. Gün) ve deneyin sonunda (21. Gün) gürültü gruplarında belirgin bir farklılık ortaya çıkmıştır. Şekil üzerinde yapılan detaylı incelemeler, etken maddenin verilmesini takiben 1. Günden itibaren 21. Güne kadar, 7. Gün de dahil olmak üzere, SGO'da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış eğilimi olduğunu göstermiştir.

Sol kulak

Sağ kulak





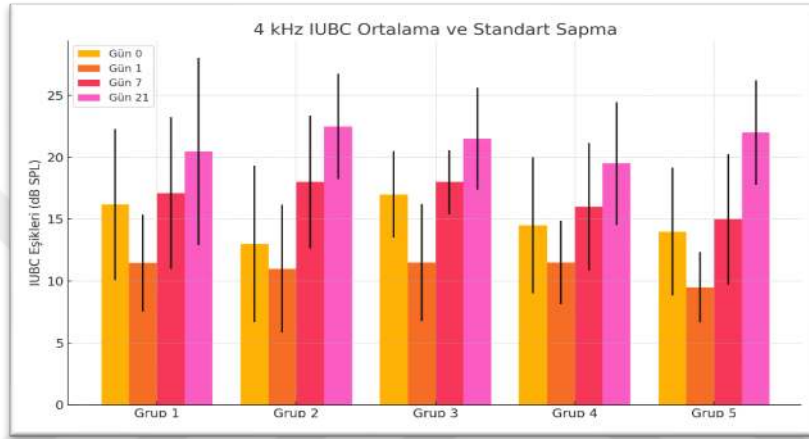
Şekil 3.6. 21. Günde gruplara DPOAE sinyal gürültü oranları gösterimi

3.2. İUBC Bulguları

İUBC, 1. 7. ve 21. Günlerde 4 Khz, 8 Khz, 12 Khz, 16 Khz ve 32 Khz frekanlarında tone burst uyaran ile yapılan İUBC testinin sonuçları gürültü verilen deney grupları (2,3,5) arasında bir fark olup olmadığını tespit etmek için Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Benzer şekilde 1. 7. ve 21. günler için tüm frekanslarda, gürültü verilmeyen deney grupları (1, 4) arasında bir fark olup olmadığını tespit etmek için Mann Whitney u testi kullanılmıştır. p değeri 0.05 eşik değerinden küçük çıkan sonuçlar anlamlı fark olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir.

Tablo 3.6. 4 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

4 kHz				
	GÜN 0	GÜN 1	GÜN 7	GÜN 21
Grup 1	16.19 ± 6.09	11.46 ± 3.91	17.11 ± 6.13	20.47 ± 7.56
Grup 2	13.0 ± 6.32	11.0 ± 5.16	18.0 ± 5.37	22.5 ± 4.25
Grup 3	17.0 ± 3.5	11.5 ± 4.74	18.0 ± 2.58	21.5 ± 4.12
Grup 4	14.5 ± 5.5	11.5 ± 3.37	16.0 ± 5.16	19.5 ± 4.97
Grup 5	14.0 ± 5.16	9.5 ± 2.84	15.0 ± 5.27	22.0 ± 4.22
$p_{Grup\ 2,3,5}$	0.157	0.004*	0.001*	0.006*
$p_{Grup\ 1,4}$	0.75	0.218	0.89	0.218



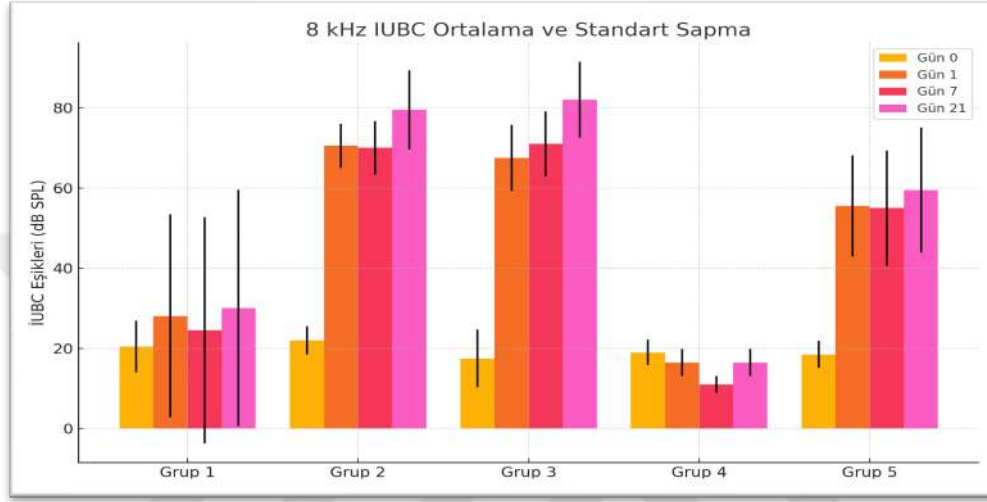
Şekil 3.7. 4 kHz'de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Tablo 3.6.'teki ve şekil 3.7. teki sonuçlara göre; 4 kHz gürültüye maruz bırakılan grupların (2, 3 ve 5) analizleri, 0. günde kontrol gruplarıyla (1 ve 4) karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık ortaya bulunmamıştır. Fakat 1. 7. ve 21. günler için tüm frekanslarda, gürültüye maruz bırakılan grupların (2, 3 ve 5) analizleri, 0. günde kontrol gruplarıyla (1 ve 4) arasında anlamlı fark edilmiştir.

Tablo 3.7. 8 khz'de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

8 kHz				
	GÜN 0	GÜN 1	GÜN 7	GÜN 21
Grup 1	20.49 ± 6.47	28.09 ± 25.29	24.51 ± 28.19	30.09 ± 29.43

Grup 2	22.0 ± 3.5	70.5 ± 5.5	70.0 ± 6.67	79.5 ± 9.85
Grup 3	17.5 ± 7.17	67.5 ± 8.25	71.0 ± 8.1	82.0 ± 9.49
Grup 4	19.0 ± 3.16	16.5 ± 3.37	11.0 ± 2.11	16.5 ± 3.37
Grup 5	18.5 ± 3.37	55.5 ± 12.57	55.0 ± 14.34	59.5 ± 15.54
$p_{Grup\ 2,3,5}$	0.684	0.002*	0.0011*	0.005*
$p_{Grup\ 1,4}$	0.853	0.28	0.853	0.247



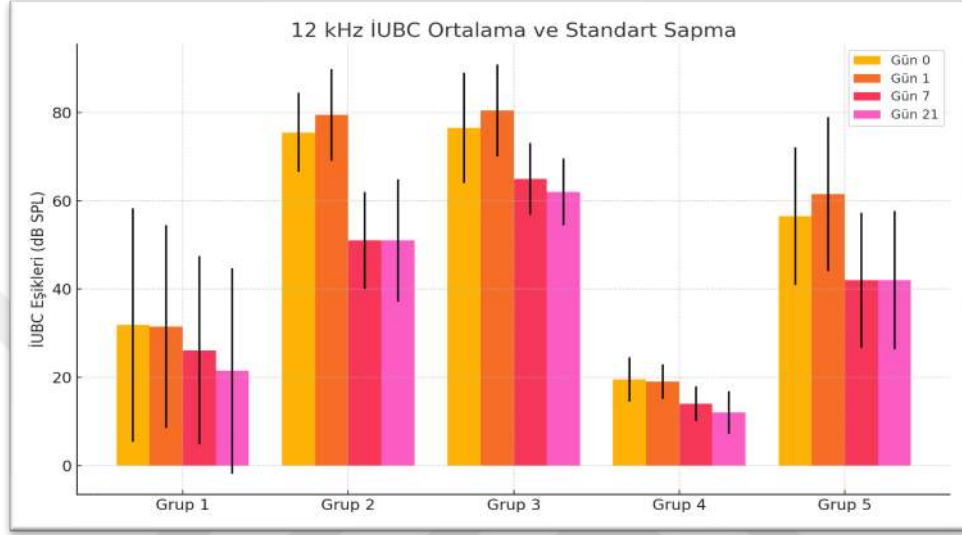
Şekil 3.8. 8 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

Tablo 3.7. teki ve şekil 3.8.’teki sonuçlara göre;8 kHz gürültüye maruz bırakılan gruplar (2, 3 ve 5) ile kontrol grupları (1 ve 4) arasında, deney öncesi ölçümlerde (0. gün) anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak, gürültü uygulamasını takiben 1., 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümlerde, gürültüye maruz kalan gruplar ile kontrol grupları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Bu bulgular hem tablo hem de şekil verileriyle uyumludur.

Tablo 3.8. 12 khz’de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

12 kHz				
	GÜN 0	GÜN 1	GÜN 7	GÜN 21
Grup 1	31.83 ± 26.44	31.48 ± 23.0	26.1 ± 21.36	21.42 ± 23.32

Grup 2	75.5 ± 8.96	79.5 ± 10.39	51.0 ± 11.01	51.0 ± 13.9
Grup 3	76.5 ± 12.48	80.5 ± 10.39	65.0 ± 8.16	62.0 ± 7.53
Grup 4	19.5 ± 4.97	19.0 ± 3.94	14.0 ± 3.94	12.0 ± 4.83
Grup 5	56.5 ± 15.64	61.5 ± 17.49	42.0 ± 15.31	42.0 ± 15.67
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.342	0.001*	0.001*	0.004*
$p^{Grup\ 1,4}$	0.165	0.218	0.393	0.579



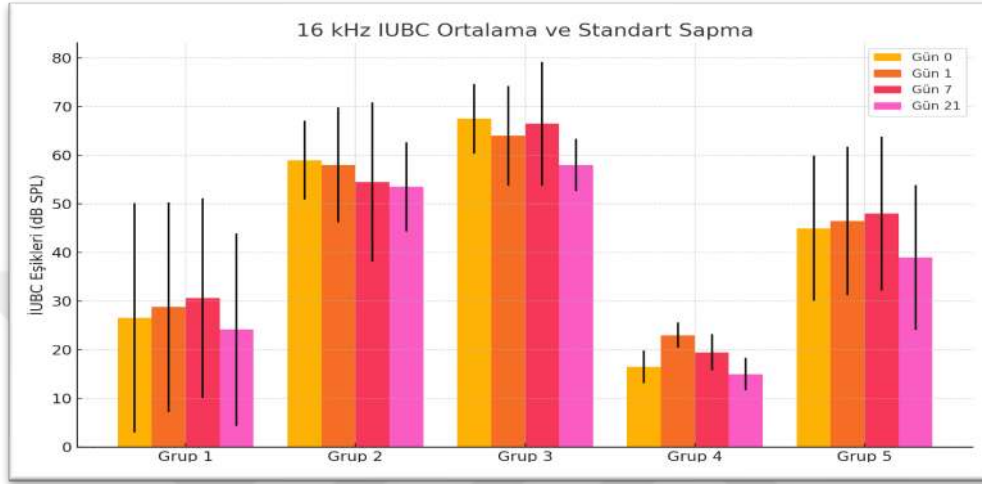
Şekil 3.9. 12 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

12 kHz gürültüye maruz kalan gruplar (2, 3 ve 5), kontrol gruplarıyla (1 ve 4) deney öncesi dönemde (0. gün) karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Ancak gürültü uygulamasının ardından, 1., 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümlerde, gürültüye maruz kalan gruplar ile kontrol grupları arasında belirgin farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu farklılıklar, hem tablo verilerinde hem de şekillerde gözlemlenmektedir.

Tablo 3.9. 16 khz’de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

16 kHz				
	GÜN 0	GÜN 1	GÜN 7	GÜN 21
Grup 1	26.56 ± 23.58	28.78 ± 21.53	30.62 ± 20.48	24.17 ± 19.8

Grup 2	59.0 ± 8.1	58.0 ± 11.83	54.5 ± 16.41	53.5 ± 9.14
Grup 3	67.5 ± 7.17	64.0 ± 10.22	66.5 ± 12.7	58.0 ± 5.37
Grup 4	16.5 ± 3.37	23.0 ± 2.58	19.5 ± 3.69	15.0 ± 3.33
Grup 5	45.0 ± 14.91	46.5 ± 15.28	48.0 ± 15.85	39.0 ± 14.87
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.911	0.005*	0.030*	0.004*
$p^{Grup\ 1,4}$	0.28	0.436	0.631	0.796



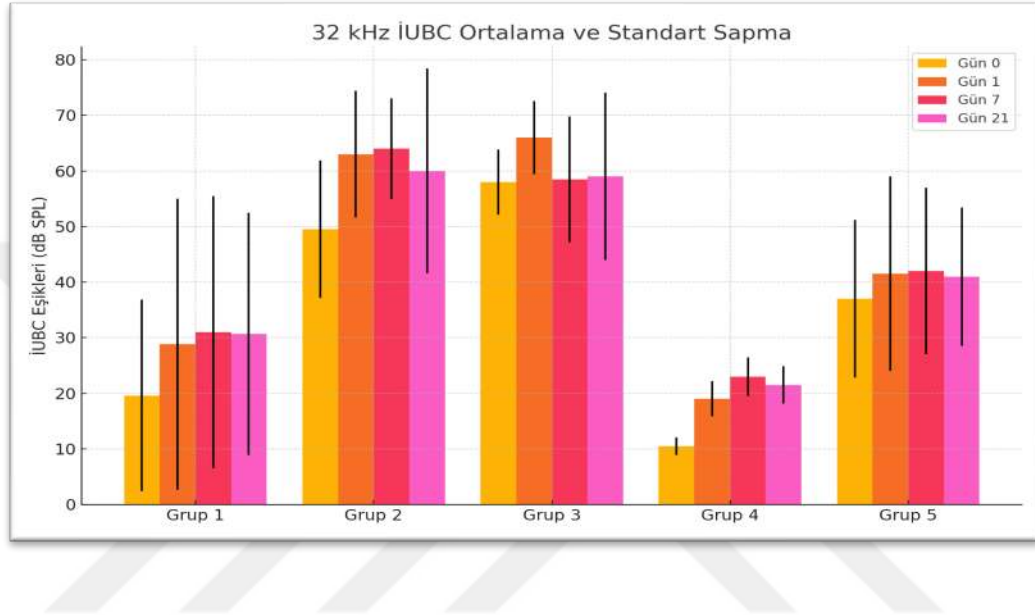
Şekil 3.10. 16 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

16 kHz gürültüye maruz bırakılan gruplar (2, 3 ve 5) ile kontrol grupları (1 ve 4) arasında, deneyin başlangıç noktasında (0. gün) anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak 1., 7. ve 21. günlerde, yani gürültü uygulamasının ardından yapılan ölçümlerde, gürültüye maruz kalan gruplar ile kontrol grupları arasında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Bu farklılıklar hem tablo verilerinde hem de şekil üzerinde açıkça görülmektedir.

