



NONİLFENOLÜN RATLARDA İŞİTMEYE OLAN ETKİLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Fatih YÜCEDAĞ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Erdoğan OKUR

KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALİ
AFYONKARAHİSAR 2012

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALİ

**NONİLFENOLÜN RATLARDA İŞİTMEYE OLAN
ETKİLERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. Dr. Fatih YÜCEDAĞ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Erdoğan OKUR**

AFYONKARAHİSAR

2012

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

Tez Başlığı : Nonilfenolün Ratlarda İşitmeye Olan Etkileri
Tezi Hazırlayan : Dr. Fatih YÜCEDAĞ
Tez Savunma Tarihi : 03.12.2012
Tez Kabul Tarihi : 03.12.2012
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Erdoğan OKUR

İş bu çalışma jürimiz tarafından KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI' nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan
Doç. Dr. Abdullah AYÇİÇEK
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Erdoğan OKUR	Üye Yrd. Doç. Dr. Orhan Kemal KAHVECİ
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD.	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD.

ONAY
DEKAN V.
Prof. Dr. Ahmet SONGUR

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. KULAK ANATOMİSİ	2
2.1.1. DIŞ KULAK	2
2.1.2. KULAK ZARI	3
2.1.3. ORTA KULAK	3
2.1.4. İÇ KULAK	4
2.2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ	6
2.2.1. SES DALGALARININ PERİLENFE İLETİLMESİ	8
2.2.2. SES DALGALARININ İÇ KULAK YAPILARINA ETKİSİ	9
2.2.3. DÖNÜŞÜM (TRANSDÜKSİYON)	10
2.3. KOBAY KULAĞI ANATOMİSİ	12
2.4. OTOAKUSTİK EMİSYONLAR	13
2.5. İŞİTME KAYBI	15
2.6. NONİLFENOL	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. DENEY HAYVANLARI	18
3.2. DİSTORSİYON ÜRÜNÜ OTOAKUSTİK EMİSYONLA ÖLÇÜM METODU	20
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	23
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ	41
7. ÖZET	43
8. SUMMARY	45
9. KAYNAKLAR	46

TABLO LİSTESİ

Tablo-I: Çalışma grupları

Tablo-II: Kontrol ve etanol grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-III: Kontrol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-IV: Kontrol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-V: Kontrol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-VI: Etanol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-VII: Etanol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-VIII: Etanol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-IX: 0,1 µg/ml NF ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-X: 0,1 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Tablo-XI: 10 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1: Kulak yapıları anatomisi

Şekil-2: Kokleanın kesiti

Şekil-3: Ses iletiminin dış, orta ve iç kulak boyunca işitme sistemine iletilmesi

Şekil-4: Kobay kokleası

Şekil-5: Otoakustik emisyon ölçümünde kullandığımız otoakustik emisyon cihazı

Şekil-6: Otoakustik emisyon ölçüm düzeneği

Şekil-7: Çalışmamızda otoakustik emisyon ölçümünde kullanılan yeni doğan probu

Şekil-8: Ratlarda otoakustik emisyon ölçümü

Şekil-9: Kontrol ve etanol grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-10: Kontrol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-11: Kontrol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-12: Kontrol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-13: Etanol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-14: Etanol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-15: Etanol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-16: 0,1 µg/ml NF ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-17: 0,1 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-18: 10 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

KISALTMALAR

NF: Nonilfenol

DKY: Dış kulak yolu

EP: Endolenfatik potansiyel

KM: Koklear mikrofonik

SM: Sumasyon potansiyeli

TSAP: Tüm sinir aksiyon potansiyelleri

dB: Desibel

Hz: Hertz

OAE: Otoakustik Emisyonlar

SOAE: Spontan Otoakustik Emisyon

TEOAE: Transient Evoked Otoakustik Emisyon

DPOAE: Distortion Product Otoakustik Emisyon

AFB: Alkilfenol etoksilat bileşikleri

SNR: Signal to noise(sinyal gürültü oranı)

µg: Mikrogram

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanlar arasında iletişim yolları içinde en önemli ve en sık kullanılanı konuşarak anlaşma yoludur. Diğer koşulların varlığında, konuşmanın en önemli unsuru işitmedir. İşitme kaybı, derecesi ne olursa olsun çocuğun zeka gelişimini, konuşmayı ve dili öğrenmesini etkilerken, sosyal ve duygusal sorunlara da yol açabilir. Bu işitme kayıplarının bir kısmı doğumsal olabilmektedir. Bir kısımda bazı hastalıklarda kullanılan ilaçların yan etkisi olarak veya farkında olmadan maruz kaldığımız kimyasal maddelerden oluşabilir.

Günümüzde ototoksik etkisi bulunan pek çok ilaç ve kimyasal maddelerin olduğu bilinmektedir. Potansiyel olarak ototoksik olduğunu düşündüğümüz kimyasal maddelerden biri de nonilfenol (NF)'dür.

Nonilfenol endüstride yaygın olarak kullanılan, çevremizde yoğun olarak karşılaştığımız toksik, karsinogenik, östrojenik ve nörotoksik etkisi olan, insan ve hayvan sağlığı için tehlike yaratabilecek nitelikte olduğu gösterilmiş kimyasal bir maddedir (1,2).

Bu çalışmadaki amacımız ratlarda NF'nin işitme üzerindeki olumsuz etkisini araştırmaktır ve böyle bir etkilene me mevcutsa başta bu maddelerin üretiminde çalışan işçiler olmak üzere endüstriyel bölgelerde yaşayanlar için gerekli önlemlerin alınmasını sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

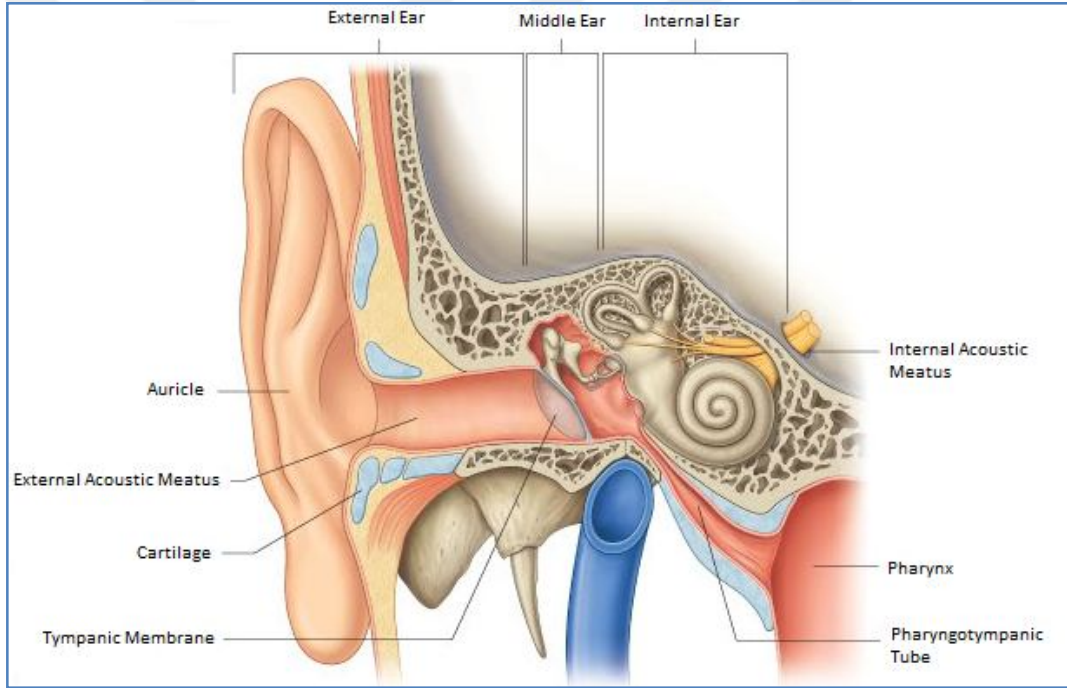
2.1. KULAK ANATOMİSİ

İşitme ve dengenin periferik organı olan kulak, temporal kemik içine yerleşmiş, görevleri ve yapıları birbirinden farklı üç parçadan oluşur (Şekil-1) .

1. Dış kulak

2. Orta kulak

3. İç kulak



Şekil-1: Kulak yapıları anatomisi (Drake R. Gray's Antomy for Students)

2.1.1. DIŞ KULAK

Dış kulak auriküla ve dış kulak yolundan (DKY) oluşur. Dış kulak sesin orta ve iç kulağa iletilmesini sağlar. Auriküla deri ve perikondriumla çevrilmiş sarı, elastik fibrokartilajdan oluşmuştur. Auriküla timpanik kemiğe fibrokartilajinöz kanala verdiği lifler sayesinde sıkıca yapışmıştır. Dış kulak

yolu konkal kartilajdan timpanik membrana kadar uzanır. Yetişkinlerde uzunluğu yaklaşık 25-30 mm'dir. Lateral 1/3 kısmı kıkırdak, medial 2/3 kısmı kemikten oluşur. Dış kulak yolunun kıkırdak parçasının ön duvarında santorini incisura adı verilen iki adet fissür vardır. Bunlar dış kulak yolunun fleksibiletisini arttırlar.

2.1.2. KULAK ZARI

Orta kulağı dış kulaktan ayıran şeffaf, çok katlı, oval biçimde bir yapıdır. Membranın vertikal çapı 9-10 mm, horizontal çapı ise 8-9 mm' dir. Timpanik membran DKY'den gelen ses dalgaları ile titreşim hareketi kazanır ve bu hareketi kemikçiklere iletir.

2.1.3. ORTA KULAK

Orta kulak, kulak zarı ile iç kulak arasına yerleşmiş bir boşluktur. Ses dalgalarının iç kulağa iletilmesinde görev alır. Orta kulak boşluğu, östaki borusu ile dış ortamla ve aditus yolu ile mastoidin havalı boşlukları ile bağlantılıdır. Orta kulak boşluğunda ses dalgalarının DKY'den iç kulağa iletilmesini sağlayan birbirine bağlı eklem yapan, üç adet kemikçik vardır. Bunlar kulak zarına yapışık olan malleus, inkus ve oval pencereyle ilişkisi olan stapeştir. Kulak kemikçikleri arasında iki adet eklem vardır. Bu eklemlerden birincisi incudomalleoler eklemdir. Eklem caput mallei ve corpus incudis arasındadır. Diğer eklem ise incudostapedial eklemdir. Bu eklemden incusun processus lenticularisi ve caput stapedius arasındadır. Kulak zarının ve orta kulak boşluğunun temel görevi, havada yayılan ses dalgalarını güçlendirerek iç kulağa iletmektir. Bu ses enerjisinin güçlendirilmesinde kulak zarı ile stapes kemikçığının taban alanları arası oran ile bu kemikçik zincirin kaldıraç etkisi önemli rol oynamaktadır.

Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlayan huni şeklinde bir yapıdır. 35-40 mm uzunluğunda, 1/3 dış kısmı kemik, 2/3

iç kısmı kıkırdaktan oluşmaktadır. Östaki borusu, dış kulak ile orta kulak arasındaki basıncın eşitlenmesini sağlar.

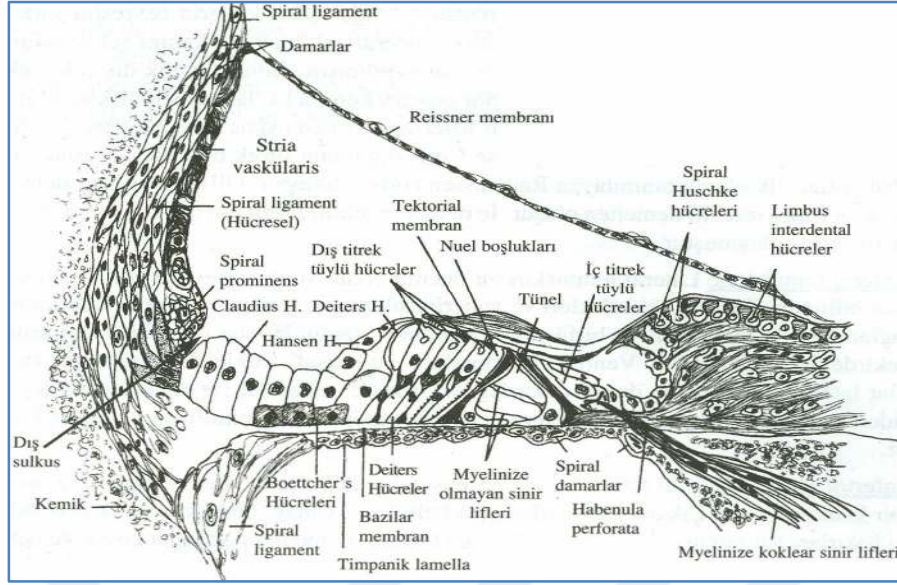
2.1.4. İÇ KULAK

İç kulak petröz kemiğe yerleşmiş, işitme ve denge organlarını barındırır. Yuvarlak ve oval pencereler yoluyla orta kulak, koklear ve vestibüler aquaduktuslar yoluyla kafa içine bağlantılıdır. Kemik ve zar labirent olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır.

Kemik labirent: Kemik labirent 3 parçadan oluşur; 1. Ön labirent (koklea), 2. Vestibül, 3. Arka labirent (yarım daire kanalları)

Zar labirent: Zar labirent kemik labirenti aynen taklit eder. Ancak zar yapılar kemik labirenti tamamen doldurmaz. Onun ancak 1/3 kısmını işgal eder. Zar ve kemik labirent arasında sodyumdan zengin perilemf ve zar labirentin içinde ise potasyum iyonundan zengin endolenf bulunur. Zar labirent de kabaca üç parçadan oluşur. Koklea, vestibülde yer alan iki otolit organı ve arka labirentteki üç yarım daire kanalı.

Koklea: Modiolus adı verilen koni şeklindeki yapı etrafında arkadan öne, içyandan dışyana doğru 2,5 defa dolanan bir kanaldır. Koklea, duktus koklearis denilen üçgen biçimde bir boşluktur ve her bir duvar ayrı ayrı incelenir: Reissner membranı, lateral duvar ve baziller membran ile kemik spiral lamina (3) (Şekil-2).



Şekil-2: Kokleanın kesiti (Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi, cilt:1)

Reissner membranı: Skala media ile skala vestibüliyi birbirinden ayırır. Reissner membranı suya geçirgendir. Fakat büyük moleküllerin geçişine engel olur. Bu şekilde perilenfteki büyük moleküllu hücrelerin endolenfe geçmesi önlenir (3). Lateral duvar duktus koklearisin yan ve dış duvarıdır. Bu tabakanın dışında da otik kapsülün iç yüzeyi vardır. Spiral ligament dış duvarın en dışta kalan kısmıdır. Gevşek bağ dokusundan yapılmıştır. Lateral duvarda stria vaskularis bulunur. Stria vaskularis endolenfle komşu hücrelerdir. Bu yapıda asıl olarak üç çeşit hücre tanımlanmıştır: Marjinal, intermediate ve bazal hücreler. Marginal hücreler esas fonksiyonel hücrelerdir. Endolenfatik elektrik potansiyelini sağladıkları kabul edilmektedir. K^{+} dan zengin Na^{+} dan fakir bir iyon konsantrasyonunu sağlarlar (3).

Bazal membran, işitme fonksiyonunda önemli görevi olan ve bağ dokusundan oluşan bir membrandır. Bu membran üzerinde de corti organı adı verilen işitme organı bulunur.

Korti organı, işitme fonksiyonunda görev alan en önemli yapıdır. Perilenfteki mekanik titreşimleri sinir liflerini uyaran elektriksel akımlara dönüştürür. Transdüksiyonda rol alır. Dıştan içe doğru; hensen hücreleri, dış korti tüneli, 3–4 sıra dış tüylü hücre dizisi, parmaklı çıkıntıları olan dieters hücreleri, nuel aralığı, dış sütun pillar hücreler, iç titreşim tüylü hücreler, iç parmaklı hücreler, iç sınır hücrelerini içerir (3). Corti organında bulunan sensöriyel hücreler titreşim tüylere sahiptirler ve bunlara stereosilia denir. Stereosilialar hem iç hem de dış titreşim tüylü hücrelerin apikal kısmında bulunur. Bu yapıları nedeniyle titreşim tüylü hücreler, ses enerjisinin, yani mekanik enerjinin, sinir enerjisine dönüşümünde çok önemli göreve sahiptirler. Ses enerjisinden sinir enerjisine dönüştürülen uyarılar afferent sinir liflerine aktarılır. Buna “neural coding” ya da “relay” denir. İç ve dış titreşim tüylü hücreleri innerve eden sinir lifleri, spiral ganglionda yerleşmişlerdir (3).

İnsanlarda işitme siniri 30.000 liften yapılmıştır. Bu liflerin %90-95'i Tip-I nöron şeklindedir ve iç titreşim tüylü hücrelerde sonlanır. Buna karşılık %5-10'u Tip-II nöron tipinde olup dış titreşim tüylü hücrelerde sonlanırlar. Tip-I nöronlar 50 kat myelin ile örtülüdür ve bipolar hücrelerdir, yani spiral gangliondaki hücrelerden çıkan dendritler iç titreşim tüylü hücrelere giderken aksonlar süperior olivary komplekse (SOK) ulaşır. Tip-II nöronlar ünipolar hücrelerdir ve myelin kılıfları çok ince olduğundan miyelinsiz olarak kabul edilirler. İşitme siniri afferent bir sinirdir. Ayrıca, 1800 liften ibaret bir efferent sinir de vardır (3).

2.2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Atmosferde meydana gelen ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanmasından beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar olan süreç işitme olarak adlandırılır. İşitme sistemi denen geniş bir bölgeyi ilgilendirir. İşitme işlevi ses dalgalarının dış kulak yoluna girmesi ile başlar. Dış kulak yolundan ilerleyen ses dalgaları kulak

zarında titreşime neden olur. Bu titreşim kulak zarına yapışık olan malleusa iletilir. Titreşim kemikçikler yolu ile stapes tabanından oval pencereye, buradan da iç kulak sıvılarına iletilir (4). İç kulak sıvılarında meydana gelen bu titreşimler oval pencereden yuvarlak pencereye doğru bir dalgalanmaya neden olur. Baziller membran endolenf üzerindeki basınçla aşağı, skala timpaniye yönelir. Üzerindeki tüylü hücrelerin stereosilyaları, gömülü bulundukları tektoriyal membrandan çekilerek uzaklaşır ve osilasyona uğrarlar. Baziller membranın aşağı doğru hareketi ile tüylü hücreler polarize olurlar. Ters yönde hareketlenme ile hiperpolarizasyona neden olur.

Elektrokimyasal dönüşümle sinir uyarımları doğar ve 8. kafa çiftine ait sinir lifleriyle merkeze iletilir (4,5). Orta kulak kemikçik sistemi ile iç kulak yapılarının arasındaki ilişki şekil-3'te gösterilmiştir.

İşitme birbirini izleyen birkaç fazda gerçekleşir.

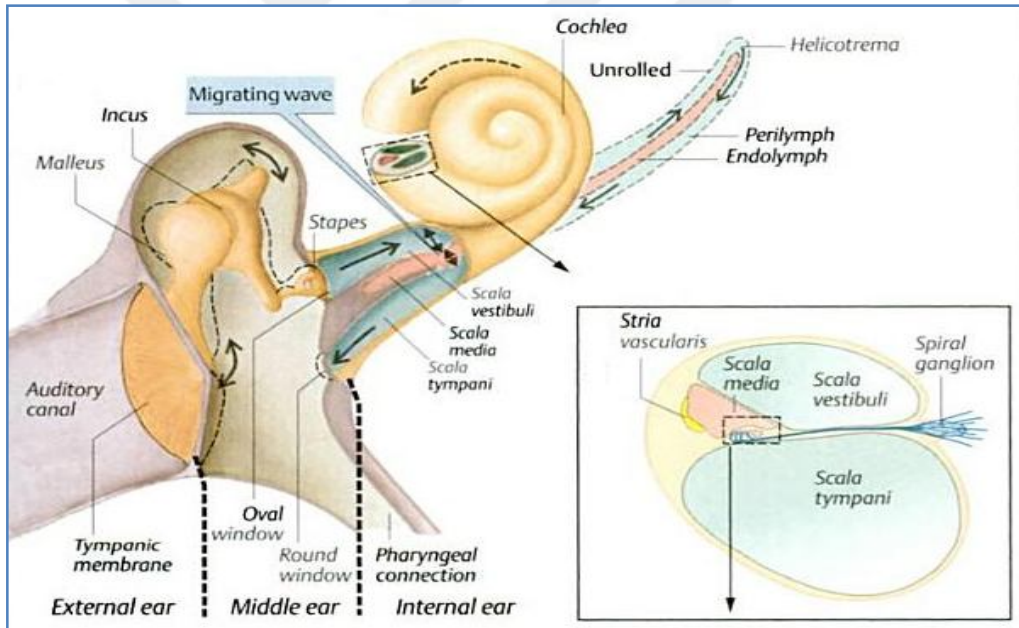
- 1) İşitmenin olabilmesi için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden korti organına iletilmesi gereklidir. Bu mekanik bir olaydır ve sesin bizzat kendi enerjisi ile sağlanır. Bu olaya iletim “kondüksiyon” denir.
- 2) Korti organında ses enerjisi sinir enerjisi haline dönüşür. Tıpkı elektrik enerjisinin bir ampülde ışık enerjisine dönüşmesi gibi, korti organı da ses enerjisini sinir enerjisi haline dönüştürür.
- 3) İç ve dış titreşim tüylerinde meydana gelen elektrik akımı kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre değişik sinir liflerinde iletilir.
- 4) Tek tek gelen bu sinir iletimleri işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür. Yani sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale gelir.