Tablo 3.10. 32 khz’de İUBC eşik değerlerinin tüm gruplarda ortalama ve standart sapma değerleri gösterimi

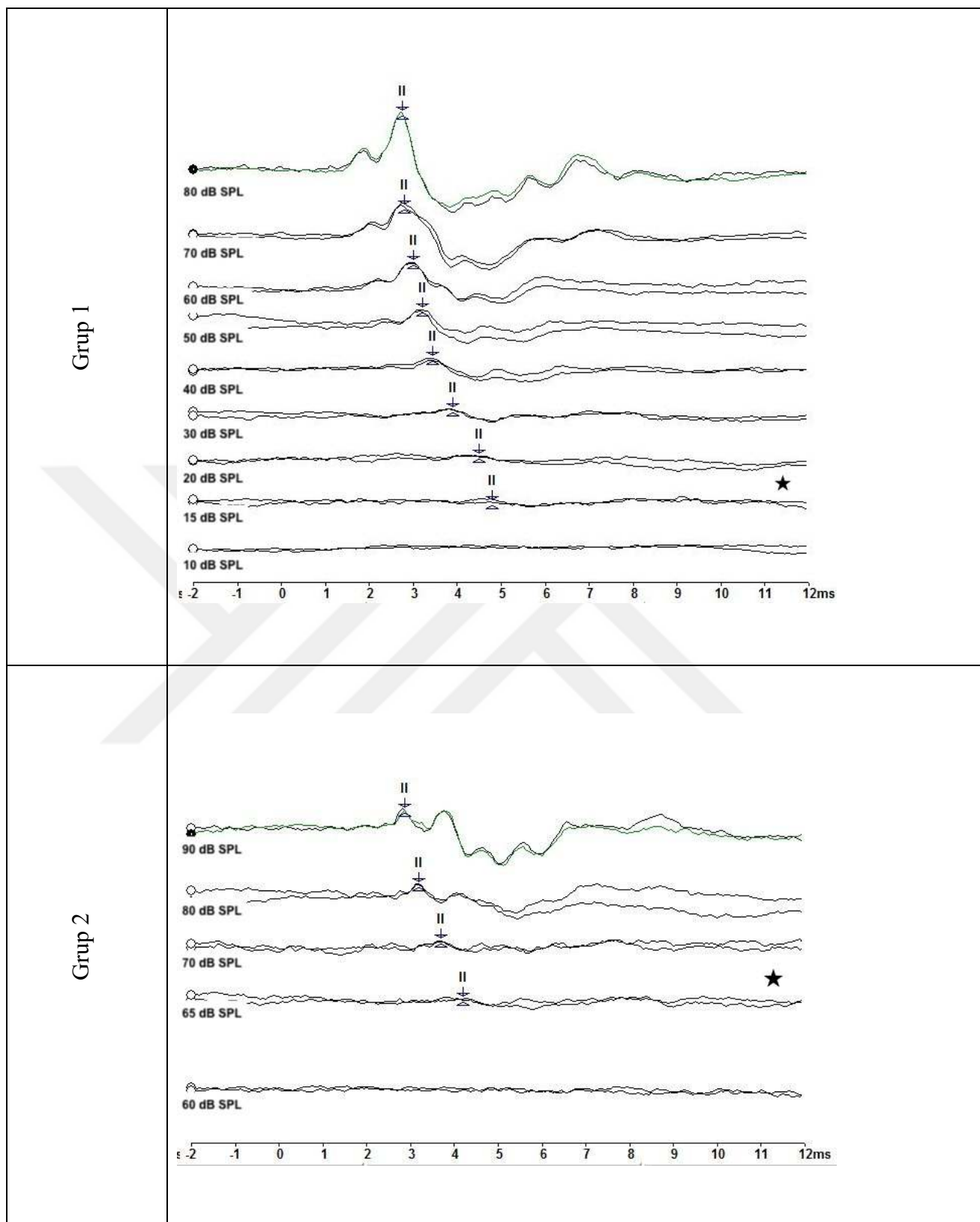
32 kHz				
	GÜN 0	GÜN 1	GÜN 7	GÜN 21
Grup 1	19.6 ± 17.24	28.83 ± 26.19	30.97 ± 24.45	30.68 ± 21.8

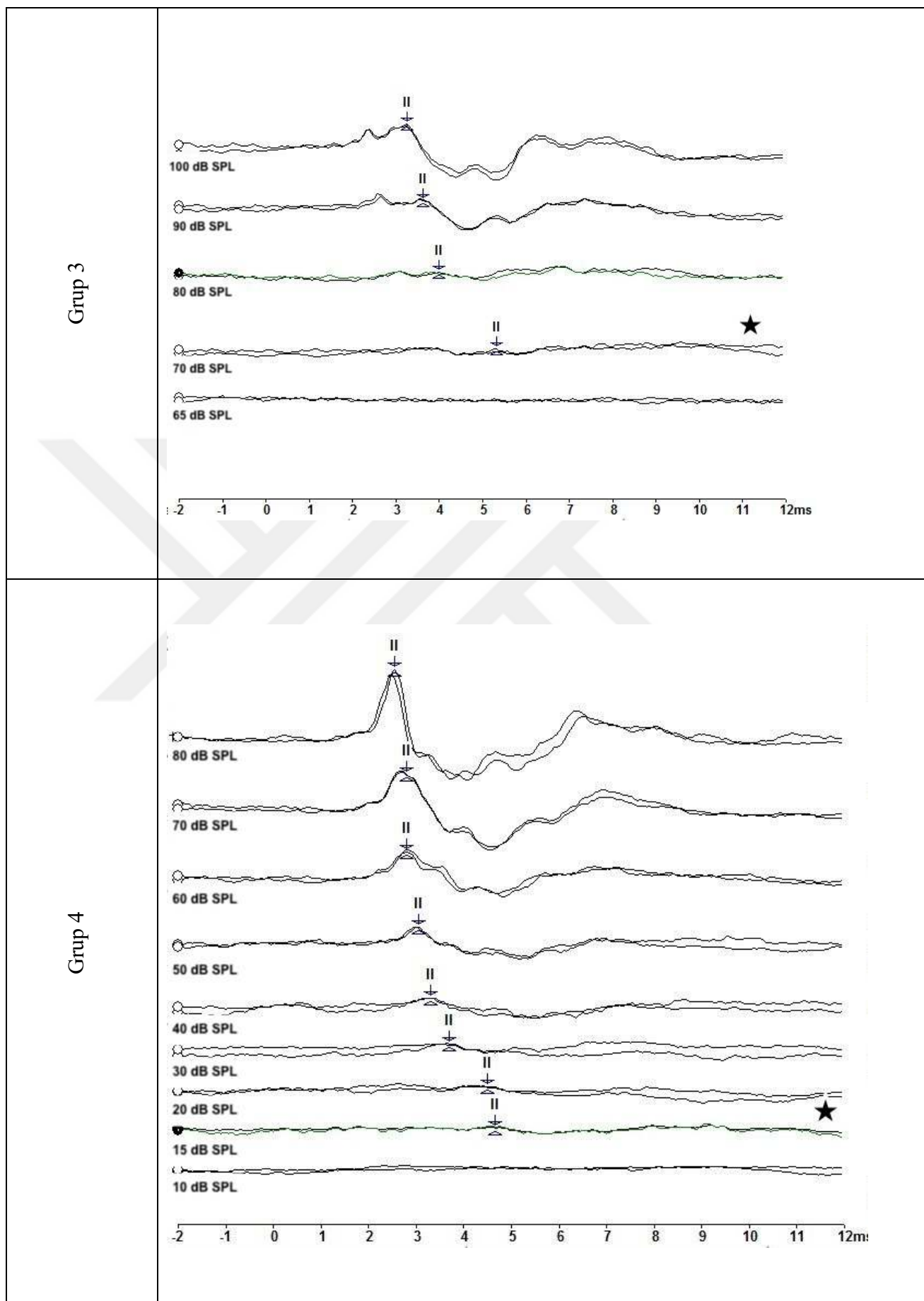
Grup 2	49.5 ± 12.35	63.0 ± 11.35	64.0 ± 9.07	60.0 ± 18.41
Grup 3	58.0 ± 5.87	66.0 ± 6.58	58.5 ± 11.32	59.0 ± 15.06
Grup 4	10.5 ± 1.58	19.0 ± 3.16	23.0 ± 3.5	21.5 ± 3.37
Grup 5	37.0 ± 14.18	41.5 ± 17.49	42.0 ± 14.94	41.0 ± 12.43
$p_{Grup\ 2,3,5}$	0.057	0.007*	0.016*	0.021*
$p_{Grup\ 1,4}$	0.143	0.63	0.19	0.971

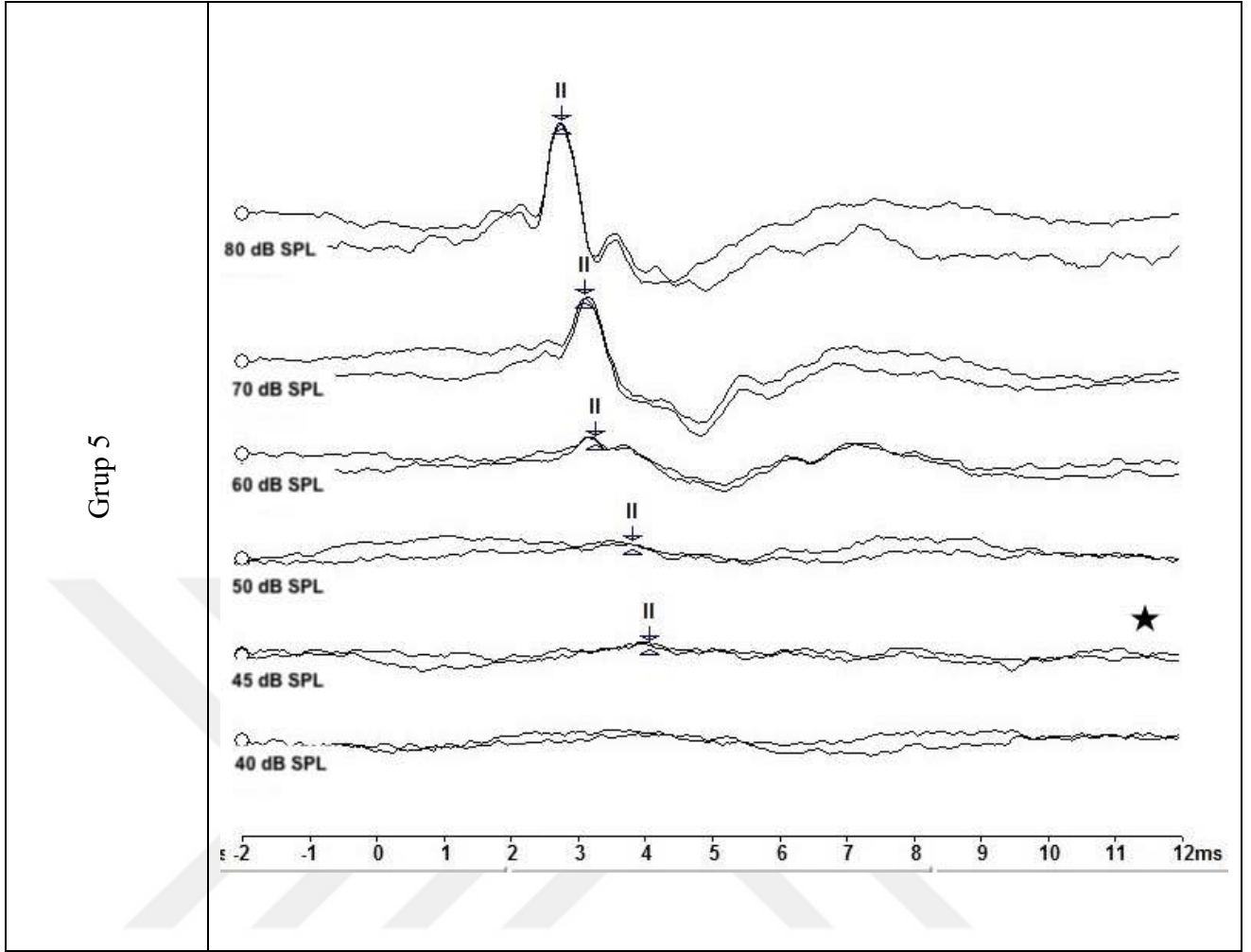


Şekil 3.11. 32 kHz’de İUBC cevaplarının tüm gruplarda ortalama ve standart sapma grafiksel gösterimi

32 kHz gürültüye maruz bırakılan gruplar (2, 3 ve 5) ile kontrol grupları (1 ve 4) arasında yapılan başlangıç ölçümleri (0. gün) anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Ancak gürültü uygulamasının ardından, 1., 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümlerde, gürültüye maruz kalan gruplar ile kontrol grupları arasında belirgin farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu farklılıklar hem tablo verilerinde hem de şekillerde gözlemlenebilmektedir.