Ses dalgalarının korti organına iletilmesi sürecinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu, orta kulağın yönlendirici ve şiddetlendirici etkisi vardır. Ses dalgaları başa çarpınca yansır, az bir kısmı

da kırılır. Sesin geliş yönüne göre, ses dalgalarının çarptığı kulak tarafında ses dalgalarının basıncı artar, aksi taraftaki kulak bölgesinde basınç düşer. Bu sesin iki kulağa ulaşması arasında 0,6 msn bir fark oluşturur ki sesin geliş yönünü bu şekilde ayırt edebiliriz.

Kulak kepçesinin konumu ve şekli ise ses dalgalarını toplamaya ve dış kulak yoluna iletilmesini sağlar. Ayrıca ses şiddetini 6 dB arttırdığı var sayılmaktadır.

Orta kulağa gelen ses dalgaları iç kulağa iletilir. Bu iletim iki yolla olmaktadır. Ses dalgaları ya kulak zarı ve kemikçikler sistemi ile ya da orta kulaktaki havanın titreşimi ile oval ve yuvarlak pencere yoluyla perilenfe aktarılır. Bu iki iletim arasında kulak zarı ve kemikçikler sistemi 30 dB daha şiddetli iletim sağlar. Buna defazaj denir.



Şekil-3: Ses iletiminin dış, orta ve iç kulak boyunca işitme sistemine iletilmesi (Silbernagl S. Color Atlas of Physiology, 6.Baskı)

2.2.1. SES DALGALARININ PERİLENFE İLETİLMESİ

Bekesy 1960 yılında kobaylarda stroboskopik aydınlatma ile ses dalgalarının baziller membranda meydana getirdiği değişiklikleri araştırdı. Ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir. Bu hareket

baziller membranda titreşimlere neden olur. Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy bu harekete ilerleyen dalga “travelling wave” adını vermiştir.

Baziller membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde bazal membran amplitüdüleri bazal turda, alçak frekanslarda bazal membran amplitüdüleri apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır.

2.2.2. SES DALGALARININ İÇ KULAK YAPILARINA ETKİSİ

İç kulağın anatomik yapısında çok değişik yapılar vardır. İnsan kokleası yaklaşık 35 mm uzunluğunda bir kemik tüptür.

Korti organının belli başlı yapıları şunlardır; iç ve dış titreşim tüylü hücreler, retiküler lamina, destek hücreleri, tektoryal membran ve kutiküler tabaka kompleksidir. Destek hücreleri metabolik ve yapısal olarak korti organına destek sağlar. Dış ve iç titreşim tüylü hücreler, ses enerjisinin sinir enerjisine dönüşümünde çok önemli role sahiptir. Bu iki hücre yapısal bakımından birbirinden farklıdır. Dış titreşim tüylü hücreler yaklaşık olarak 12000 adettir. Dış titreşim tüylü hücreler silindirik şekillidir ve çok sayıda stereosilya içerir. Bu hücreler iç titreşim tüylü hücrelerden farklı olarak, en uzun stereosilyası tektoryal membrana tamamen gömülmüştür. Afferent innervasyonu tip II gangliyon hücreleri, efferent innervasyonu medial süperior olivatuvar kompleksten sağlanır. Baziller membran hareketi titreşim tüy hareketleri ile büyük ölçüde ilişkilidir. Titreşim tüylerin titreşim amplitüdüleri arttıkça baziller membran amplitüdüleri de artar. Amplitüd artması özellikle dış titreşim tüylü hücrelerin hareket amplitüdüne bağlı olarak artış gösterir. Yani, her dış titreşim tüylü hücrenin titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır.

2.2.3. DÖNÜŞÜM (TRANSDÜKSİYON)

Dönüşüm olayının meydana gelişi, yani baziller membran hareketi ile sinir enerjisinin oluşması kokleada bulunan 4 tane ekstrasellüler elektrik potansiyelin fonksiyonu ile bağlantılıdır. Bu potansiyeller şunlardır;

1. Endolenfatik potansiyel (EP)
2. Koklear mikrofonik (KM)
3. Sumasyon potansiyeli (SM)
4. Tüm sinir aksiyon potansiyelleri (TSAP) veya bileşik aksiyon potansiyeli (BAP)

Endolenfatik Potansiyel (EP)

Kokleadaki stria vasküleristen kaynaklanan 80-100 mv'luk doğru akımdır. Transdüksiyon olayı için EP mutlaka gereklidir. EP'nin kaynağının stria vaskülaris olduğu kabul edilmekle birlikte, enerjinin nasıl meydana geldiği tartışmalı bir konudur. Endolenfin oluşumundaki bozukluklar EP'yi etkiler ve metabolik presbiakuzi denen işitme kayıplarına neden olabilir.

Koklear Mikrofonik (KM)

Koklea içinde veya oval pencere kenarında ölçülen AC akımdır. Büyük ölçüde dış titreşim tüylü hücrelere ve bunların meydana getirdiği potasyum iyonu akımına bağlıdır. Baziller membran hareketi ve ses uyarıları ile direkt ilişkilidir. Dış tüylü hücrelerin stereosilyalarının hareketi ile dış titreşim tüylü hücrelerin direnci değişir. Stereosilyalar modiollardan uzaklaştıkça direnç düşer, modiollara yaklaştıkça ise direnç artar. Bu hareket potasyum iyonu hareketlerini ters yönde etkiler. EP de bu hareketlerden etkilenir. Dış titreşim tüylü hücrelerin tahribinde KM kaybolur.

Sumasyon Potansiyeli (SM)

Sumasyon potansiyeli çoğunlukla titrekle tüylü hücrelerin içindeki elektrikli potansiyelin yönlendirdiği bir akımdır. Daha çok dış titrekle tüylü hücrelerin hücre içi potansiyeli ile ilgilidir. Ses uyarısına, frekansına ve uyarının şiddetine bağlıdır.

Tüm Sinir Aksiyon Potansiyeli (TSAP)

TSAP işitme siniri liflerinden ölçülür. TSAP yuvarlak pencere kenarına, kafatasına, dış kulak yoluna veya sinirin kendisine konan elektrotlar ile ölçülür.

Transdüksiyon olayının meydana gelmesinde titrekle tüy ve stereosilya kompleksinin rolü olduğu kabul edilmektedir. Stereosilyalar aktinden yapılmıştır ve kutiküler tabaka içine yerleşmiştir. İç titrekle tüylü hücrelerin stereosilyaları tektoryal membran ile doğrudan ilişkili değildir. Aralarındaki bağ dokusu zayıftır. Bunun aksine dış tüylü hücrelerin stereosilyaları tektoryal membran ile sıkı ilişki kurarlar. Stereosilyaların apikal yüzeyinde spesifik olmayan iyon kanalları vardır. Stereosilyaların hareketi ile bu kanallar açılır ve kapanırlar.

Endolenf içinde +80 mv'luk bir endolenfatik potansiyel vardır. Titrekle tüylü hücrelerin içinde ise negatif elektrikli yük bulunur. Bu negatif elektrikli yük iç titrekle tüylü hücrelerde -45 mv, dış titrekle tüylü hücrelerde -70 mv'dur. Bu fark sonucunda hücre içine doğru K^+ iyonları akımı ortaya çıkar ve birtakım kimyasal transmitterler aracılığıyla K^+ akımı elektrikli bir polarizasyon ortaya çıkarır. Sonuç olarak baziller membran hareketleri elektrik akımına dönüşür ve sinir liflerini bu elektrikli potansiyel aktarılır. Bu yolla mekanik enerji stapes tabanından perilenfe aktarılır ve titrekle tüylü hücrelerde elektrikli akıma dönüşür.

2.3. KOBAY KULAĞI ANATOMİSİ



Şekil-4: Kobay kokleası

Koklea timpanik kavite içindeki en belirgin yapıdır ve timpanik kavitenin medial duvarının büyük bölümünü oluşturur. Koklea mediolateral, posteroanterior çok az da süperoinferior olarak uzanır. Göksu ve ark. kobaylarda kokleanın kendi çevresinde 3,25 kez, Şehitoğlu ve ark. ise 4,25 kez döndüğünü bildirmişlerdir (6) (Şekil-4). İç kulak kavitesi geniştir ve ince bir kemikle sarılmıştır. Koklea ve her üç semisirküler kanal orta kulak boşluğunda çıkıntı yapar ve böylece kolaylıkla tanınabilirler (7). Koklea insanda olduğu gibi skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç tübüler kompartmandan oluşur. Oval pencere skala vestibüliye, yuvarlak pencere skala timpaniye açılır. Skala vestibüli ve skala timpani apikalde birleşir. Skala timpani ve skala vestibüli içerisinde perilemf bulunur. Skala media ise kapalı bir kanaldır ve içerisinde endolenf bulunur. Osseöz spiral lamina ve bazal membran skala timpaniyi, skala vestibüli ve skala media'dan ayırır. Skala media ve skala vestibüli arasındaki sınırı ise reissner membranı yapar. Kobay ve insan kulağı birçok morfolojik yönden benzerlik göstermesine rağmen bazı farklılıklar mevcuttur (8).

1. Timpanik membran ve timpanik halkanın boyutları temporal kemiğin büyüklüğüne oranla insandakinden daha büyüktür.
2. Timpanik membranın pars flaksidası yoktur.

3. Havalı hücre sistemi daha basit olup dört büyük hücreden oluşur ve insandaki trabekülasyon yoktur.
4. Kobaylarda timpanik bulla olarak adlandırılan çok geniş ve muntazam bir orta kulak boşluğu mevcuttur.
 - a. Kemikçikler iki tanedir. Malleoinkudal kompleks ve stapes.
 - b. İnsan embriyosunda bulunan krista stapedis kobayda kalıcı olarak bulunur.
 - c. Östaki tüpünün tamamı kıkırdak yapıdadır.
 - d. Koklea timpanik bullanın medial duvarının büyük bir bölümünü oluşturur.
 - e. Kobaylarda koklea 3,25 veya 4,25 tur dönüş yapar. İnsanda ise dönüş sayısı 2,5-2,75' dir (6,8).

Thorne ve ark. yaptığı çalışmada sıçanlarda skala timpaninin hacmini 1,04 µl ve uzunluğunu 7,25 mm, skala vestibülünün hacmini 1,59 µl ve uzunluğunu 6,32 mm ve koklear endolenfin hacmini 0.39 µl ve uzunluğunu 10,42 mm bulmuştur (9).

2.4. OTOAKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonlar (OAE) afferent nöral entegresyonundan bağımsız olarak, prenöral seviyede koklea titretilen tüylü hücrelerinde üretilen düşük şiddetli, nonlineer akustik sinyallerdir.