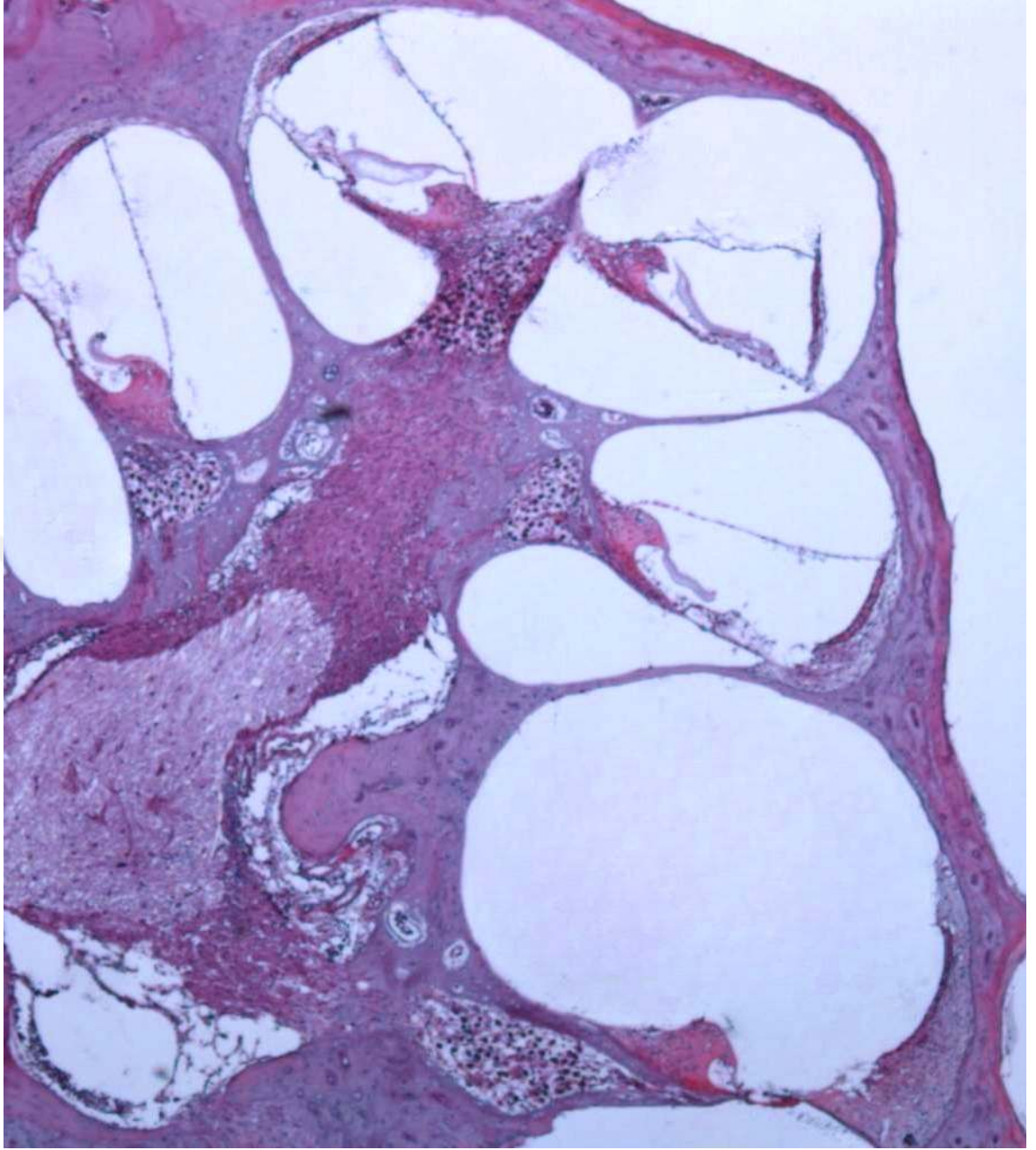




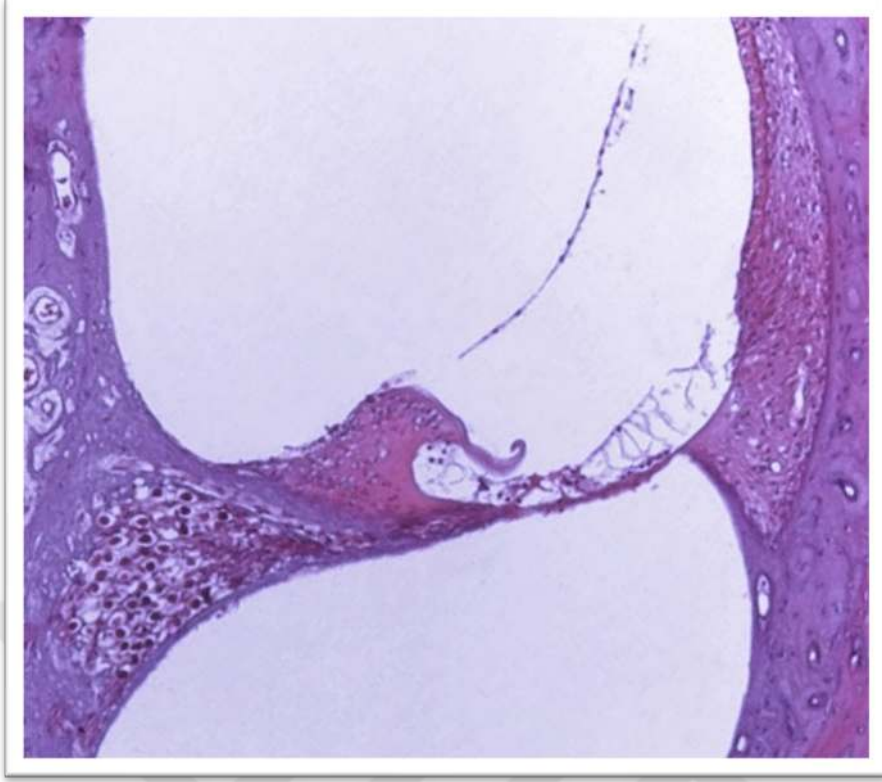
Şekil 3.12. Gruplara göre 21. Günde 8 kHz’de İUBC dalga morfolojisi ve eşik değeri gösterimi

3.3. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları

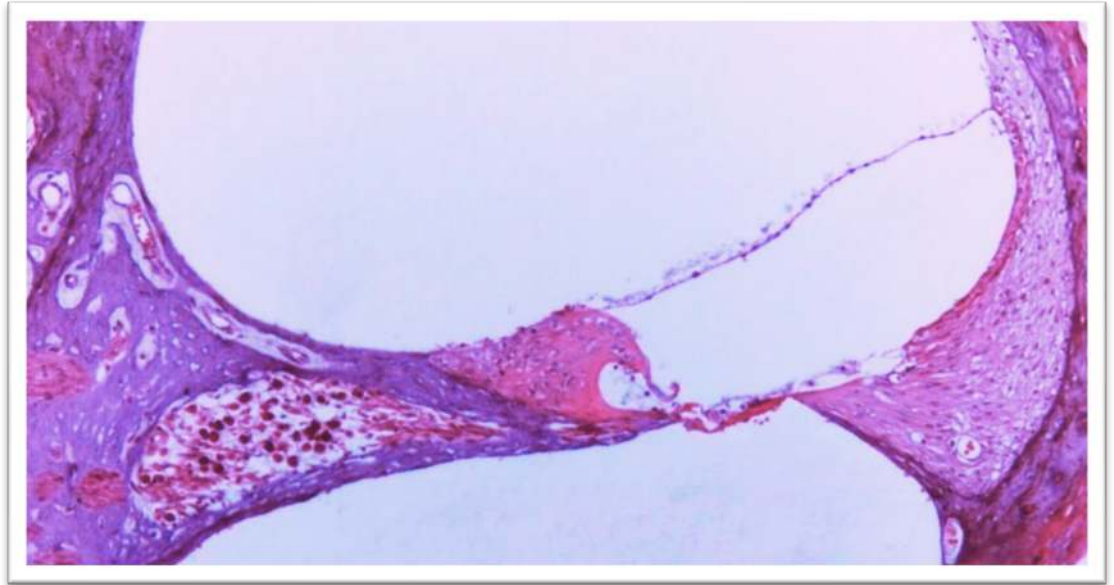
Histolojik inceleme amacıyla, her bir denek hayvandan alınan iki koklea örneği de diseke edildi. Rutin doku işleme ve takip protokollerinin ardından, koklea kesitlerinin genel yapısı başarılı bir şekilde gözlemlendi. Çalışmada, kokleanın farklı bölgelerini temsil eden kesitler seçildi: bazal bölge için 1. Corti, orta bölge için 2. ve 3. Corti, apikal bölge için ise 4. ve 5. Corti kesitleri değerlendirildi. Hazırlanan kesitler, Hematoksilen-Eosin ve TUNEL boyama yöntemleri kullanılarak boyandı ve detaylı analizlere tabi tutuldu.



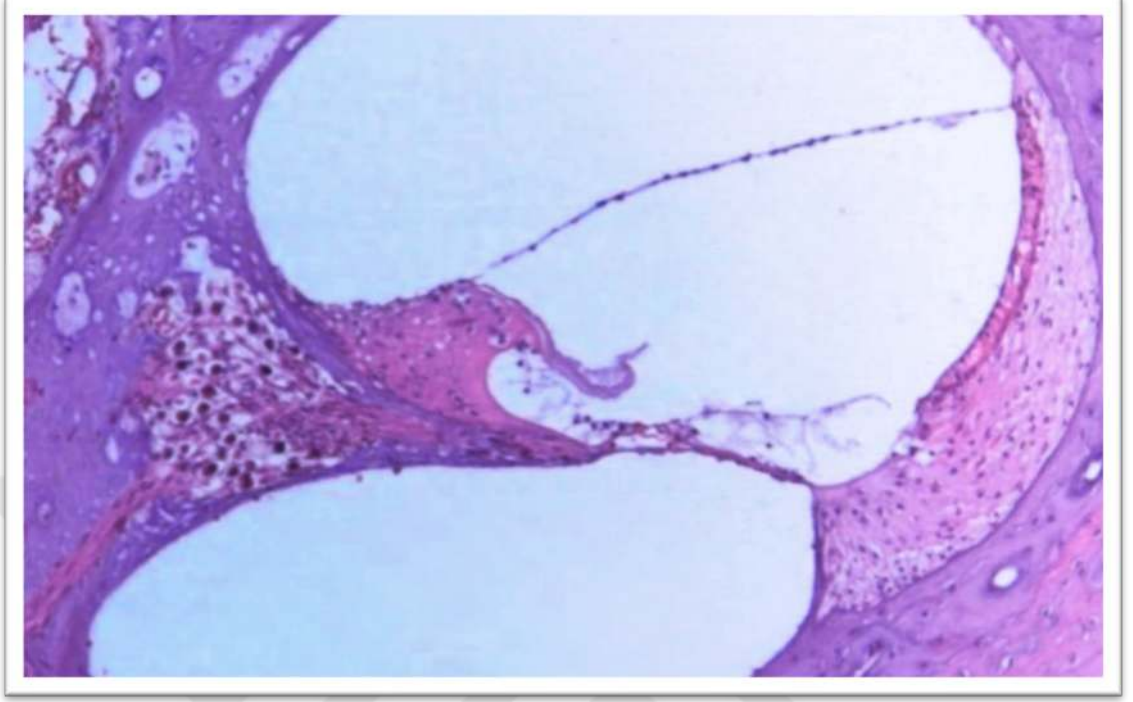
Şekil 3.13. Normal işiten (Grup 1) korti örneği gösterimi (10x)



Şekil 3.14. Sadece SF verilen grupta (Grup 1) korti örneği gösterimi (20x)



Şekil 3.15. Gürültü verilen grupta (Grup 2) korti örneği gösterimi (20x)



Şekil 3.16. Gürültü ve Astaksantin verilen (Grup 5) korti örneği gösterimi (20x)

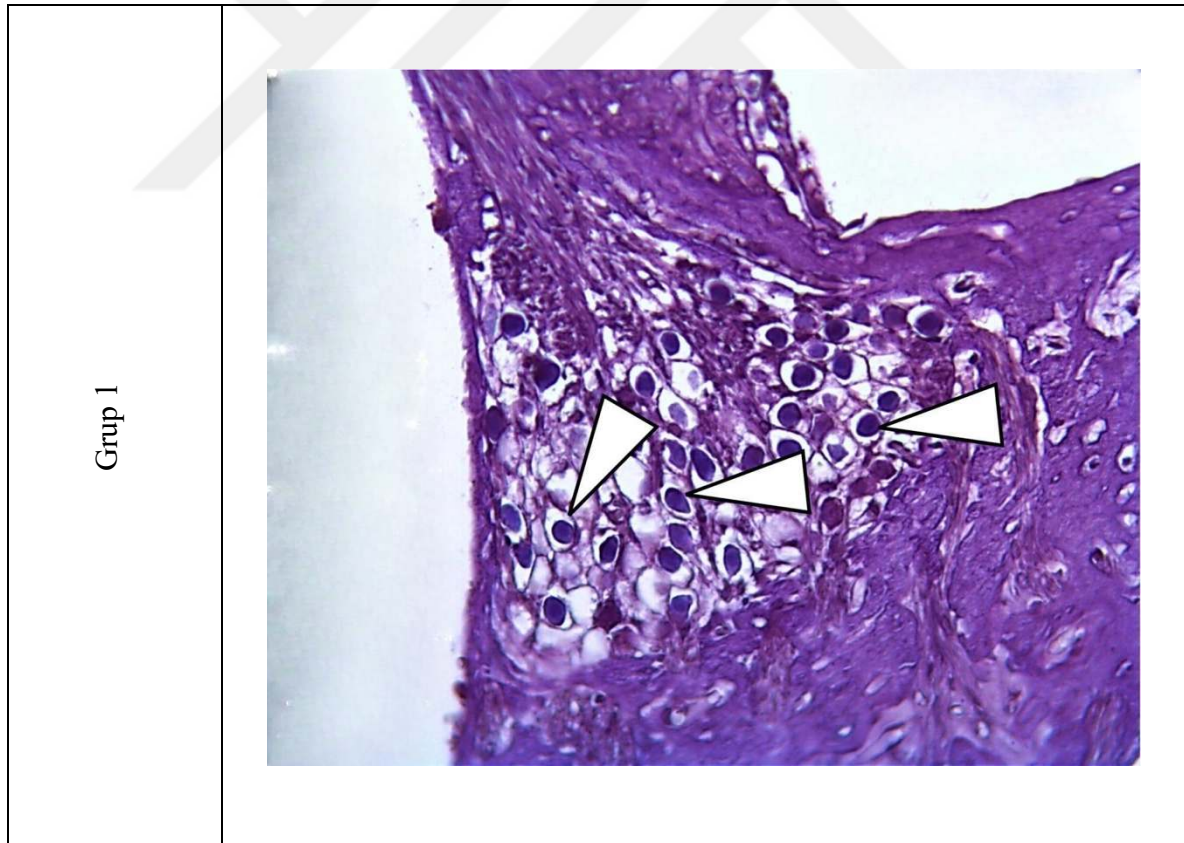
Hematoksilen-Eosin boyamada morfolojik olarak gruplara arasında fark gözlenmemiştir.

Corti 1 için tüm indekslerde, deney grupları arasında bir fark olup olmadığını tespit etmek için Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Farklı indeksler için elde edilen test sonuçlarının p değerleri tablolastırılmıştır. p değeri 0.05 eşik değerinden küçük çıkan sonuçlar anlamlı fark olarak değerlendirilmiştir.

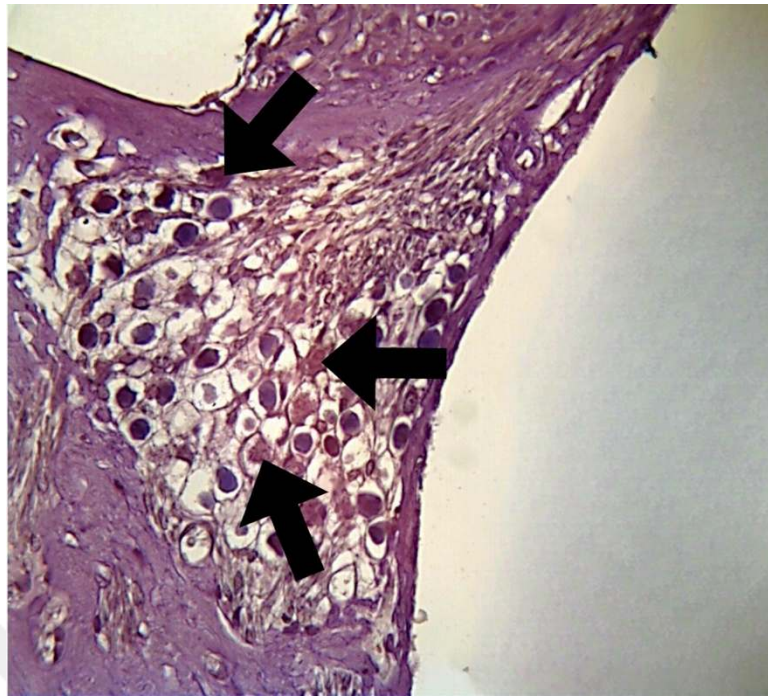
Tablo 3.11. Spiral ganglion (apoptatik indeks ortalamaları)

GRUP	Spiral Ganglion (Apoptatik İndeks Ortalamaları)		
	bazal %	orta %	apikal %
1	1.25	1.63	1.63
2	7.86	7.71	6.86
3	7.78	8.00	9.11
4	1.63	1.75	2.00
5	6.5	6.17	5.00
$p^{Grup\ 1,4}$	0.38	0.721	0.57
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.000*	0.000*	0.001*

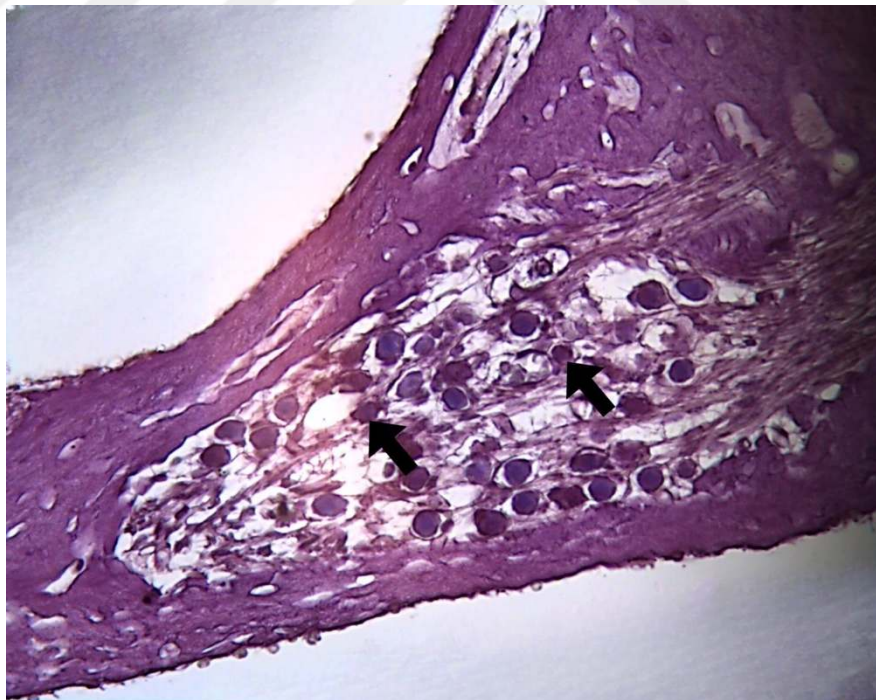
Tablo 3.11. 'deki sonuçlara göre; spiral ganglionda Tunel boyama ile yapılan incelemeler apoptotik indeks ortalamalarında, 1. ve 4. Gruplarda fark gözlenmezken, 2., 3. Ve 5. Gruplarda bazal, orta ve apikal bölgelerde anlamlı fark bulunmuştur.

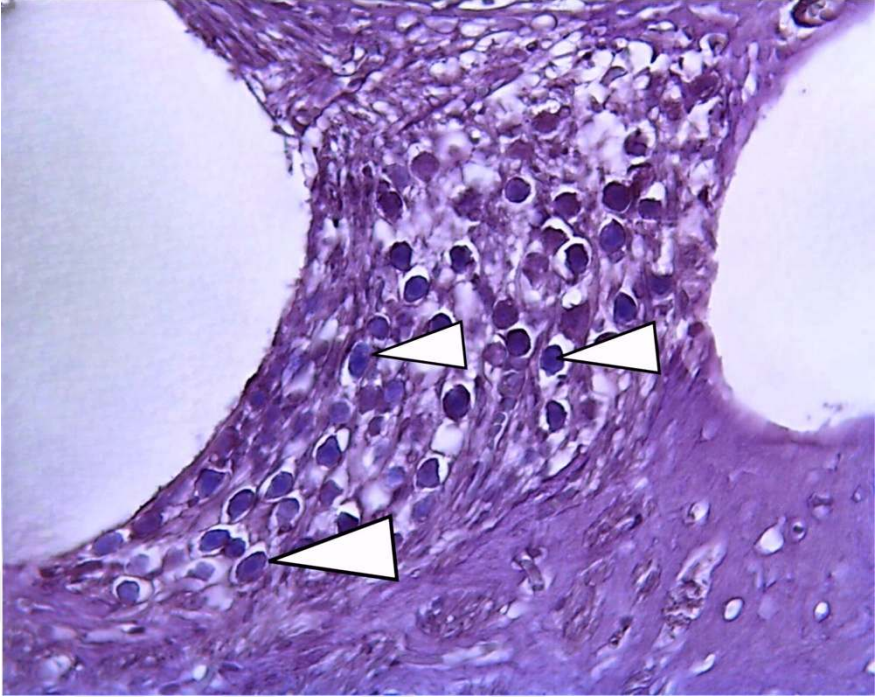
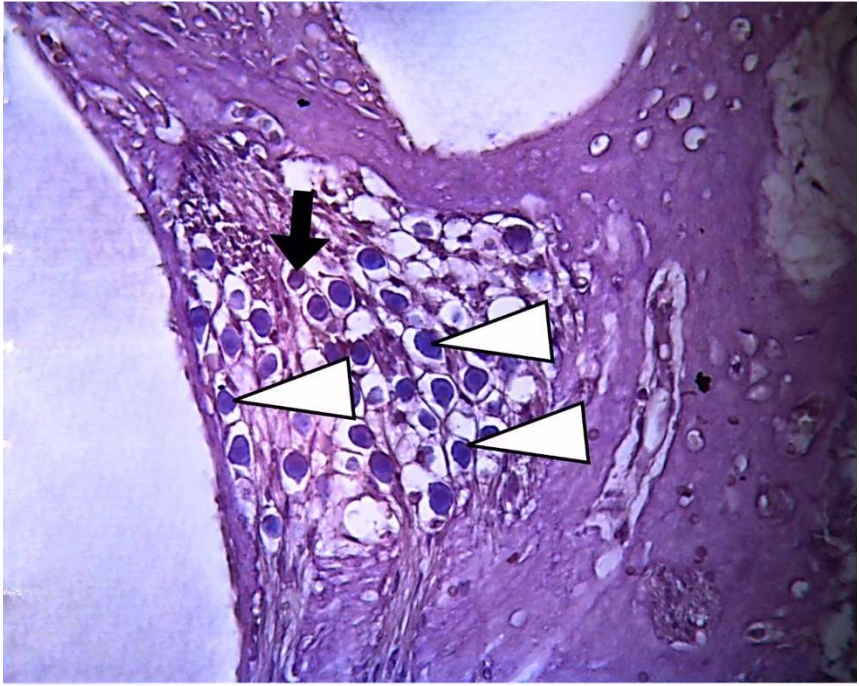


Grup 2



Grup 3



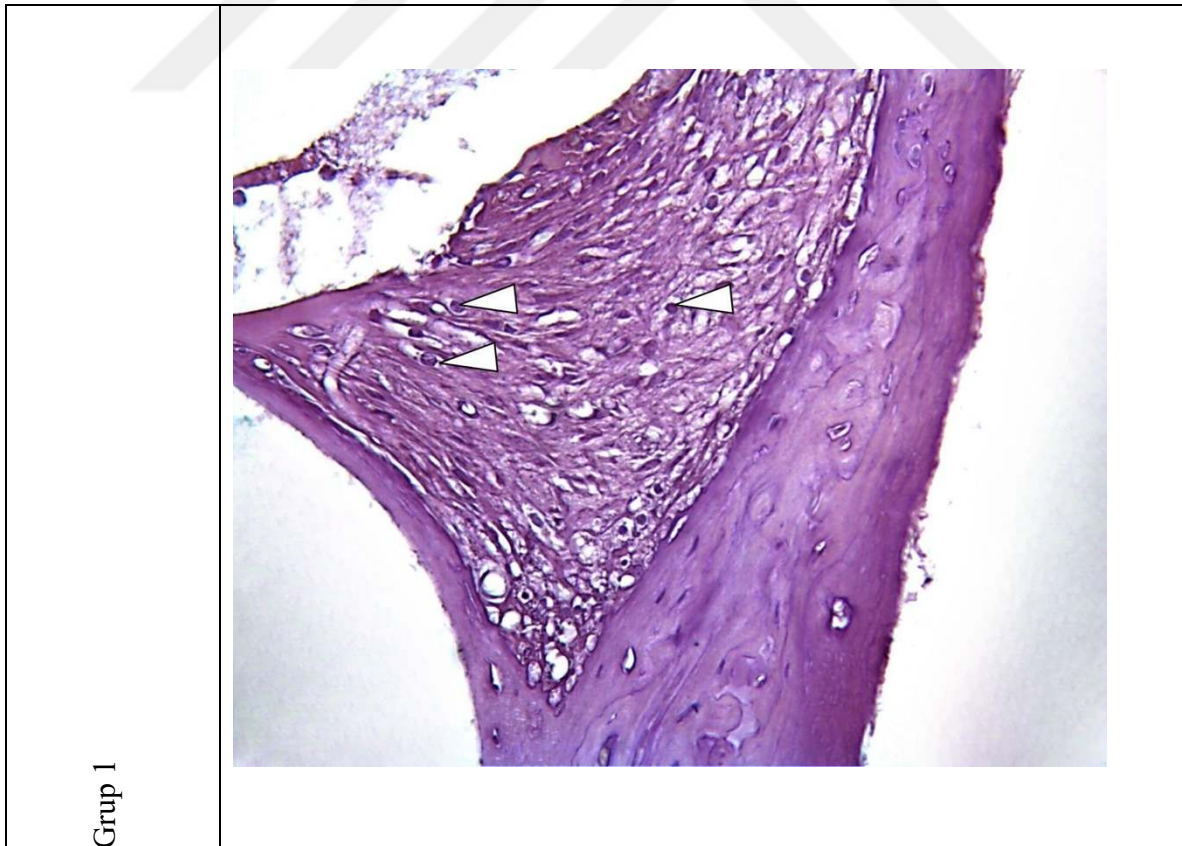
Grup 4	
Grup 5	

Şekil 3.17. Sprial ganglionda gruplara göre apoptotik ve canlı hücre gösterimleri (40x) beyaz üçgen canlı hücreleri, siyah ok işareti apoptotik hücreleri göstermektedir.

Tablo 3.12. Spiral ligament (apoptatik indeks ortalamaları)

GRUP	Spiral Ligament (Apoptatik İndeks Ortalamaları)		
	bazal %	orta %	apikal %
1	5.00	4.00	4.25
2	21.71	25.29	19.71
3	25.11	27.22	22.78
4	4.88	3.63	4.63
5	4.50	4.13	3.67
$p^{Grup\ 1,4}$	0.959	0.721	0.798
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.065	0.021*	0.019*

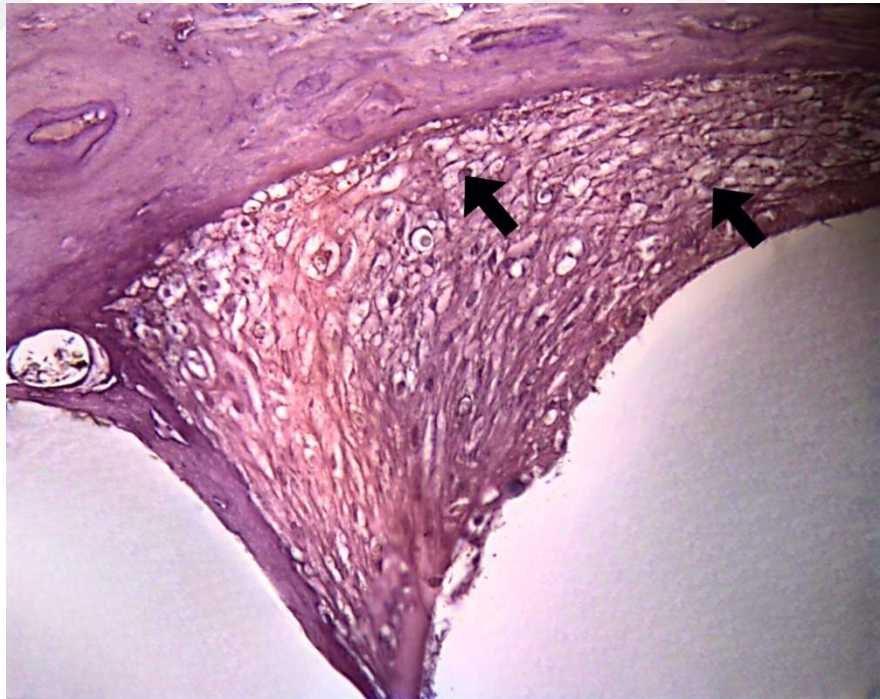
Tablo 3.12. verilerine göre, spiral ligamentte yapılan TUNEL boyama analizlerinde, apoptotik indeks ortalamaları açısından 1. ve 4. gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte, 2., 3. ve 5. gruplarda hem bazal, hem orta hem de apikal bölgelerde, kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde artmış apoptotik indeks değerleri tespit edilmiştir.