İlk kez 1978 yılında Kemp insan dış kulağına yerleştirdiği son derece hassas ve ufak mikrofonlar yardımı ile doğrudan doğruya kulakta meydana gelen akustik sinyallerin var olduğunu saptamıştır. Bunlar bizzat insan kokleasında meydana gelmektedirler. Yani bir çeşit koklea tarafından yayınlanan ses sinyalleridir (10). Bu ses sinyalleri, dış saçlı hücrelerin vibrasyonları sonucu oluşan enerjinin kokleadaki sıvılardan geriye doğru

orta kulak ve timpanik membrana iletilmesiyle dış kulak yolunda oluşan ses dalgalarıdır, yani elektriksel değil titreşimsel aktivitelerdir (11).

OAE'lerin varlığı saçlı hücrelerin fonksiyonel olduğunu ve işitme eşiğinin 30-40 dB'den iyi olduğunu gösterir, ancak işitme eşiği seviyesini tespit edemez (12). Bunun yanı sıra ototoksik ilaç, gürültü hipoksi gibi kulak için zararlı ajanlara karşı da hassasiyet göstermektedir.

Otoakustik emisyon ölçümlerinde dış kulak yoluna uygun ölçüde bir prob takılır. Bu prob yardımıyla iç kulağa spesifik bir uyarın verilir ve kokleanın bu sese karşı verdiği reaksiyon özel olarak yerleştirilmiş bir mikrofön tarafından kaydedilir. OAE ölçümünde dış kulak yoluna prob yerleştirilmesi ve sessiz bir ortamda yapılması en önemli kısımdır.

Objektif, hızlı, güvenilir, ucuz ve non-invaziv bir yöntem olan OAE ölçümleri özellikle yeni doğan işitme tarama programlarında güvenilir ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

OAE'ler başlıca dörde ayrılmaktadır:

1. Spontan otoakustik emisyon (SOAE)
2. Geçici uyarılmış otoakustik emisyon (Transient evoked otoakustik emisyon, TEOAE)
3. Stimulus-frekans otoakustik emisyon
4. Bozulmuş ürünler otoakustik emisyon (Distortion product otoakustik emisyon, DPOAE)

OAE'ler klik yani geniş band ses uyarınları ile ya da transient ses uyarınları ile meydana gelebileceği gibi herhangi bir uyarın olmadan spontan olarak da saptanabilirler, bunlara spontan OAE denir. Sağlıklı kulakların %30 - 40'ında SOAE'ler saptanabilmektedir (12). Klinikte koklear fonksiyonun değerlendirilmesinde kullanılmamaktadır.

Transient evoked otoakustik emisyon, klik stimulus ile elde edilen otoakustik emisyon cevaplarıdır. Normal işiten insanların hemen hemen hepsinde (%99) tespit edilmektedir. Bir klik sonrası ortaya çıkan OAE'ler

kişilere göre değişiklik gösterir, fakat aynı kişide zamanla değişmeye uğramaz (10).

Pür ton ses uyarıları ile de OAE elde edilir. Ancak bunun için iki ayrı frekansta sürekli ses verilmesi gereklidir. Bu şekilde elde edilen OAE'ler orijinal stimülusta bulunmayan distorsiyon ürünlerini içerirler ve bu yüzden "distortion product" adını alırlar. Verilen pür ton ses uyararı frekanslarını f_1 ve f_2 diye adlandıırırsak $2f_1-f_2$ ya da f_2-f_1 bu ölçümün sonucunu verir. Genellikle bu ölçümler kişiden kişiye sabittir, zamanla değişmez. İşitme eşiği 50 – 60 dB'in üzerindeyse "distortion prduct" OAE (DPOAE)'ler saptanamaz.

Bu ölçümle kokleanın durumu izlenebilir. Ototoksik ilaç kullananlarda DPOAE ile ilacın kokleaya toksik etki yapıp yapmadığı, pür ton odyogramlardan çok daha önce ortaya konabilir (10).

Stimulus-frekans otoakustik emisyon, transient uyarılmış OAE'lara benzer ancak klik stimulus yerine devamlı pür ton sinyaller kullanılır (13). Diğer emisyonlar kadar geniş ölçüde çalışılmamıştır. Akustik stimulusu cevaplardan ayırmak güçtür ve klinik kullanımı kısıtlıdır.

2.5. İŞİTME KAYBI

İşitme kaybı, 700-1000 bebekten birinde görülen en önemli sağlık sorunlarından biridir (14). İşitme kaybı genetik ya da non-genetik, prelingual ya da postlingual, sendromik ya da non sendromik olarak sınıflandırılabilir (15). Kalıtsal işitme kaybına neden olan en önemli sendromlardan birisi DIDMOAD (diyabetes insipidus, diyabetes mellitus, optik atrofi ve deafness yani sağırılık) olarak da bilinen Wolfram sendromudur (16). Bu sendromun mitokondriyal DNA (mtDNA) mutasyonlarına bağlı olarak geliştiği rapor edilmektedir. Non-sendromik olarak gelişen işitme kayıplarında da yine mitokondrideki 12S rRNA'da meydana gelen mutasyonların etkisi olduğu ortaya konmuştur (15).

Nükleer DNA'ya oranla, mtDNA mutasyonlara daha fazla maruz kalmaktadır. Çünkü mitokondri içerisinde oksijen radikallerinin üretimi diğer organellerden çok daha fazladır ve mtDNA'daki DNA tamir mekanizması nükleer DNA'ya oranla çok daha zayıftır. Bu nedenle mtDNA'daki mutasyonların büyük çoğunluğu, DNA'daki bazların çok sık oksidasyona uğramasından kaynaklanmaktadır (17). Karadeniz ve ark. NF'nin konsantrasyona bağlı olarak guanin bazında oksidasyona neden olduğunu ortaya koymuştur (18). Bu da NF'nin mtDNA üzerinde mutajenik bir etkiye sahip olabileceğini ve somatik mutasyonların ortaya çıkmasına neden olabileceğini göstermektedir.

2.6. NONİLFENOL

Nonilfenol (NF) organik bileşikler ailesindendir ve alkilfenollerin alt kümesindendir. 25°C'deki yoğunluğu 0,953 gL⁻¹'dir. Etanol ve dimetilsülfoksid (DMSO) gibi çözücülerde iyi çözünmektedir. Sudaki çözünürlüğü 6 mg/L (pH 7)'dir.

Alkilfenol etoksilat bileşikleri (AFB); deterjanlarda, ot ve böcek ilaçlarında, boyalarda, kozmetiklerde, plastik eşyalarda iyonik olmayan yüzey aktif maddeleri veya antioksidan olarak yaygın bir şekilde kullanılan, endokrin sistemi bozucu etkiye sahip maddelerdir (19). AFB'lerin dünyadaki yıllık üretimi toplamı 500,000 metrik tonun üzerinde olup, bu miktarın % 60'dan fazlasının dere, nehir, göl ve deniz gibi su kütlelerinde biriktiği ortaya konmuştur. Sularda biriken, AFB bileşikleri, biyolojik bozunuma uğrayarak, nonilfenol (NF), oktilfenol (OF) ve bütilfenol (BF) gibi estrogenik özelliği daha fazla ve biyolojik bozunuma daha dayanıklı olan ve alkilfenol (AF) denilen bileşikler haline dönüşmektedirler (19-21).

NF daha çok atık sular ile sulanmış bitkilerden ya da doldurulmuş arazi, çiftlik ve otlaklardan çevreye yayılır (22). NF anaerobik olarak stabilize edilmiş atık sularda yüksek konsantrasyonda bulunmasına rağmen (0.45 – 2.53 gr/kg), nehir suyundaki konsantrasyonu sedimanlarda

(nehir ve göl yatağındaki çökmüş çamur yığını) ve çamur bulaşmış topraklarda azalma göstermiştir. NF'nin dağılımı yaklaşık olarak suda %25, sedimanlarda > %60, toprakta > %10'dur (23). Uğuz ve arkadaşları da Değirmendere ve Sakarya ırmaklarında sediman ve balıklar üzerine yaptıkları çalışmada nonilfenole rastlamışlardır (24).

İnsanlar NF ve parçalanma ürünlerine, kirlenmiş içme suyunun içilmesi ile lağım çamurunun gübre olarak kullanılmasıyla, akuatik flora ve faunanın besin olarak kullanılmasıyla maruz kalmaktadırlar. Kontaminasyon şampuanlar, deterjanlar, kozmetikler ve spermisid kayganlaştırıcılardan deri ve mukozalardan emilim yoluyla, pestisit spreylerden ise oral ya da inhalasyon yoluyla kontamine olmaktadır.

Yukarıda belirtildiği gibi, gerek sendromik gerekse non-sendromik işitme kayıplarında mitokondriyal DNA mutasyonları önemli rol oynamaktadır. Nonilfenolün mtDNA'da mutasyonlara neden olabileceği rapor edilmektedir. Bu çalışmanın amacı da NF'nin işitme kaybına neden olup olmadığını ortaya çıkarmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi (AKÜ) Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı olanakları kullanılarak yürütülmüştür. Araştırma AKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKÜHADYEK) onayı (B.30.2.AKÜ.0.9Z.00.00/68 sayılı yazı) alındıktan sonra, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.'de üretilmiş ağırlıkları ortalama 250 gr olan 50 adet sağlıklı Sprague Dawley cinsi rat üzerinde, 6 haftalık süreç planlanarak yapılmıştır.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışma öncesinde orta kulağın durumu ve dış kulak yolu otoskopik muayene ile değerlendirildi. Dış kulak yolunda buşonu olanlar, kulak zarı anormal olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilen 50 rat onarlı 5 gruba ayrıldı (Tablo-1). Gruplardaki ratların her iki kulağında çalışmaya alınarak, her grupta toplam 20 kulak değerlendirildi. Ratlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 25 santigrat derece sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri ve gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Çalışma sırasında ortamın gürültüsüz olmasına dikkat edildi. Ratlara intramüsküler ketamin hidroklorür 45 mg/kg ve xylacine 5 mg/kg ile anestezi sağlandıktan sonra distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) ölçümleri yapıldı.

Çalışmada kullanılacak olan nonilfenol çözeltisi üç farklı derişimde hazırlandı. NF suda çözünmediği için solvent (etanol) kullanıldı. Etanol içinde çözünen NF'den; 0,1 µg/ml, 10 µg/ml ve 1000 µg/ml derişiminde olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler sıçanlara günde 1 ml ve 6 hafta boyunca her gün aerosol olarak uygulandı ve kafeslerin üzeri bez örtü ile kapatılarak 30 dk boyunca ratların NF derişimini teneffüs etmeleri

sağlandı. Meydana gelebilecek etkinin NF'den mi yoksa etanolden mi olduğunu anlamak için ikinci gruba etanol günde 1 ml 6 hafta boyunca her gün aerosol olarak verildi. Yine kafeslerin üzeri bez örtü ile kapatıldı ve ratların 30 dk boyunca etanolü teneffüs etmeleri sağlandı. Kontrol grubuna 6 hafta boyunca sadece standart rat yemi ve su verildi.