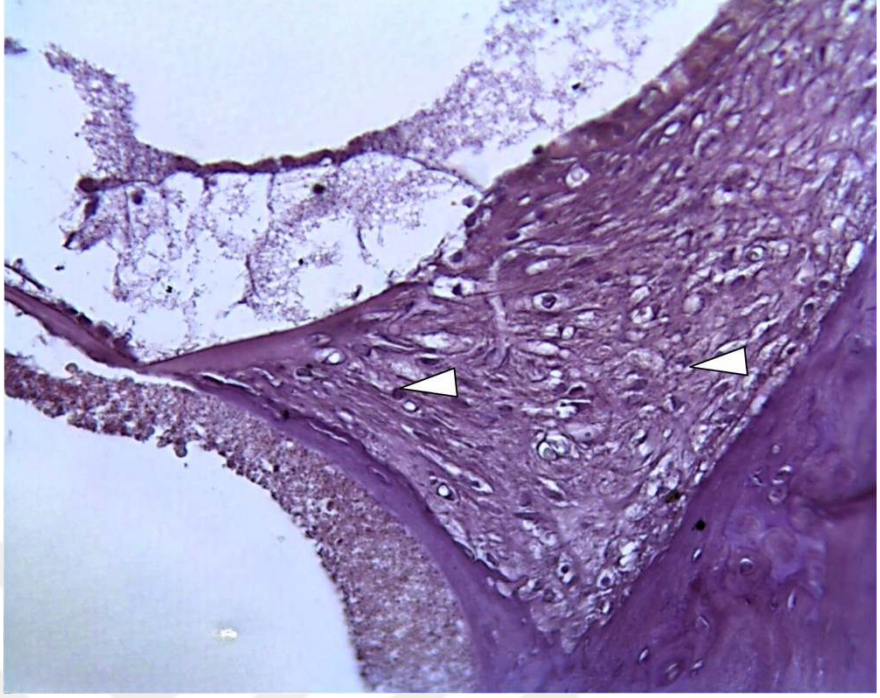
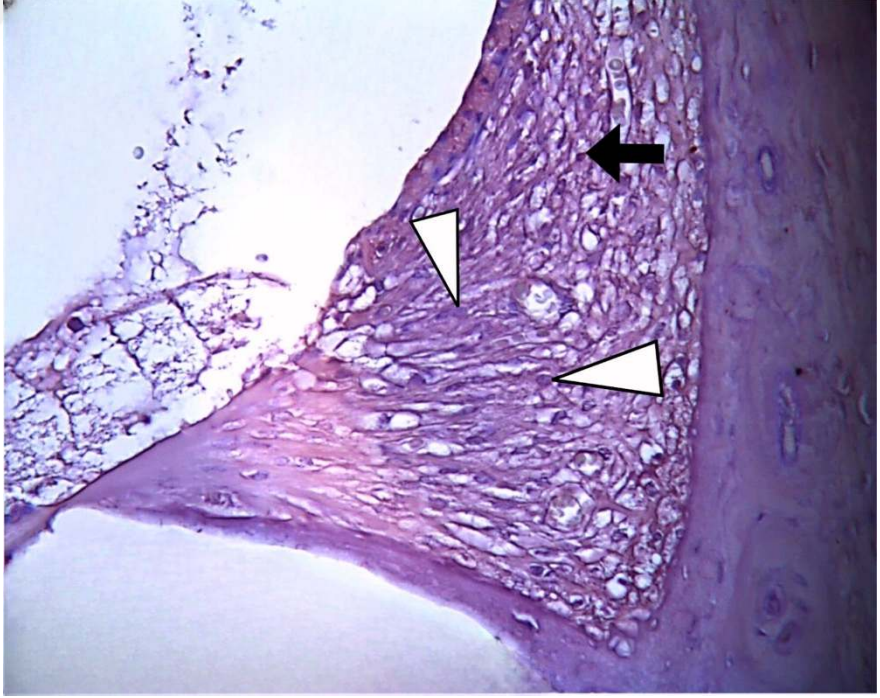


Grup 2



Grup 3



Grup 4	
Grup 5	

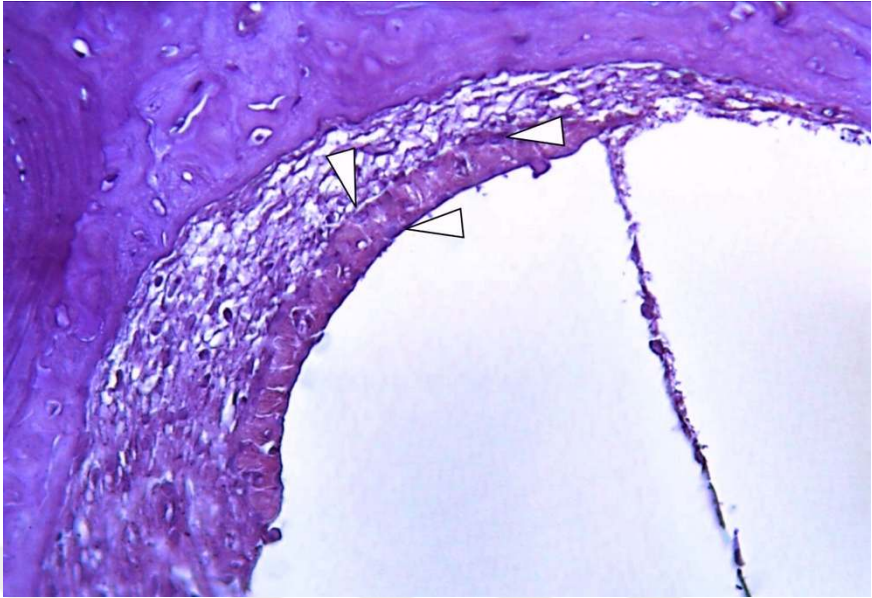
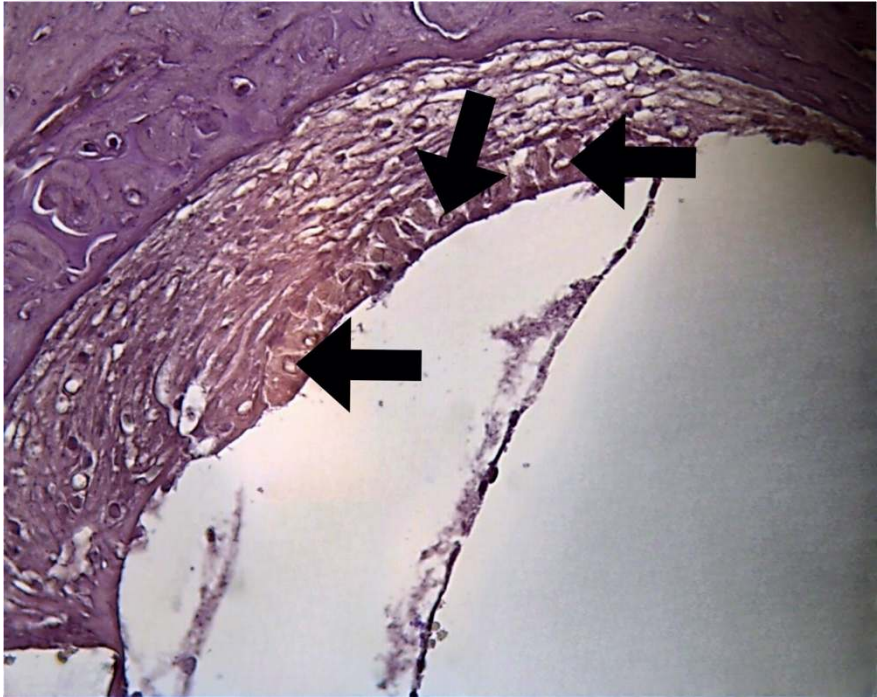
Şekil 3.18. Sprial ligamentte gruplara göre apoptotik ve canlı hücre gösterimleri (40x) beyaz üçgen canlı hücreleri, siyah ok işareti apoptotik hücreleri göstermektedir.

Tablo 3.13. Stria vaskülaris (apoptatik indeks ortalamaları)

GRUP	Stria Vaskülaris (Apoptatik İndeks Ortalamaları)		
	bazal	orta	apikal
1	3.75	6.25	4.25
2	28.43	30.00	30.71
3	25.22	30.11	30.56
4	4.50	6.63	4.50
5	12.29	11.50	9.80
$p^{Grup\ 1,4}$	0.328	0.442	0.798
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.000*	0.003*	0.006*

Stria vaskülariste gerçekleştirilen TUNEL boyama analizlerinde de 1. ve 4. gruplar arasında apoptotik indeks ortalamaları bakımından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak 2., 3. ve 5. gruplarda, spiral ligament ve spiral ganglion'da olduğu gibi, stria vaskülaris'in bazal, orta ve apikal bölgelerinin tamamında, kontrol gruplarına kıyasla apoptotik indeks değerlerinde anlamlı artışlar tespit edilmiştir.

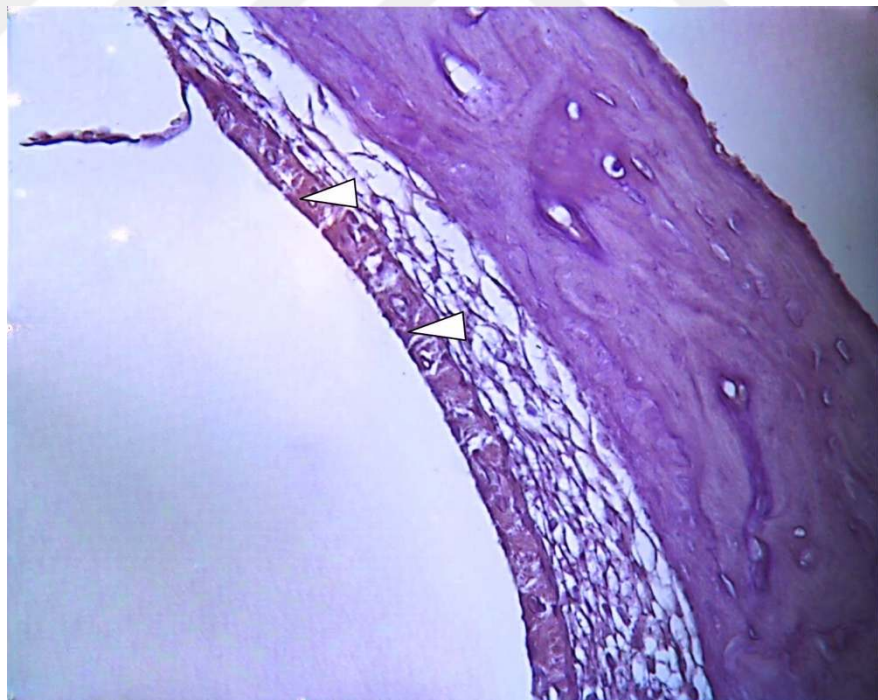
Tüylü Hücrelerde yapılan canlılık oranı her koriti de 3 dış tüylü ve 1 iç tüylü hücre görmek normal olarak kabul edilip canlı hücrelerin ve hasar görmüş hücrelerin sayımları gerçekleştirildi.

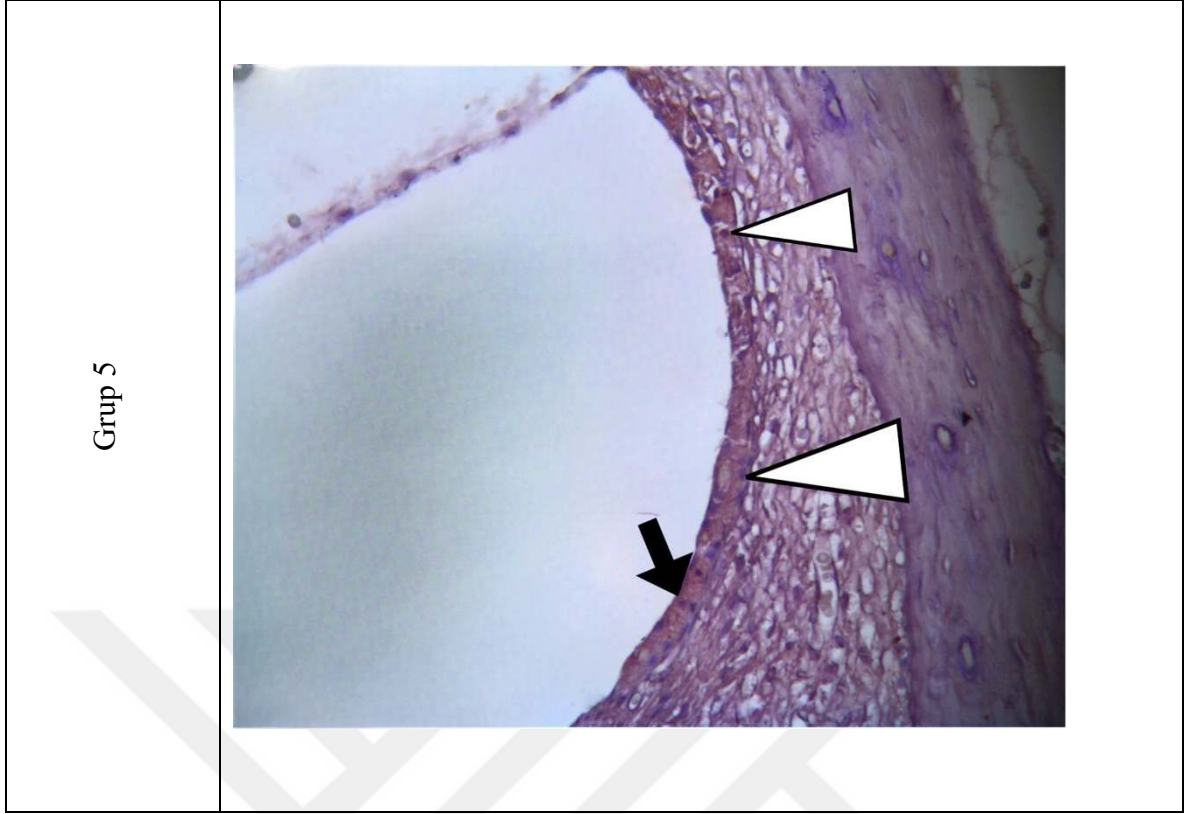
Grup 1	 This histological section shows a curved tissue structure, likely a developing embryo or a specific tissue layer. Three white arrowheads point to the interface between the tissue and a clear, fluid-filled space. The tissue is stained purple, showing cellular details.
Grup 2	 This histological section shows a similar curved tissue structure to Group 1. Three black arrows point to the interface between the tissue and a clear, fluid-filled space. The tissue is stained purple, showing cellular details.

Grup 3



Grup 4





Şekil 3.19. Stria vasküleriste gruplara göre apoptotik ve canlı hücre gösterimleri (40x) beyaz üçgen canlı hücreleri, siyah ok işareti apoptotik hücreleri göstermektedir

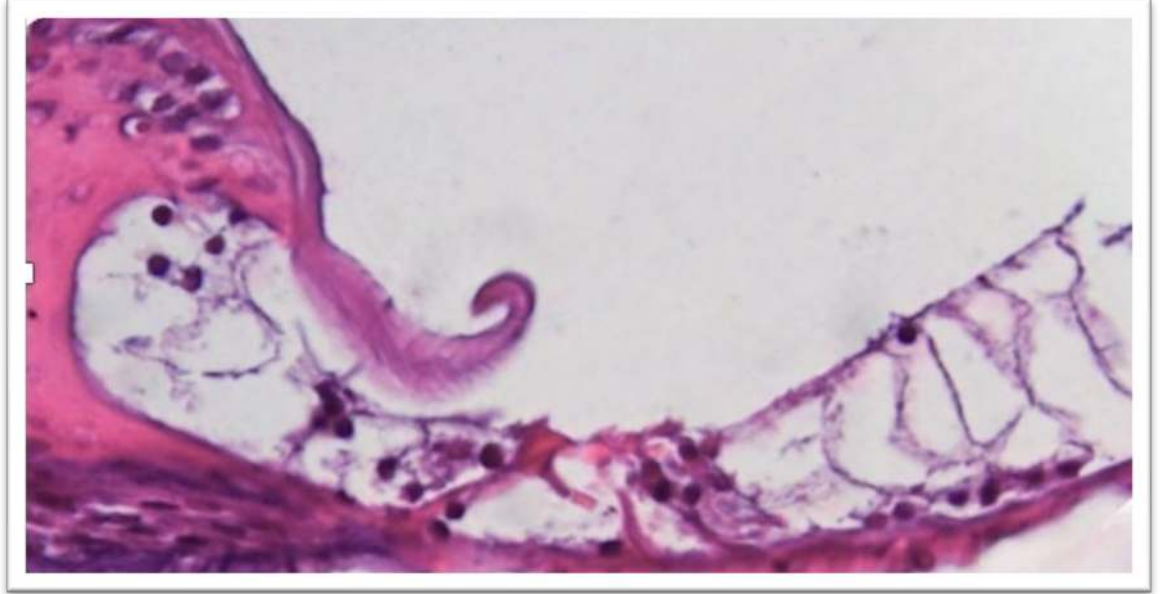
Tablo 3.14. Dış tüylü hücrelerin canlılık oranlarının bulguları

Grup	Dış Tüylü Hücreler (canlılık oranı)		
	bazal %	orta %	apikal %
1	90.90	93.07	87.86
2	42.16	57.26	47.22
3	45.00	59.03	55.56
4	90.61	92.54	96.46
5	77.42	83.68	86.64
<i>p</i> Grup 1,4	0.743	0.720	0.072
<i>p</i> Grup 2,3,5	0.025*	0.000*	0.080

Tablo 3.15. İç tüylü hücrelerin canlılık oranlarının bulguları

Grup	İç Tüylü Hücreler (canlılık oranı)		
	bazal %	orta %	apikal %
1	97.78	100.00	100.00
2	80.09	91.84	69.44
3	100.00	87.50	77.78
4	100.00	97.61	100.00
5	96.79	98.19	100.00
$p^{Grup\ 1,4}$	0.758	0.278	1.000
$p^{Grup\ 2,3,5}$	0.04*	0.215	0.780

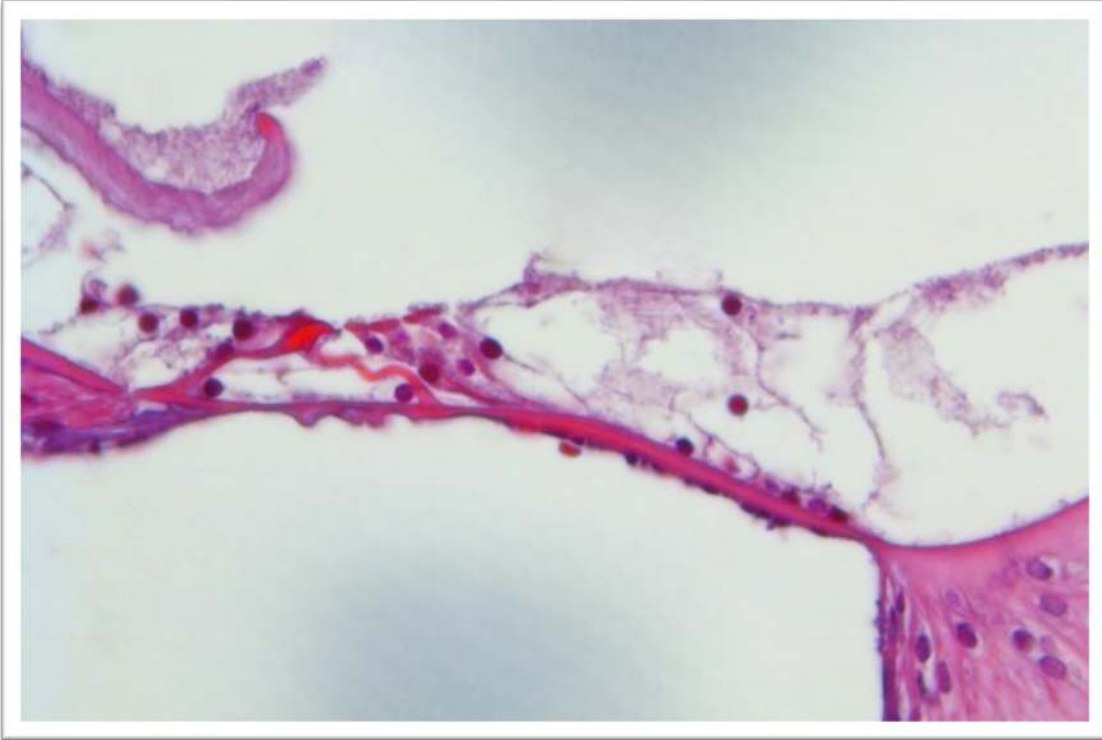
Tablo 3.14. ve 3.15. elde edilen sonuçlara göre, Dış tüylü hücrelerin canlılık oranlarında 1. ve 4. gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak 2., 3. ve 5. gruplarda, bazal ve orta bölgelerde, kontrol gruplarına kıyasla anlamlı farklılıklar görülmüştür. İç tüylü hücrelerin canlılık oranlarında ise yine 1. ve 4. gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak 2., 3. ve 5. gruplarda, bazal bölgede, kontrol gruplarına kıyasla anlamlı farklılıklar görülmüştür.



Şekil 3.20. Normal işiten grupta (Grup 1) tüylü hücrelerin resim olarak gösterimi (40x)



Şekil 3.21. Gürültü grubunda (Grup 2) tüylü hücrelerin resim olarak gösterimi (40x)



Şekil 3.22. Gürültü ve Astaksantin verilen grupta (Grup 5) tüylü hücrelerin resim olarak gösterimi (40x)

4. TARTIŞMA

Bu çalışma, astaksantinin gürültü kaynaklı işitme kaybına karşı potansiyel koruyucu etkilerini araştırmak üzere tasarlanmıştır. Gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK), dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen yaygın bir sağlık sorunudur ve şu anda etkili bir tedavisi bulunmamaktadır. Mevcut tedavi seçenekleri çoğunlukla işitme kaybının ilerlemesini yavaşlatmaya odaklanmakta olup, hasarlı işitme fonksiyonunu geri kazandırılmamaktadır. Bu nedenle, GBİK'nın önlenmesi ve tedavisi için yeni ve etkili stratejiler geliştirmek büyük önem taşımaktadır (83).

GBİK kaybında metabolik ve mekanik hasar mekanizmaları nedeniyle geçici eşik değişikliği ya da kalıcı eşit değişiklikleri ile işitme kayıpları oluşabilmektedir. hatta dış tüylü hücrelere hasarından sonra 1 hafta sonra da devam ettiğini göstermiştir. Bu hasar morfolojik olarak oluşan cortide hasara ek olarak; metabolik hasarla devam ederek kalıcı bir hal alır. Metabolik hasar yüksek şiddetteki gürültünün, koklea içindeki dengeyi reaktif oksijen türlerinin ve reaktif nitrojen türlerinin salını ile oksidatif stres ile hücre içi hassas dengenin bozulması ile gerçekleşir. Serbest radikallerin hücre içi hemoastazı bozması; hücre membranlarına, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek koklear fonksiyonu bozması ile tetiklenir(84,85).

GBİK ve antioksidanların etkinliğini araştıran çalışmalarda in vivo modellemeler ağırlıktadır. Bunun sebebi, gürültü maruziyeti ile ilgili çalışma tasarımını etik kurallar nedeni ile insanlarda oluşturulmasının mümkün olmayışından kaynaklanmaktadır. Parametrelerin eşitliğini sağlamada ve histopatolojik çalışmalara olanak tanınması nedeniyle in vivo dizayn modellemeleri tercih edilmektedir(86).

Literatüde çeşitli antioksidanlar ile GBİK'nın etkilerinin azaltılmasına ya da önlemeye yönelik çok sayıda in vivo çalışmalar mevcuttur. Ancak Astaksantin GBİK'nda etkilerini inceleyen araştırmalar mevcut değildir (87–90).

Astaksantin, deniz ürünlerinde bulunan ve güçlü antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklere sahip bir ksantofildir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, astaksantin çeşitli hastalık modellerinde, özellikle oksidatif stres ve inflamasyonun önemli rol oynadığı durumlarda, koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Astaksantin, serbest radikalleri temizleyerek, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak ve inflamatuvar mediatörlerin üretimini baskılayarak hücreleri hasardan koruduğu düşünülmektedir (82,91,92).

Literatürde GBİK'na astaksantin etkilerini araştıran çalışmalar mevcut olmakla birlikte, farklı patogeneze sahip işitme kayıplarını araştıran makaleler mevcuttur.

Cisplatin ototoksitesi ile koklear hasar medana getirilen sıçanlarda; Gu ve arkadaşları (2022); araştırmalarında, cisplatin kaynaklı ototoksisiteyi önlemek için antioksidan astaksantin (ATX) ve reaktif oksijen türlerine (ROS) duyarlı/tüketen nanopartiküllerin (PPS-NP) kombinasyonu önermişlerdir. ATX-PPS-NP, ROS'u temizleyen ve ATX'i serbest bırakmak için parçalanmış bir yapıya sahip olarak tasarlanmış olup, çalışmalarında, bu kombinasyonun hücre ölümünü ve inflamasyonu azalttığını, antioksidan savunmayı artırdığını ve işitme kaybını hafiflettiğini göstermişlerdir (93). Terzi ve ark. (2021); çalışmalarında cisplatin adlı kemoterapi ilacının işitme kaybı (ototoksisite) üzerindeki yan etkilerini azaltmak için astaksantin (ASX) adlı bir antioksidanın koruyucu etkisi araştırmışlardır. Araştırma kapsamında 36 sıçan altı gruba ayırıp ve her gruba farklı dozlarda ASX ve cisplatin uygulamışlardır. İşitme kaybı düzeyi, kan örneklerindeki antioksidan ve oksidatif stres ölçümleri ile iç kulaktaki hücresel değişiklikler incelemişlerdir. Sonuçlarında, ASX'nin, özellikle yüksek dozda verildiğinde, cisplatin kaynaklı işitme kaybını azalttığını, hücresel dejenerasyonu engellediğini ve oksidatif stresi önemli ölçüde düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu çalışma, astaksantin kemoterapiye bağlı işitme kaybına karşı koruyucu bir ajan olabileceğini göstermektedir(94). Kınal ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada da, cisplatin'in neden olduğu işitme kaybına (ototoksisite) karşı astaksantin koruyucu etkisi incelemişlerdir. 35 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçan beş gruba ayırıp: kontrol, cisplatin ve üç farklı dozda (10, 20, 40 mg/kg) astaksantin ile cisplatin alan gruplar. Cisplatin grubuna tek bir doz 14 mg/kg cisplatin vermişlerdir. Diğer gruplara ise astaksantin her gün orogastrik kanül ile verildikten sonra 7. günde cisplatin uygulayıp ve işitme testi olarak otoakustik emisyonlar ölçülmüşlerdir. 10. günün sonunda kan örnekleri alınıp, işitme kaybının yanı sıra

histopatolojik analizler yapılmışlardır. Sonuçlar, yüksek dozda astaksantin (40 mg/kg) yüksek frekanslarda (24 ve 32 kHz) cisplatin kaynaklı işitme kaybını önleyebildiğini göstermiştir(95). Ayrıca, cisplatin grubuna göre toplam antioksidan kapasitenin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Astaksantin, yüksek dozda verildiğinde işitme kaybına karşı koruyucu etkiler göstermişlerdir.

Toprak ve ark. (2022); Bu çalışmada, diyabetin işitme kaybına neden olan etkilerini azaltmak için astaksantin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Diyabetik işitme kaybı modelini oluşturmak için 32 Wistar albino sıçan dört gruba ayırmışlardır: kontrol grubu (CNT), diyabet grubu (DM), astaksantin uygulanan diyabet grubu (DM+AST) ve astaksantin uygulanan diyabetik olmayan grup (AST). Diyabet, sıçanlara streptozotosin (STZ) enjeksiyonu ile uyarmışlardır. AST tedavisi 60 gün boyunca uygulayıp, işitme fonksiyonları İIBP ve DPOAE testleri ile değerlendirmişlerdir. Ayrıca, sıçanların kan ve iç kulak örneklerinden alınan pro-inflamatuar sitokinler ve antioksidan enzim düzeyleri incelemişlerdir. Sonuç olarak; diyabetik sıçanlarda işitme kaybı tespit edilirken, astaksantin verilen diyabetik grupta işitme kaybının önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, astaksantin, oksidatif stresin ve inflamasyonun göstergeleri olan sitokin düzeylerini düşürüp ve antioksidan enzimleri artırmıştır. Sonuç olarak, astaksantin diyabet kaynaklı işitme kaybına karşı koruyucu etkisi olduğu göstermişlerdir (96).

Her ne kadar çalışmamızda Cisplatin kaynaklı ya da diabet kaynaklı koklear hasar oluşturulması tasarımı üzerine kurulmasa da; anatomik yapılar itibari ile hücre apoptozunu önlemede hasara karşı koruyuculuğu bağlamında bahsedilen araştırmaları destekler niteliktedir .

Mohamed ve ark.(2024); çalışmalarında , sıvı birikimi ile karakterize edilen orta kulak enfeksiyonu olan otitis media ile effüzyonun (OME) patogenezinde sitokinlerin ve Th17/Treg dengesizliğinin rolü araştırmıştır. Ayrıca astaksantin koruyucu etkisi ve Notch1/Hes1/mTORC1/S6K1 sinyal yolları üzerindeki etkisi incelemiştir. Çalışmada, 48 çocuk üç gruba ayırmışlardır: sağlıklı kontrol grubu, akut otitis media (AOM) grubu ve OME grubu. Ayrıca, lipopolisakkarit (LPS) ile OME indüklenmiş sıçan modeli üzerinde astaksantin etkileri test etmişlerdir. Sıçanlar da üç gruba ayrıldı: normal kontrol, LPS grubu ve astaksantin tedavi grubu. Astaksantin tedavisinin OME'nin belirtilerini nasıl etkilediği,

sitokin seviyeleri, Th17/Treg dengesizliği ve Notch1/Hes1/mTORC1/S6K1 sinyal yolları ölçülerek değerlendirilmişlerdir. Astaksantin tedavisinin, OME'li sıçanlarda iltihaplanmayı azalttığı, proinflamatuvar sitokinleri baskıladığı ve Th17/Treg dengesini düzelttiği göstermişlerdir. Sonuçlar, astaksantin Notch1/Hes1/mTORC1/S6K1 yolunu baskılayarak ve Th17/Tregs hücre dengesini düzenleyerek OME'yi hafifletebileceğini göstermektedir (97). Yang ve ark. (2024); araştırmalarında, astaksantin içeren nanopartiküllerin (AST@dSe-AFT) orta kulak sıvı birikimi ve oksidatif stresle karakterize edilen sekretuar otitis media (SOM) tedavisinde kullanılması araştırmıştır. SOM, işitme kaybı ve enfeksiyonla ilişkilidir, ancak mevcut tedaviler her zaman etkili değildir ve oksidatif stres bu hastalığın gelişiminde önemli bir rol oynar. Astaksantin, güçlü bir antioksidan olsa da biyoyararlanımı düşüktür ve hızla okside olur. Bu sorunu aşmak için AST, diselenyumla çapraz bağlı apotransferrin (dSe-AFT) ile nanopartiküller halinde hazırlanmıştır. AST@dSe-AFT nanopartikülleri, orta kulakta oksidatif stresin azaltılması ve iltihaplanmayı kontrol etmek için geliştirmişlerdir. Bu nanopartiküller, fare modellerinde SOM tedavisi için uygulandı ve astaksantin kontrollü salınımı sağlamışlardır. Araştırmada, AST@dSe-AFT'nin inflamasyonu azaltarak makrofajları ve nötrofilleri anti-enflamatuvar fenotipe yönlendirdiği ve güvenli olduğu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, AST@dSe-AFT, SOM ve diğer oksidatif stresle ilişkili hastalıklar için umut verici bir tedavi olarak değerlendirmektedirler (98).