1.Grup	10 adet rat	Kontrol grubu	6 hafta boyunca standart rat yemi ve su verildi.
2.Grup	10 adet rat	Solvent Kontrol (Etanol)	6 hafta boyunca aerosol yolla her gün 1 ml etanol verildi.
3.Grup	10 adet rat	0.1 µg/ml NF grubu	6 hafta boyunca aerosol yolla her gün 1 ml, 0,1 µg/ml NF verildi
4.Grup	10 adet rat	10 µg/ml NF grubu	6 hafta boyunca aerosol yolla her gün 1 ml, 10 µg/ml NF verildi
5.Grup	10 adet rat	1000 µg/ml NF grubu	6 hafta boyunca aerosol yolla her gün 1 ml, 1000 µg/ml NF verildi

Tablo-1: Çalışma grupları

Grup 1: 10 adet yetişkin rattan oluşan bu grup kontrol grubu olarak alındı. Bu gruba herhangi bir kimyasal uygulama yapılmadı. Çalışmanın 6. haftası sonunda sıçanlara DPOAE ölçümleri yapıp sonuçları diğer gruplarla karşılaştırıldı.

Grup 2: 10 adet yetişkin rattan oluşan bu gruba 6 hafta boyunca rat başına günlük 1 ml etanol içerecek şekilde kafeslere aerosol yöntemi ile etanol uygulaması yapıldı. Aerosol etanol uygulama sonrası kafeslerin üzeri bez örtüyle 30 dakika kapatılarak sıçanların bu süre boyunca etanolü teneffüs etmeleri sağlandı. Çalışmanın 6. haftası sonunda ratlara DPOAE ölçümleri yapıp sonuçları diğer gruplarla karşılaştırıldı.

Grup 3: 10 adet yetişkin rattan oluşan bu gruba 6 hafta boyunca günlük 0,1 µg/ml NF sıçan başına 1 ml olacak şekilde kafeslere aerosol yöntemi ile NF uygulaması yapıldı. Aerosol NF uygulaması sonrası kafeslerin üzeri bez örtüyle 30 dakika kapatılarak ratların bu süre boyunca NF'yi teneffüs etmeleri sağlandı. Çalışmanın 6. haftası sonunda ratlara DPOAE ölçümleri yapıldı, sonuçları diğer gruplarla karşılaştırıldı.

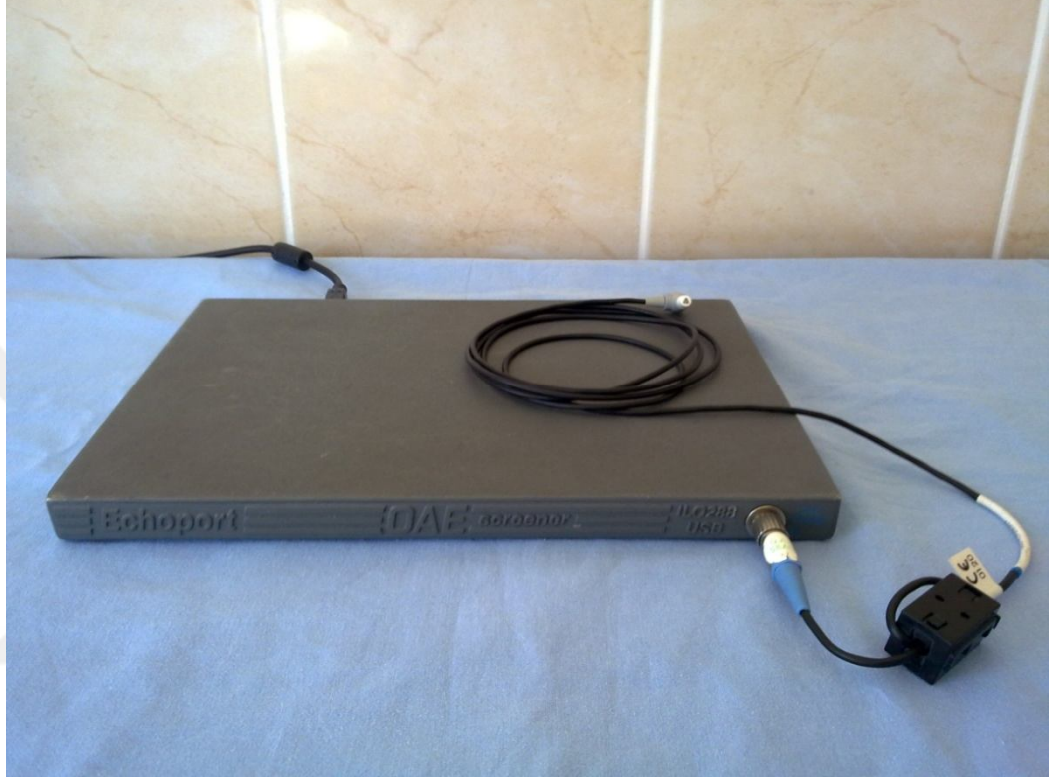
Grup 4: 10 adet yetişkin rattan oluşan bu gruba 6 hafta boyunca günlük 10 µg/ml NF rat başına 1 ml olacak şekilde kafeslere aerosol yöntemi ile NF uygulaması yapıldı. NF uygulaması sonrası kafeslerin üzeri bez örtüyle 30 dakika kapatılarak ratların bu süre boyunca 10 µg/ml NF'yi teneffüs etmeleri sağlandı. Çalışmanın 6. haftası sonunda DPOAE ölçümleri yapıldı sonuçları diğer gruplarla karşılaştırıldı.

Grup 5: 10 adet yetişkin rattan oluşan bu gruba 6 hafta boyunca günlük 1000 µg/ml NF rat başına 1 ml olacak şekilde kafeslere aerosol yöntemi ile ilaç uygulaması yapıldı. Aerosol NF uygulaması sonrası kafeslerin üzeri bez örtüyle 30 dakika kapatılarak ratların bu süre boyunca 1000 µg/ml NF'yi teneffüs etmeleri sağlandı. Çalışmanın 6. haftası sonunda DPOAE ölçümleri yapıldı sonuçları diğer gruplarla karşılaştırıldı.

3.2. DİSTORSİYON ÜRÜNÜ OTOAKUSTİK EMİSYONLA ÖLÇÜM METODU

Bu çalışmada emisyonların incelenmesi için DPOAE kullanılmıştır. Distorsiyon ürünü emisyonlar “ILO 288 Echoport USB” ve “EZ-screen 2” (Otodynamics V 6.21.0.00, Aralık 2003) software cihazı kullanılarak ölçüldü (Şekil-5,6). Cihazın probunun ucuna en küçük boy timpanometri kauçuk probu takılarak ölçümler yapıldı (Şekil-7). Uyutulduktan sonra ratların kafası yere yatay pozisyona getirildi ve prob kulaklarına iyice

yerleştirildi (Şekil-8). Cihazdaki prob göstergesi ve uyarı dalga formu uygun konfigürasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görüldükten sonra ölçüme başlandı.



Şekil-5: Otoakustik emisyon ölçümünde kullandığımız otoakustik emisyon cihazı



Şekil-6: Otoakustik emisyon ölçüm düzeneği



Şekil-7: Çalışmamızda otoakustik emisyon ölçümünde kullanılan yeni doğan probu



Şekil-8: Ratlarda otoakustik emisyon ölçümü

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar ($2f_1$ - f_2 kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) General Diagnostic modunda ölçüldü. f_2 ve f_1 frekansları arasındaki oran (f_2/f_1) 1.22 olacak şekilde tutuldu. Uyarın şiddeti f_1 frekansı için L1 ve f_2 frekansı için L2 olarak alındı ve L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1=65 dB SPL, L2=55dB SPL) düzeyinde tutuldu. DPOAE'lar dış kulak kanalındaki mikrofon ile $2f_1$ - f_2 frekansında ölçüldü ve f_1 ve f_2 'nin geometrik ortalamalarında 1001, 1501,

2002, 3003, 4004, 6006 ve 7996 frekanslarında kaydedildi. Test süresi farklılık göstermesine rağmen ortalama her bir denek için 75 sn idi. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı.

DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde; elde edilen 2f1-f2 kübik distorsiyon ürünleri f1 ve f2'nin geometrik ortalamasında yani 1001, 1501, 2002, 3003, 4004, 6006 ve 7996 Hz frekans bantlarında oluşan sinyal gürültü oranı "signal to noise" (SNR) esas alındı. SNR oranı DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilir (25). Çalışmamızda bu SNR oranları her kobay için ayrı ayrı alındı ve SNR frekans eğrileri çizildi.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

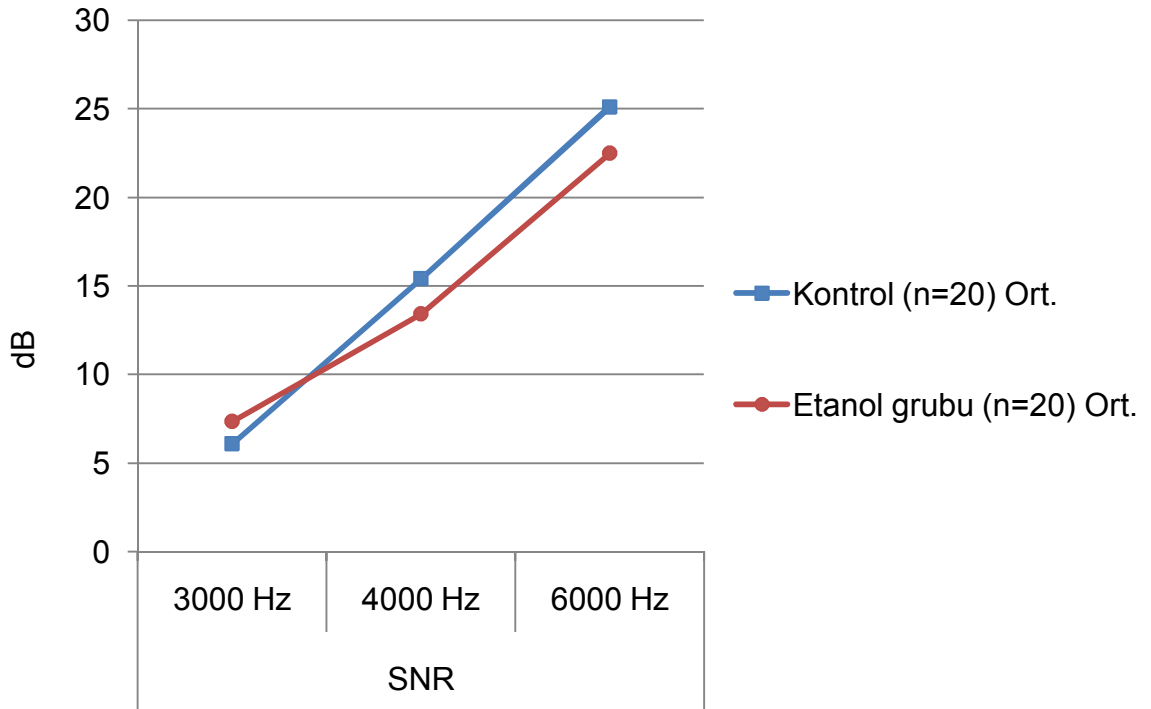
Bu çalışma prospektif deneysel hayvan çalışması olarak planlandı. Verilerin normal dağılıma uyumları One Sample Kolmogrov- Simirnov testi ile belirlendi. Normal dağılıma uymayan verilerin analizi için Mann-Whitney U testleri; normal dağılıma uyan veriler için Independent Sample t Test kullanıldı. P değeri <0,05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Analizler SPSS (Statistical program for social sciences) 17,0 programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Kontrol grubu ile etanol grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-2 ve Şekil-9'da gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo-2: Kontrol ve etanol grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

		Kontrol (n=20)		Etanol grubu (n=20)		p
		Ort.	±Std. sapma	Ort.	±Std. sapma	
SNR	3000 Hz	6,09	±11,26	7,35	±10,14	0,713
	4000 Hz	15,42	±8,89	13,41	±9,17	0,485
	6000 Hz	25,12	±14,12	22,49	±15,63	0,580

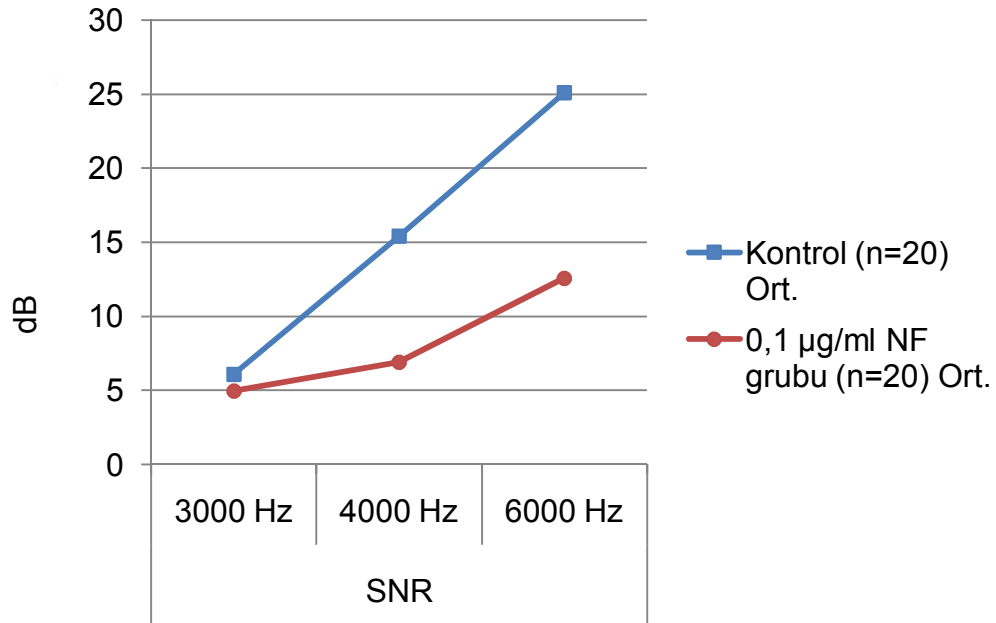


Şekil-9: Kontrol ve etanol grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile 0,1 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-3 ve Şekil-10'da gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında 4000Hz ve 6000Hz'de istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,05$).

Tablo-3: Kontrol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n=20)		0,1 µg/ml NF grubu (n=20)	p
	Ort.	±Std. sapma	Ort.	
3000Hz	6,09	±11,26	4,96 ±9,62	0,735
4000Hz	15,42	±8,89	6,90 ±9,82	0,007
6000Hz	25,12	±14,12	12,58 ±18,53	0,021

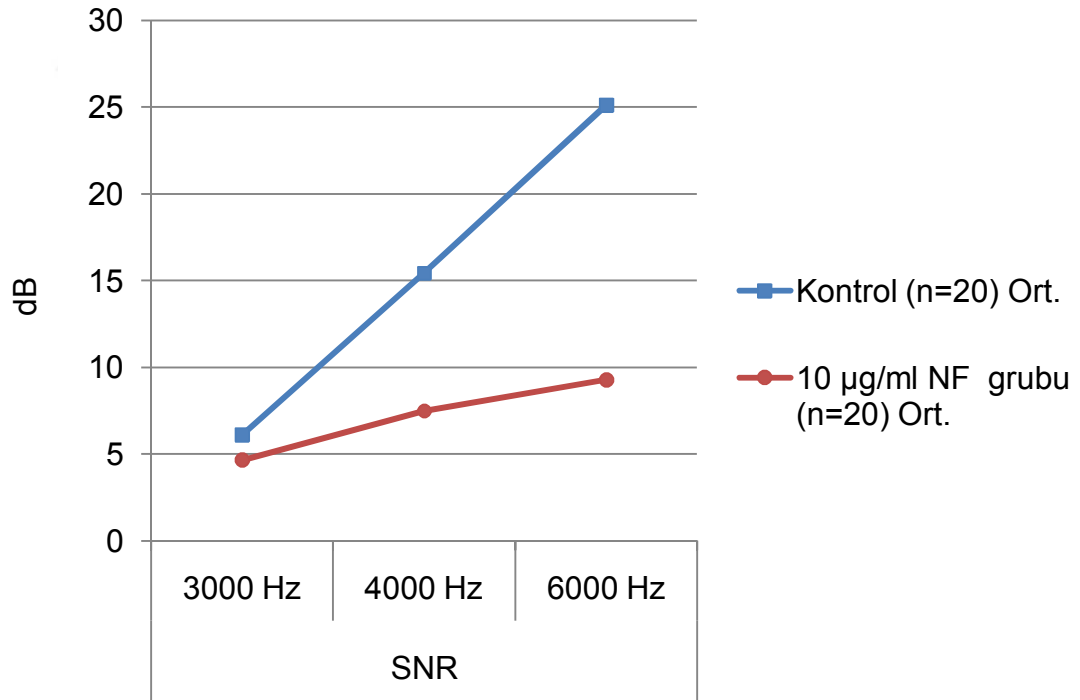


Şekil-10: Kontrol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile 10 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-4 ve Şekil-11'de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında 4000Hz ve 6000Hz'de istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,05$).

Tablo-4: Kontrol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

		Kontrol (n=20)	10 µg/ml NF grubu (n=20)	p
		Ort. ±Std. sapma	Ort. ±Std. sapma	
SNR	3000 Hz	6,09 ±11,26	4,65 ±11,59	0,692
	4000 Hz	15,42 ±8,89	7,49 ±12,87	0,029
	6000 Hz	25,12 ±14,12	9,29 ±20,10	0,006

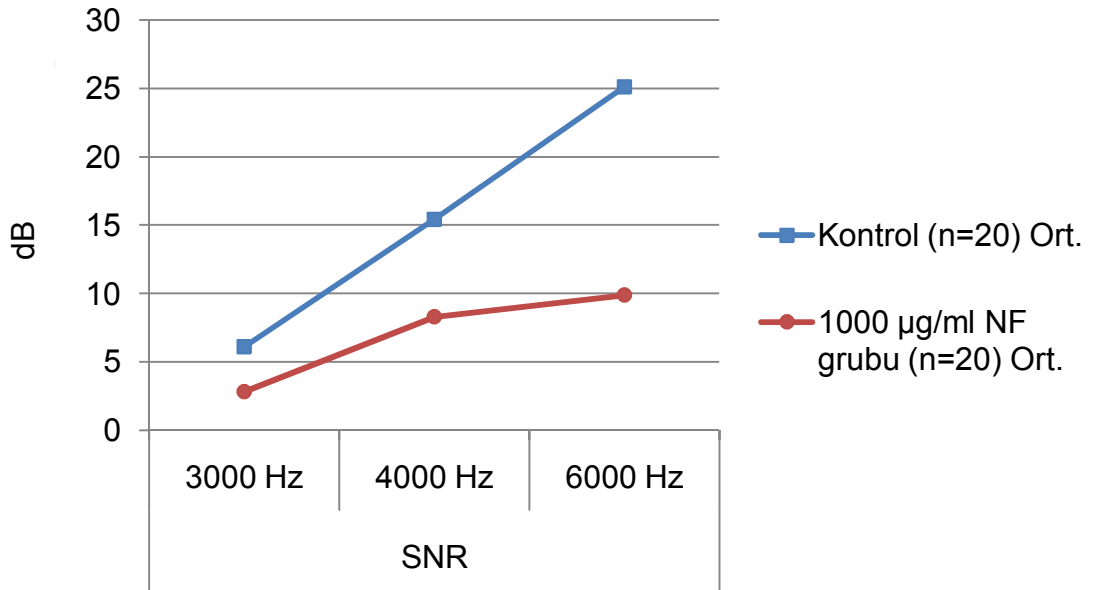


Şekil-11: Kontrol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile 1000 µg/ml NF OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-5 ve Şekil-12’de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında 4000Hz ve 6000Hz’de istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,05$).

Tablo-5: Kontrol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n=20)		1000 µg/ml NF grubu (n=20)		p
	Ort.	Std. sapma	Ort.	Std. sapma	
3000 Hz	6,09	±11,26	2,83	±8,97	0,318
4000 Hz	15,42	±8,89	8,29	±10,42	0,025
6000 Hz	25,12	±14,12	9,89	±18,58	0,006

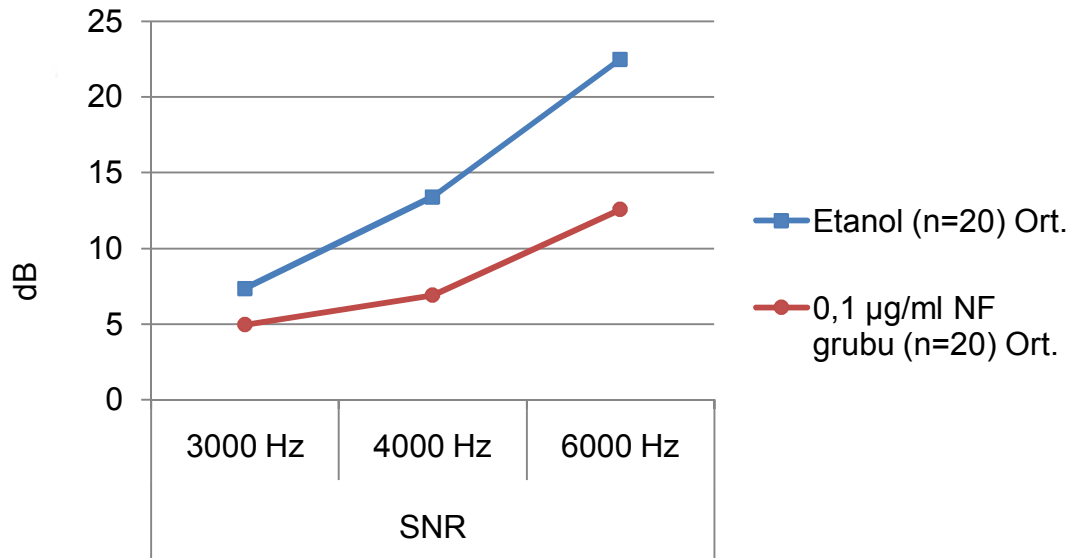


Şekil-12: Kontrol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Etanol grubu ile 0,1 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-6 ve Şekil-13'de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında 4000Hz ve 6000Hz'de istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,05$).