2 makalesinde doğrudan GBİK ile doğrudan ilgisi olmasa da 2 araştırmanın da iç kulakta oksidatif stres ile ilişkili mekanizmalarda astaksantin olumlu etkilerini desteklemektedir. Çalışmamız moleküler düzeyde yapılmış bir çalışma değildir fakat hücre apoptoz oranları ile incelendiğinde çalışmalarını destekler niteliktedir.

Gu ve Arkadaşları, (2022) tarafından yapılan çalışmada İUBC testi için kullanılan frekans aralığı oldukça geniş tutulmuş ve 4, 5.6, 8, 11.2, 16, 22.6, 32 ve 45 kHz olarak belirlenmiştir. Her bir frekansta 0 ile 90 dB arasında 5 dB'lik artışlarla detaylı ölçümler yapılmıştır (99). Bizim çalışmamızda ise, odyolojik değerlendirmeyi optimize etmek ve sonuçları daha pratik ve anlamlı bir frekans aralığında toplamak amacıyla 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarını kullandık. Bu seçimin, işitme kaybının değerlendirilmesinde yeterli hassasiyeti sağladığı ve aynı zamanda analiz süreçlerini kolaylaştırdığı görülmektedir. Ayrıca, çalışmamızın sonuçlarının literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırılabilir olmasını da mümkün kılmıştır.

Gu ve Arkadaşları'nın (2022) çalışmasında, cisplatin kaynaklı ototoksisiteyi önlemek için antioksidan astaksantin (ATX) ve ROS-duyarlı/tüketen nanopartiküller (PPS-NP) kombinasyonu kullanılmıştır. ABR testi, 4, 5.6, 8, 11.2, 16, 22.6, 32 ve 45 kHz frekanslarında gerçekleştirilmiştir (99). Bizim çalışmamızda, ABR testlerini 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarında 1., 7. ve 21. günlerde gürültü grupları ile tedavi grubu arasında anlamlı farkları tespit etmek için kullandık. Sonuçlarımız, tedavi grubunda bu frekanslarda gürültü grubuna göre anlamlı derecede daha iyi işitme eşiklerinin bulunduğunu gösterdi. Gu ve Arkadaşları'nın çalışmasıyla karşılaştırıldığında, benzer frekans aralıklarında anlamlı sonuçlar elde etmiş olmamız, astaksantin işitme kaybı üzerindeki koruyucu etkisini desteklemektedir. Bizim çalışmamızın daha odaklı frekans aralıklarını kullanması, özellikle ototoksisiteye duyarlı frekanslarda astaksantin etkinliğini belirlemede önemli katkılar sağlamıştır. Bu nedenle, her iki çalışma da astaksantin işitme kaybına karşı potansiyel koruyucu etkisini göstermekte ve frekans seçiminin bu tür araştırmalarda elde edilen sonuçların doğruluğunu ve klinik uygulanabilirliğini artırdığına dikkat çekmektedir.

DPOAE testinde, Kınal ve ark. (2019); cisplatin'in neden olduğu işitme kaybında, işitme seviyeleri incelendiğinde, astaksantin 40 mg/kg dozunda verilen grubun 24 ve 32 kHz'de işitme seviyelerinde koruyucu etki gözlemlendi. Bu sonuçlar, çalışmamızdaki 8 kHz'deki bulgularla uyumlu olarak, astaksantin yüksek frekanslarda koruyucu etkisinin daha belirgin olduğunu göstermektedir. Gu ve arkadaşlarının çalışması, astaksantin kapsüllü ROS-duyarlı nanopartiküllerin (ATX-PPS-NP) etkisini inceleyerek, 4-45 kHz frekans aralığında ABR ölçümleriyle astaksantin işitme kaybını önlediğini göstermiştir (95). Bu çalışmada nanopartikül formülasyonun, astaksantin daha etkin bir şekilde hedef dokulara ulaşmasını sağladığı ve böylece ototoksisiteye karşı koruyucu etkisinin arttığı görülmüştür. Bizim çalışmamızdaki sinyal-gürültü oranlarındaki artışın ve belirli frekanslarda gözlemlenen anlamlı farkların, astaksantin etkinliğini ve uygun bir formülasyon veya dağıtım sistemiyle bu etkinliğin daha da güçlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Özetle; Çalışmamız ve diğer araştırmaların tümü, astaksantin ototoksisiteye karşı koruyucu etkilerini doğrulamaktadır. Bununla birlikte, farklı ototoksisite modelleri (diyabet, cisplatin gibi) ve değişken uygulama protokolleri (dozaj, uygulama süresi ve yöntemi) astaksantin etkinliğini belirgin bir şekilde etkileyebilir. Bu durum, astaksantin etkisinin ototoksisite mekanizmasına bağlı olarak değişebileceğini gösterir. Özellikle astaksantin

yüksek frekanslarda belirgin koruyucu etkisi, kokleanın bazal bölgesinde yoğun ototoksik hasarın meydana gelmesiyle ilişkilidir. Bu nedenle, astaksantin tedavisi, işitme kaybının erken dönemlerinde veya yüksek frekanslardaki işitme kaybının önlenmesinde daha etkili olabilir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar:

ABR testlerinde 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarında gürültü grubu ile astaksantin tedavi grubu arasında 1., 7. ve 21. günlerde anlamlı farklar elde edildi. Bu bulgu, astaksantin'in işitme kaybını önlemede potansiyel olumlu etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

DPOAE sonuçlarında ise 1 kHz'de anlamlı fark bulunmazken, 2, 4 ve 6 kHz'de 1. günde anlamlı farklar tespit edildi. 8 kHz'de ise 1. ve 21. günlerde anlamlı fark gözlemlendi. Ayrıca, 1. günden 21. güne kadar sinyal-gürültü oranlarında ortalamalara bakıldığında belirgin bir artış gözlemlendi, bu da astaksantin'in ototoksisiteye karşı koruyucu etkisinin süregelen bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Histopatolojik incelemelerde, gürültüye maruz kalan gruplarda belirgin doku hasarı tespit edilirken, astaksantin verilen grupta bu hasarın önemli ölçüde azaldığı görüldü. Astaksantin'in antioksidan etkileriyle potansiyel koruyucu etkileri olabileceği gösterildi.

Öneriler:

Astaksantin'in Potansiyel Kullanımı: Bu çalışma, astaksantin'in gürültü kaynaklı işitme kaybını azaltmada potansiyel bir koruyucu ajan olduğunu göstermektedir.

Astaksantin'in etkisinin doz-bağımlı olduğu göz önüne alındığında, farklı dozaj ve uygulama sürelerinin de araştırılması, optimal koruyucu etkinin belirlenmesinde faydalı olacaktır.

Uzun Dönem Araştırmalar: Bu çalışmada kısa vadeli etkiler gözlemlendi; astaksantin'in uzun vadede işitme fonksiyonları üzerindeki etkisinin ve doku düzeyindeki koruyucu etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha uzun süreli çalışmalar yapılması önerilmektedir.

Astaksantin'in işitme kaybı üzerindeki etkilerinin moleküler düzeyde daha iyi anlaşılması, bu maddenin işitme kaybının önlenmesi ve tedavisinde nasıl etkili bir rol oynayabileceği konusunda daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır

Çalışmamızın bulgularının insan popülasyonunda doğrulanabilmesi için kontrollü klinik çalışmalar yapılması önerilir. Bu, astaksantin'in gürültü kaynaklı işitme kaybının önlenmesi ve tedavisinde klinik olarak kullanılabilirliğini belirlemeye yardımcı olacaktır.

Sonuç olarak, astaksantin'in antioksidan özellikleri sayesinde gürültü kaynaklı işitme kaybına karşı koruma sağlayabileceği görülmüştür. Bu nedenle, astaksantin ve benzeri antioksidanların ototoksisiteye karşı koruyucu etkileri üzerine yapılan çalışmaların devam etmesi, işitme sağlığının korunmasında önemli bir adım olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Pickels James O. An Introduction to the Physiology of Hearing. 4th ed. Leiden: Brill; 2012.
2. Møller AR. Hearing: anatomy, physiology, and disorders of the auditory system. 2nd ed. Academic Press; 2006.
3. Bailey BJ, Johnson JT. Head & neck surgery-otolaryngology (Vol. 1). 4th ed. Newlands SD, editor. Lippincott Williams & Wilkins.; 2006.
4. Hajarolasvadi S, Khaleghimeybodi M, Razavi P, Smirnov M, Prepelită ST. Effect of sound-induced vibrations of the pinna on head-related transfer functions: Experimental and numerical investigations. J Acoust Soc Am. 2024 Apr 1;155(4):2875–90.
5. Lee KJ. Essential Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Audiology. 9th ed. McGraw-Hill Companies; 2012.
6. Marchioni D, Rubini A, Soloperto D. Endoscopic Ear Surgery: Redefining Middle Ear Anatomy and Physiology. Vol. 54, Otolaryngologic Clinics of North America. W.B. Saunders; 2021. p. 25–43.
7. Akyıldız Necmettin. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi I. 1st ed. Ankara: Bilimsel Tıp. Ankara: bilimsel Tıp; 1998. 29–35 p.
8. George T, Fakoya AO, Bordoni B. Anatomy, Head and Neck, Ear Ossicles [Internet]. StatPearls. 2024. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15062614>
9. Aibara R, Welsh JT, Puria S, Goode RL. Human middle-ear sound transfer function and cochlear input impedance [Internet]. 2001. Available from: www.elsevier.com/locate/heares
10. Vasudevamurthy S, Kumar AU. Middle Ear Muscle Reflex in Normal-Hearing Individuals with Occupational Noise Exposure. Noise Health. 2023 Jan 1;25(116):1–7.
11. Mukerji S, Windsor AM, Lee DJ. Auditory Brainstem Circuits That Mediate the Middle Ear Muscle Reflex. Trends Amplif. 2010;14(3):170–91.
12. Rönnblom A, Thornell LE, Shah F, Tano K, Stål P. Unique fiber phenotype composition and metabolic properties of the stapedius and tensor tympani muscles in the human middle ear. J Anat. 2023 Jul 1;243(1):39–50.

13. White HJ, Helwany M, Biknevicius AR, Peterson DC. Anatomy, Head and Neck, Ear Organ of Corti. StatPearls [Internet]. 2023 Jan 14 [cited 2024 Jun 29]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538335/>
14. Kümüş Ö, Olgun Y, Durankaya SM, Aktaş S, Kirkim G, Sütay S. Oleuropein Effect on Noise-Induced Hearing Loss. *Journal of International Advanced Otology*. 2022 Mar 1;18(2):118–24.
15. Patel A, Lofgren DH, Varacallo M. Temporal Fracture [Internet]. StatPearls. 2024. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/909117>
16. Inselberg A, Chadwick RS. Mathematical Model of the Cochlea. I: Formulation and Solution. Vol. 30, Source: SIAM Journal on Applied Mathematics. 1976.
17. Goutman JD, Elgoyhen AB, Gómez-Casati ME. Cochlear hair cells: The sound-sensing machines. Vol. 589, FEBS Letters. Elsevier B.V.; 2015. p. 3354–61.
18. Ruben RJ. The Developing Concept of Tonotopic Organization of the Inner Ear. Vol. 21, JARO - Journal of the Association for Research in Otolaryngology. Springer; 2020.
19. Oghalai JS, Alford BR. The cochlear amplifier: augmentation of the traveling wave within the inner ear.
20. Elliott SJ, Shera CA. The cochlea as a smart structure. Vol. 21, Smart Materials and Structures. 2012.
21. Ashmore J, Avan P, Brownell WE, Dallos P, Dierkes K, Fettiplace R, et al. The remarkable cochlear amplifier. Vol. 266, Hearing Research. Elsevier; 2010. p. 1–17.
22. Purves D AGFD et al. ., Neuroscience. 2nd edition. Sunderland (MA: Sinauer Associate; 2001.
23. Jang MW, Lim J, Park MG, Lee JH, Lee CJ. Active role of glia-like supporting cells in the organ of Corti: Membrane proteins and their roles in hearing. Vol. 70, GLIA. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 1799–825.
24. Dilek Z, Odyoloji G, Dalı A. Doktora Tezi Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Gelişen Koklear Sinaptopatinin Ribbon Sinaps Etkinliği Ve Prestin Gen İfadesi İle Bir Biyobelirteç Olarak Değerlendirilmesi.
25. Munnamalai V, Fekete DM. The acquisition of positional information across the radial axis of the cochlea. Vol. 249, Developmental Dynamics. John Wiley and Sons Inc.; 2020. p. 281–97.

26. Sun S, Babola T, Pregernig G, So KS, Nguyen M, Su SSM, et al. Hair Cell Mechanotransduction Regulates Spontaneous Activity and Spiral Ganglion Subtype Specification in the Auditory System. *Cell*. 2018 Aug 23;174(5):1247-1263.e15.
27. Carricondo F, Romero-Gómez B. The Cochlear Spiral Ganglion Neurons: The Auditory Portion of the VIII Nerve. *Anatomical Record*. 2019 Mar 1;302(3):463–71.
28. Tziridis K, Korn S, Ahlf S, Schulze H. Protective effects of ginkgo biloba extract EGb 761 against noise trauma-induced hearing loss and tinnitus development. *Neural Plast*. 2014;2014.
29. Hoshino T, Terunuma T, Takai J, Uemura | Satoshi, Nakamura Y, Hamada M, et al. Genes to Cells Spiral ganglion cell degeneration-induced deafness as a consequence of reduced GATA factor activity. 2019; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/gtc.12705>
30. Ding D, Jiang H, Salvi R. Cochlear spiral ganglion neuron degeneration following cyclodextrin-induced hearing loss. *Hear Res*. 2021 Feb 1;400.
31. Szczepek AJ, Furness D, Peeleman N, Verdoodt D, Ponsaerts P, Rompaey V Van. On the Role of Fibrocytes and the Extracellular Matrix in the Physiology and Pathophysiology of the Spiral Ligament. *Frontiers in Neurology* | www.frontiersin.org [Internet]. 2020;11:580639. Available from: www.frontiersin.org
32. (No Title). 2022; Available from: <https://doi.org/10.21053/ceo.2021.00857>
33. Nishiyama N, Yamaguchi T, Yoneyama M, Onaka Y, Ogita K. Disruption of Gap Junction-Mediated Intercellular Communication in the Spiral Ligament Causes Hearing and Outer Hair Cell Loss in the Cochlea of Mice. Vol. 42, *Biol. Pharm. Bull*. 2019.
34. Johns JD, Adadey SM, Hoa M. The role of the stria vascularis in neglected otologic disease. Vol. 428, *Hearing Research*. Elsevier B.V.; 2023.
35. Szczepek AJ, Ghosh S, Liu W, Ito T, Kurata N, Fukunaga Y. Tissue-Resident Macrophages in the Stria Vascularis. *Frontiers in Neurology* | www.frontiersin.org [Internet]. 2022;13:818395. Available from: www.frontiersin.org
36. Liberman MC, Kujawa SG. Cochlear synaptopathy in acquired sensorineural hearing loss: Manifestations and mechanisms. Vol. 349, *Hearing Research*. Elsevier B.V.; 2017. p. 138–47.
37. Yousef M, Mesallam TA, Almasaad A, Alhabib S, Hagr A, Alzhrani F. Cochlear implantation versus auditory brainstem implantation in children with auditory nerve