Tablo-6: Etanol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	Etanol (n=20)		0,1 µg/ml NF grubu (n=20)		p
	Ort.	Std. sapma	Ort.	Std. sapma	
3000 Hz	7,35	±10,14	4,96	±9,62	0,450
4000 Hz	13,41	±9,17	6,90	±9,82	0,037
6000 Hz	22,49	±15,63	12,58	±18,53	0,075

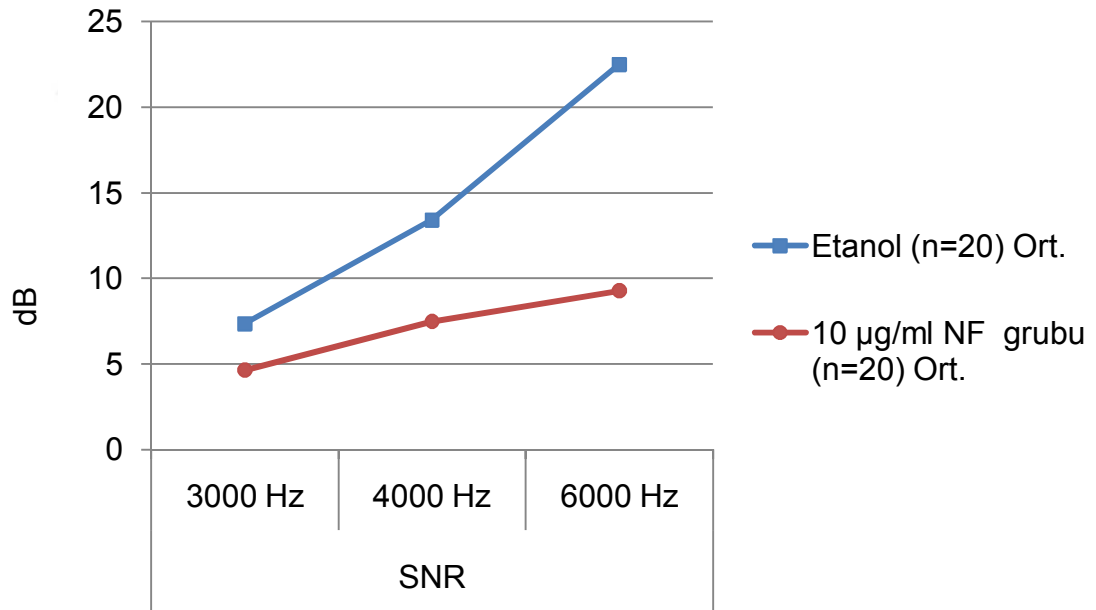


Şekil-13: Etanol ve 0,1 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Etanol grubu ile 10 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-7 ve Şekil-14'de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında 6000Hz'de istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,05$).

Tablo-7: Etanol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	Etanol (n=20)		10 µg/ml NF grubu (n=20)		p
	Ort.	Std. sapma	Ort.	Std. sapma	
3000 Hz	7,35	±10,14	4,65	±11,59	0,438
4000 Hz	13,41	±9,17	7,49	±12,87	0,103
6000 Hz	22,49	±15,63	9,29	±20,10	0,026

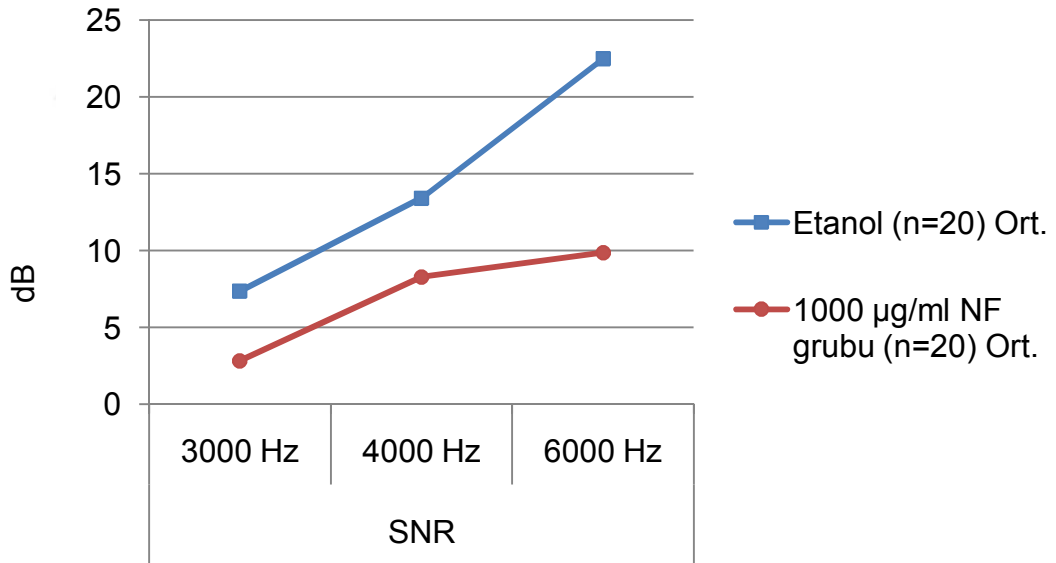


Şekil-14: Etanol ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

Etanol grubu ile 1000 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-8 ve Şekil-15’de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında 6000Hz’de istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,05$).

Tablo-8: Etanol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	Etanol (n=20)		1000 µg/ml NF grubu (n=20)		p
	Ort.	Std. sapma	Ort.	Std. sapma	
3000 Hz	7,35	±10,14	2,83	±8,97	0,144
4000 Hz	13,41	±9,17	8,29	±10,42	0,108
6000 Hz	22,49	±15,63	9,89	±18,58	0,026

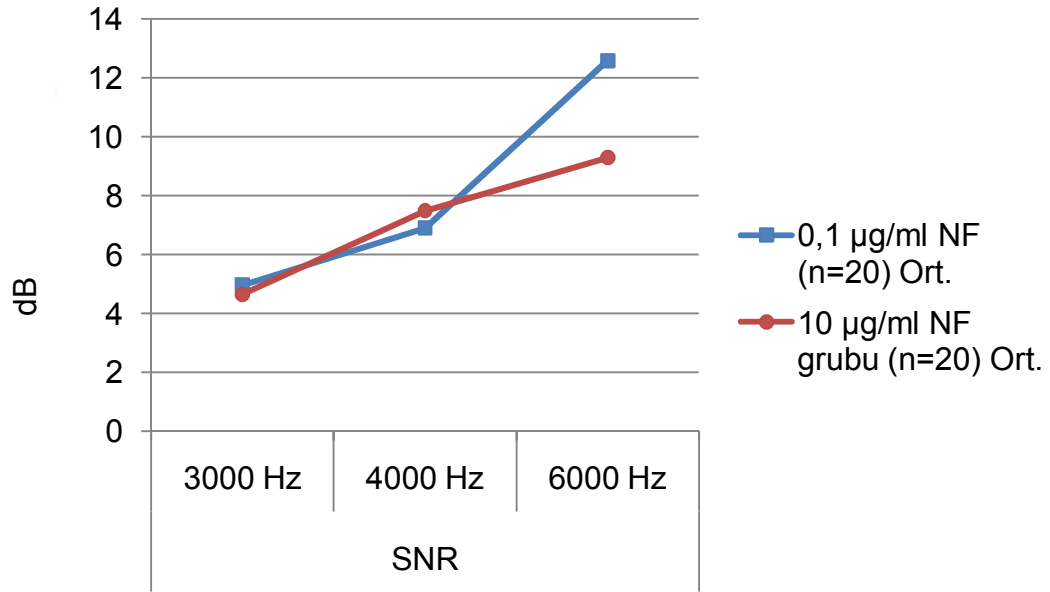


Şekil-15: Etanol ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

0,1 µg/ml NF grubu ile 10 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-9 ve Şekil-16'da gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo-9: 0,1 µg/ml NF ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	0,1 µg/ml NF (n=20)		10 µg/ml NF grubu (n=20)	p
	Ort.	Std. sapma	Ort. Std. sapma	
3000 Hz	4,96	±9,62	4,65 ±11,59	0,926
4000 Hz	6,90	±9,82	7,49 ±12,87	0,871
6000 Hz	12,58	±18,53	9,29 ±20,10	0,594

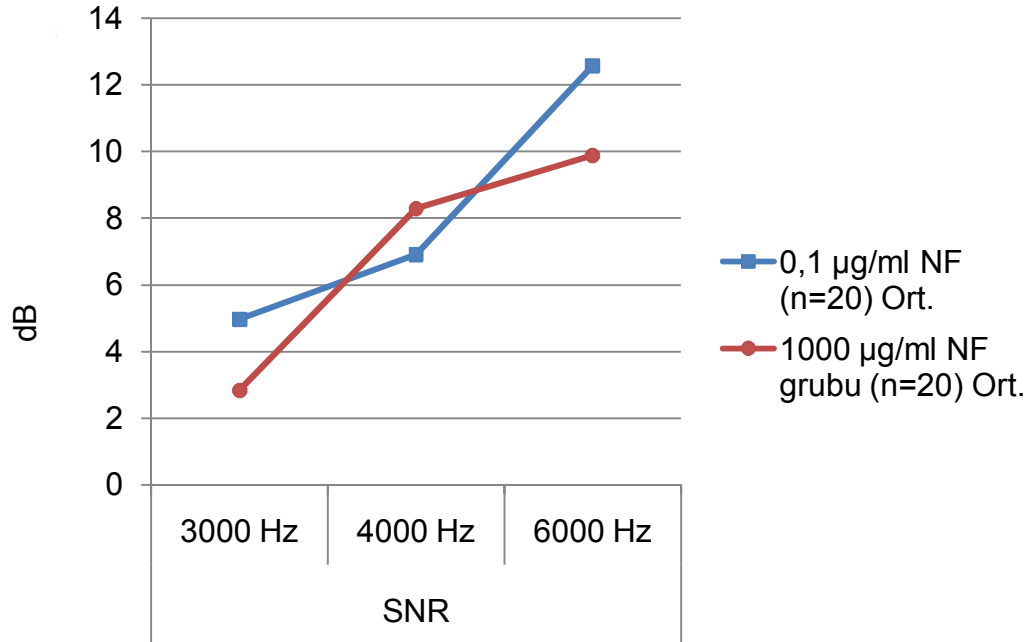


Şekil-16: 0,1 µg/ml NF ve 10 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