- deficiencies. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* [Internet]. 2022;279(3):1295–300. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00405-021-06792-8>
38. Ansorge J, Wu C, Shore SE, Krieger P. Audiotactile interactions in the mouse cochlear nucleus. *Scientific Reports* | [Internet]. 123AD;11:6887. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86236-9>
 39. Zacher AC, Hohaus K, Felmy F, Pätz-Warncke C. Developmental profile of microglia distribution in nuclei of the superior olivary complex. *J Comp Neurol*. 2024;532.
 40. Grau JW, Oudman E, Kattah J, Zahr NM, Bordia T. The Inferior Colliculus in Alcoholism and Beyond. 2020; Available from: www.frontiersin.org
 41. Almasabi F, Janssen MLF, Devos J, Moerel M, Schwartz M, Kotz SA, et al. The role of the medial geniculate body of the thalamus in the pathophysiology of tinnitus and implications for treatment. Vol. 1779, *Brain Research*. Elsevier B.V.; 2022.
 42. Nelken I, Bizley XJ, Shamma SA, Wang X. Auditory Cortical Processing in Real-World Listening: The Auditory System Going Real. 2014;
 43. Perin P, Cossellu D, Vivado E, Batti L, Gantar I, Voigt FF, et al. Temporal bone marrow of the rat and its connections to the inner ear. *Frontiers in Neurology* . 2024;15.
 44. Eshraghi AA, Ocak E, Zhu A, Mittal J, Davies C, Shahal D, et al. Clinical Medicine Biocompatibility of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Rat Inner Ear following Trans-Tympanic Administration. Available from: www.mdpi.com/journal/jcm
 45. Park MK, Chae SW, Kim HB, Cho JG, Song JJ. Middle ear inflammation of rat induced by urban particles. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014 Dec 1;78(12):2193–7.
 46. Zhong C, Jiang Z, Guo Q, Zhang X. Protective effect of adenovirus-mediated erythropoietin expression on the spiral ganglion neurons in the rat inner ear. *Int J Mol Med*. 2018 May 1;41(5):2669–77.
 47. Li J, Liu S, Song C, Hu Q, Zhao Z, Deng T, et al. PIEZO2 mediates ultrasonic hearing via cochlear outer hair cells in mice. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.2101207118>
 48. 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. Vol. 46, *Journal of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. BioMed Central Ltd.; 2017.
49. Early S, Du E, Boussaty E, Friedman R. Genetics of noise-induced hearing loss in the mouse model. Vol. 425, *Hearing Research*. Elsevier B.V.; 2022.
 50. Youm I, Li W. Cochlear hair cell regeneration: an emerging opportunity to cure noise-induced sensorineural hearing loss. Vol. 23, *Drug Discovery Today*. Elsevier Ltd; 2018. p. 1564–9.
 51. Bielefeld EC. Protection from Noise-induced hearing loss with Src inhibitors. Vol. 20, *Drug Discovery Today*. Elsevier Ltd; 2015. p. 760–5.
 52. Zheng F, Zuo J. Cochlear hair cell regeneration after noise-induced hearing loss: Does regeneration follow development? Vol. 349, *Hearing Research*. Elsevier B.V.; 2017. p. 182–96.
 53. Qianru Y, Teng Q, Li Y, Liu S, Gong S, Liu K. Noise-induced hearing loss reduces inhibitory neurotransmitter synthesis in ventral hippocampus and contributes to the social memory deficits of mice. *Neurosci Lett*. 2024 Jan 18;820.
 54. Manohar S, Dahar K, Adler HJ, Dalian D, Salvi R. Noise-induced hearing loss: Neuropathic pain via Ntrk1 signaling. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2016 Sep 1;75:101–12.
 55. Jager W, Goiny M, Herrera-Marschitz M, Brundin L, Fransson A, Canlon B. Noise-induced aspartate and glutamate efflux in the guinea pig cochlea and hearing loss. *Exp Brain Res*. 2000;134(4):426–34.
 56. Lauer AM, Larkin G, Jones A, May BJ. Behavioral Animal Model of the Emotional Response to Tinnitus and Hearing Loss.
 57. Bayat AH, Eskandari N, Sani M, Fotouhi F, Shenasaandeh Z, Saeidikhoo S, et al. Anti-inflammatory and antioxidative effects of elderberry diet in the rat model of seizure: a behavioral and histological investigation on the hippocampus. *Toxicol Res (Camb)*. 2023 Oct 1;12(5):783–95.
 58. Saito Y, Okanoya K. Response characteristics of the rat anterior cingulate cortex to ultrasonic communicative vocalizations. *Neuroreport*. 2017 May 1;28(9):479–84.
 59. Wake N, Ishizu K, Abe T, Takahashi H. Prepulse inhibition predicts subjective hearing in rats. *Scientific Reports* | [Internet]. 123AD;11:18902. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98167-6>

60. Xu XM, Feng Y, Wang J, Salvi R, Yin X, Gao J, et al. Auditory–limbic–cerebellum interactions and cognitive impairments in noise-induced hearing loss. *CNS Neurosci Ther.* 2023 Mar 1;29(3):932–40.
61. Akil O, Oursler A, Fan K, Lustig L. Mouse Auditory Brainstem Response Testing. *Bio Protoc.* 2016;6(6).
62. Domarecka E, Olze H, Szczepek AJ. Auditory brainstem responses (Abr) of rats during experimentally induced tinnitus: Literature review. Vol. 10, *Brain Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–27.
63. Bidelman GM, Henry KS, Galazyuk A, Prendergast G, Jung JY, Lee JH, et al. Auditory Brainstem Response to Paired Click Stimulation as an Indicator of Peripheral Synaptic Health in Noise-Induced Cochlear Synaptopathy. 2021; Available from: www.frontiersin.org
64. Charlton PE, Schatz KC, Burke K, Paul MJ, Dent Id ML. Sex differences in auditory brainstem response audiograms from vasopressin-deficient Brattleboro and wild-type Long-Evans rats. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222096>
65. Günebakan Ç, Kahveci OK, Kuzu S, Kandır EH. Ototoxicity of Triclosan: A Rat Model Study. 2022;
66. Siti T, Haryuna H, Reastuty R. Correlation of SOD and MDA Expression in the Organ of Corti and Changes in the Function of Outer Hair Cells Measured by DPOAE Examination in Noise-Exposed Rat Cochlea [Internet]. Vol. 10, *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*. 2021. Available from: www.RBMB.net
67. Manley GA, Maat B, Begall S, Malkemper P, Caspar KR, Moritz L, et al. Otoacoustic emissions in African mole-rats. *Hear Res.* 2024 Apr 1;445.
68. Amellya D, Haryuna TSH, Riawan W. Correlation of signal to noise ratio (SNR) value on distortion product otoacoustic emission (dpoae) and expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) in cochlear organ of corti in rat exposed to noise. *Med Glas.* 2021 Feb 1;18(1):1–5.
69. Dasli S, Murat Topdag •, Mutlu • Ahmet, Kara A, Ozturk • Murat. Prophylactic etanercept treatment in cisplatin ototoxicity. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.* 274.
70. Chandrasekhar SS, Tsai Do BS, Schwartz SR, Bontempo LJ, Faucett EA, Finestone SA, et al. Clinical Practice Guideline: Sudden Hearing Loss (Update).

- Otolaryngology - Head and Neck Surgery (United States). 2019 Aug 1;161(1_suppl):S1–45.
71. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Vol. 160, *Chemico-Biological Interactions*. Elsevier Ireland Ltd; 2006. p. 1–40.
 72. Lu W, Shi Y, Wang R, Su D, Tang M, Liu Y, et al. Molecular Sciences Antioxidant Activity and Healthy Benefits of Natural Pigments in Fruits: A Review. 2021; Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22094945>
 73. Thomas SE, Johnson EJ. Xanthophylls. *Advances in Nutrition*. 2018 Mar 1;9(2):160–2.
 74. Karwowska M, Stadnik J, Dolatowski ZJ, Grela ER. Effect of protein-xanthophylls (PX) concentrate of alfalfa supplementation on physico-chemical properties of turkey breast and thigh muscles during ageing. *Meat Sci*. 2010 Oct;86(2):486–90.
 75. Ma L, Lin XM. Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health. Vol. 90, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010. p. 2–12.
 76. Eggersdorfer M, Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health. Vol. 652, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Academic Press Inc.; 2018. p. 18–26.
 77. Si P, Zhu C. Biological and neurological activities of astaxanthin (Review). *Mol Med Rep*. 2022 Oct 1;26(4).
 78. Lamponi S, Maiuolo J, Bulotta RM, Oppedisano F, Bosco F, Scarano F, et al. Potential Properties of Natural Nutraceuticals and Antioxidants in Age-Related Eye Disorders. 2022; Available from: <https://doi.org/10.3390/life13010077>
 79. Prud'homme GJ, Kurt M, Wang Q. Pathobiology of the Klotho Antiaging Protein and Therapeutic Considerations. Vol. 3, *Frontiers in Aging*. Frontiers Media S.A.; 2022.
 80. Park HA, Hayden MM, Bannerman S, Jansen J, Crowe-White KM, Jazvinšćak M, et al. molecules Anti-Apoptotic Effects of Carotenoids in Neurodegeneration. Available from: www.mdpi.com/journal/molecules
 81. Leelarungrayub J, Puntumetakul R, Sriboonreung T, Pothasak Y, Klaphajone J. International Journal of COPD Dovepress Preliminary study: comparative effects of lung volume therapy between slow and fast deep-breathing techniques on pulmonary function, respiratory muscle strength, oxidative stress, cytokines, 6-minute walking distance, and quality of life in persons with COPD Background: Lung volume therapy with the Voldyne ® device can improve lung volume and. *International Journal of*

- COPD [Internet]. 2018;13–3909. Available from: <http://dx.doi.org/10.2147/COPD.S181428>
82. Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G. Astaxanthin in skin health, repair, and disease: A comprehensive review. Vol. 10, *Nutrients*. MDPI AG; 2018.
 83. Yamashita D, Jiang HY, Schacht J, Miller JM. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res*. 2004 Sep 3;1019(1–2):201–9.
 84. Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS. Medicinal prospects of antioxidants: A review. Vol. 178, *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson SAS; 2019. p. 687–704.
 85. Yamashita D, Jiang HY, Schacht J, Miller JM. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res*. 2004 Sep 3;1019(1–2):201–9.
 86. Escabi CD, Frye MD, Trevino M, Lobarinas E. The rat animal model for noise-induced hearing loss. *J Acoust Soc Am*. 2019 Nov 1;146(5):3692–709.
 87. Kümüş Ö, Olgun Y, Durankaya SM, Aktaş S, Kirkim G, Sütay S. Oleuropein Effect on Noise-Induced Hearing Loss. *Journal of International Advanced Otology*. 2022 Mar 1;18(2):118–24.
 88. Kurioka T, Matsunobu T, Niwa K, Tamura A, Satoh Y, Shiotani A. Activated protein C rescues the cochlea from noise-induced hearing loss. *Brain Res*. 2014;1583(1):201–10.
 89. Kilic K, Sakat MS, Sahin A, Yildirim S, Dortbudak MB. The effectiveness of berberine on noise-induced hearing loss: a rat model. *Rev Assoc Med Bras*. 2022;68(9):1330–6.
 90. Bahaloo M, Mohammad ;, Rezvani E, Yazd EF, Davari H, Houshang Mehrparvar A. Effect of Myricetin on the Prevention of Noise-Induced Hearing Loss-An Animal Model. *Iran J Otorhinolaryngol*. 2019;31(5).
 91. Choi HD, Kim JH, Chang MJ, Kyu-Youn Y, Shin WG. Effects of Astaxanthin on Oxidative Stress in Overweight and Obese Adults. 2011; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.3494>
 92. Lin X, Bo H, Gu J, Yi X, Zhang P, Liu R, et al. Astaxanthin, a carotenoid antioxidant, pretreatment alleviates cognitive deficits in aircraft noised mice by attenuating inflammatory and oxidative damage to the gut, heart and hippocampus. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2022 Apr 1;148.
 93. Gu J, Wang X, Chen Y, Xu K, Yu D, Wu H. An enhanced antioxidant strategy of astaxanthin encapsulated in ROS-responsive nanoparticles for combating cisplatin-

- induced ototoxicity. *J Nanobiotechnology* [Internet]. 2022;20:268. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01485-8>
94. Terzi S. Cite as the Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0) Address for correspondence. *Adv Clin Exp Med* [Internet]. 2021;30(3):315–21. Available from: <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>
 95. Kinal ME, Tatlıpınar A, Uzun S, Keskin S, Tekdemir E, Akakın D. Investigation of Astaxanthin Effect on Cisplatin Ototoxicity in Rats by Using Otoacoustic Emission, Total Antioxidant Capacity, and Histopathological Methods. Available from: <https://us.sagepub.com/en-us/nam/open-access-at-sage>
 96. Toprak SF, Dedeoğlu S. Astaxanthin protects against hearing impairment in diabetic rats. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2022 Nov 1;88:S73–80.
 97. Mohamed NM, Abdelhamid AM, Aref M, Abdelhafeez M, Faris Alotabi H, Mohammed Abdelrahman DS, et al. Role of cytokines and Th17/Tregs imbalance in the pathogenesis of otitis media with effusion. Modulation of Notch1/Hes1/mTORC1/S6k1 signalling pathway underlies the protective effect of astaxanthin. *Int Immunopharmacol*. 2024 Feb 15;128.
 98. Yang S, Wu Y, Cheng X, Zhang LW, Yu Y, Wang Y, et al. Harnessing astaxanthin-loaded diselenium cross-linked apotransferrin nanoparticles for the treatment of secretory otitis media. *Journal of Controlled Release*. 2024 Jan 1;365:398–411.
 99. Gu J, Wang X, Chen Y, Xu K, Yu D, Wu H. An enhanced antioxidant strategy of astaxanthin encapsulated in ROS-responsive nanoparticles for combating cisplatin-induced ototoxicity. *J Nanobiotechnology*. 2022 Dec 1;20(1).

EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-38828770-772.02-2866
Konu : Etik Kurul Kararı

05/05/2023

Sayın Prof. Dr. Bülent ŞERBETÇİOĞLU
Doç. Dr. Işıl Öz

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Gürültüye Maruz Bırakılan Ratlarda Astaxanthin Kullanımının Etkilerinin Odyolojik ve Histopatolojik Olarak Gösterilmesi” isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize sunarım.

Dr. Öğr. Üyesi Muhammed İkbāl ALP
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(MED-HADYEK) Başkanı

Ek:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Evrakınızı <https://turkiye.gov.tr/istanbul-medipol-universitesi-ebys> linkinden BBFC8AD4XB kodu ile doğrulayabilirsiniz.