0,1 µg/ml NF grubu ile 1000 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-10 ve Şekil-17'de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo-10: 0,1 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	0,1 µg/ml NF (n=20)		1000 µg/ml NF grubu (n=20)		p
	Ort.	Std. sapma	Ort.	Std. sapma	
SNR	3000 Hz	4,96 ±9,62	2,83 ±8,97		0,474
	4000 Hz	6,90 ±9,82	8,29 ±10,42		0,667
	6000 Hz	12,58 ±18,53	9,89 ±18,58		0,650

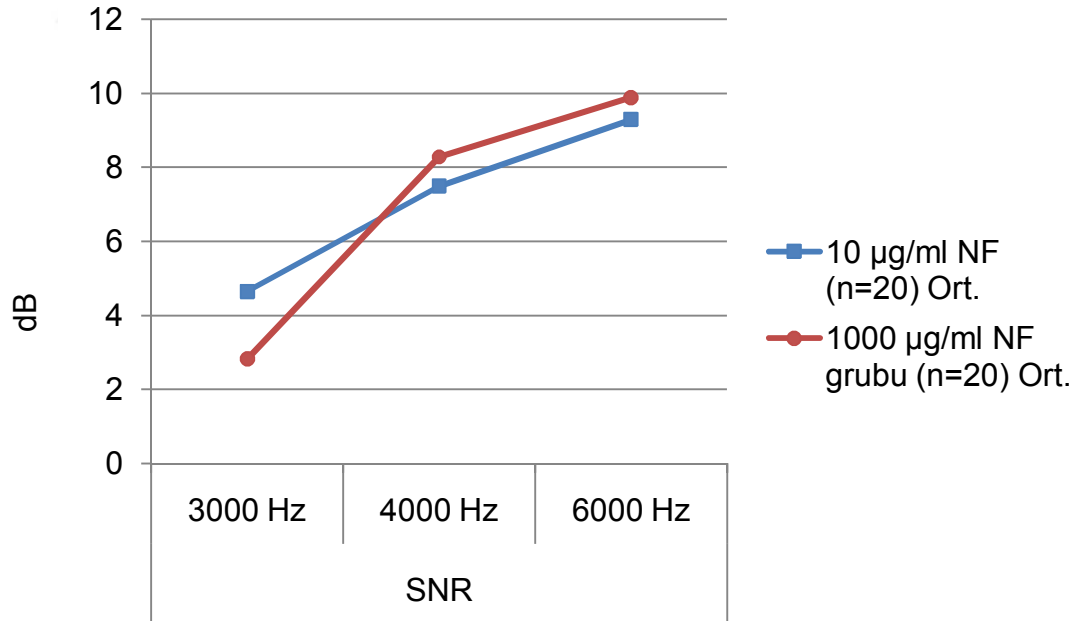


Şekil-17: 0,1 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

10 µg/ml NF grubu ile 1000 µg/ml NF grubu OAE değerlerinin karşılaştırılması Tablo-11 ve Şekil-18'de gösterilmiştir. İki grup arası karşılaştırmada OAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo-11: 10 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

	10 µg/ml NF (n=20)		1000 µg/ml NF grubu (n=20)		p
	Ort.	Std. sapma	Ort.	Std. sapma	
3000 Hz	4,65	±11,59	2,83	±8,97	0,583
4000 Hz	7,49	±12,87	8,29	±10,42	0,830
6000 Hz	9,29	±20,10	9,89	±18,58	0,922



Şekil-18: 10 µg/ml NF ve 1000 µg/ml NF grubunun OAE değerlerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Biz çalışmamızda endüstride yaygın olarak kullanılan, çevremizde yoğun olarak karşılaştığımız toksik, karsinogenik, östrojenik ve nörotoksik etkisi olan ve potansiyel olarak ototoksik etkisinin olabileceğini düşündüğümüz nonilfenolün ototoksik etkisini araştırdık.

Doğada bulunan AFB bileşiklerinin %82'sini nonilfenol oluşturmaktadır (19). Kendisi de bir in vitro antioksidan olan nonilfenolle yapılan çalışmaların pek çoğunda, nonilfenolik bileşiklerin toksisitesinin, insan ve hayvan sağlığı için tehlike yaratabilecek nitelikte olduğu gösterilmiştir (1,2). Nonilfenolün, östrojenik (26-31), karsinogenik (32, 33) ve toksik (19, 34) etkisi olduğu ortaya konmuştur. Tapiero ve ark. nonilfenol gibi sentetik östrojenlerin doğal östrojenlere oranla metabolize olmadan vücutta daha uzun süre aktif halde kalabildiğini rapor etmişlerdir(31).

NF östrojenik etkisiyle organizmada morfolojik değişimlere de neden olmaktadır. Örneğin yetişkin erkek gökkuşakı alabalığındaki spermatogenezin inhibisyonu, germdeki ve erkek yılan balığındaki sertoli hücrelerindeki sitolojik değişimler ve genç gökkuşakı alabalığında ovosomatik indekste artış gözlenmiştir (28, 35, 36).

Alkilfenollerin hayvansal organizmalar üzerine çeşitli kanser türlerini başlatıcı etkisi vardır. NF'nin meme (37, 38), testis ve ovaryum kanserine (32) neden olduğu gösterilmiştir.

Uğuz ve ark. beş farklı gruba sırasıyla 0, 10, 100, 500, 1000 mg/kg NF içeren yem vererek grupları 20, 40, 60, 130 günde örneklemiştir. NF'ye maruziyetten sonra bıldırcınlardan doku, kan ve kemik iliği örnekleri alınmıştır. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda, karaciğer hücrelerinde nekroz, yağlanma ve hücre çekirdeğinin bir tarafa itilmesi gibi bozukluklar, böbreklerde ise tübüler dejenerasyon olduğu görülmüştür. NF'ye maruz

bırakılan gruptaki hayvanların kromozomlarında telomer kısalması meydana gelmiştir. Araştırmacılar karaciğer ve böbrek hücreleri ile kromozomlarda meydana gelen bozuklukların, dozdan çok zamana bağlı olarak meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. NF'nin bildiricilerinde hem histopatolojik hem de moleküler düzeyde gözlenebilen bozukluklara neden olduğu ortaya konulmuştur (39).

White ve ark. 90 gün boyunca NF okzalatlari ile beslenen köpeklerin kalp kası dokularında, ölü alanların ve beneklenmelerin meydana geldiğini görmüşlerdir (27).

Argese ve ark. alkilfenollerin hidrofobik alkil bakiyelerinden dolayı hayvan, bitki ve mikroorganizmaların hücre membranlarında toksik etkili olduğunu rapor etmişlerdir (40). Alkilfenollerin mitokondriyal membranlarda enerji üretimini sabote ettiği bilinmektedir. Ayrıca, Karadeniz ve ark. NF'nin guanin bazında oksidasyona neden olduğunu ortaya koymuşlardır (41). Bunun da DNA tamir mekanizması olmayan mtDNA'larda mutasyonlara neden olabileceği düşünülmektedir. Mitokondriyal DNA'larda meydana gelen mutasyonların, gerek sendromik gerekse non-sendromik işitme kayıplarına neden olduğu rapor edilmektedir. Bizim çalışmamızda 45 gün aerosol yolla NF'ye maruz kalan ratlarda işitme kaybının meydana geldiği ortaya konmuştur ($p < 0.05$). Ancak, işitme kaybı doza bağlı değildir ($p > 0.05$). NF'ye bağlı ortaya çıkan işitme kaybının, mtDNA ya da mitokondrilerde oluşan diğer patolojik bozukluklara bağlı olarak gelişip gelişmediğini tespit etmek için moleküler düzeyde çalışmaların yapılması gereklidir.

Hughes ve ark. alkilfenollerin testis endoplazmik retikulum Ca^{+2} pompalarını engelleyerek hücre ölümüne neden olduğunu kanıtlamışlardır (34). Benzer mekanizmalar ile NF içeren çeşitli alkilfenollerin sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} pompalarını engelleyerek iskelet kasında da hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Brogadin ve ark.' da NF'nin ATP sentezini azalttığını, önlediğini ve mitokondriyal membranın potasyum geçirgenliğini arttırdığını rapor etmişlerdir (42,43). Bizim çalışmamızda da gözlenen

NF'ye bağılı işitme kaybı, NF'nin neden olduğı mitokondriye bağılı apoptozis yolu ile meydana gelmiş olabilir. Zira, NF'nin karaciğer hücrelerinde Sitokrom c, Kaspaz 9 ve Kaspaz 3, Bcl-2 ve bax üzerinden mitokondriye bağılı hücre ölümlerini yani apoptozu tetiklediğı ortaya konmuştur (44). NF'nin karaciğerde olduğı gibi beyin hücrelerinde de benzer etkiyi göstermesi mümkündür. Çünkü NF lipofilik özellikte bir maddedir ve beyin, vücutta lipoid karakterdeki en önemli organlardan biridir.

NF lipofilik özellikte olan bir maddedir (19). Vücuttaki en önemli lipoid organlar arasında başta beyin, beyincik ve omurilik olmak üzere sinir sistemi organları vardır. Bu nedenle, NF potansiyel nörotoksik bir maddedir. Nörotoksik etkisinden dolayı da işitme kaybına neden olabileceğı düşünülmektedir. Öncelikle, sucul (aquatic) canlılarda biriken NF'nin, su ürünlerinin doğrudan veya balık unu gibi su ürünlerinin çiftlik hayvanlarının yemlerine katılması ile dolaylı tüketimi sonucu, insanlara kadar ulaştığı bilinmektedir (45). Örneğin, haftada 3 gün balık yiyen annelerin sütünde 32 ng/ml NF saptandığı tespit edilmiştir (46). Bunun sonucu olarak, bu maddelerin üretiminde çalışan işçiler başta olmak üzere endüstriyel bölgelerde yaşayan herkes risk altındadır.

Zhang ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, kronik NF maruziyetine bağılı olarak farelerin beyinlerinde indüklenabilir nitrik oksit sentetaz ve siklooksijenaz-2 gibi inflamasyonu arttıran enzimlerin yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu durumun kronik inflamasyonla ve nörotoksisiteyle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (47). Merkezi sinir sisteminde kontrol edilemeyen kronik inflamasyon Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklara neden olabilmektedir (48-50).

Ototoksisite işitme ve dengeyi bozan önemli nedenlerden biridir. Ototoksisiteye bağılı olarak işitme kaybı, kulak çınlaması, dengesizlik ve vertigo meydana gelebilir.

Bazı ilaçların ve kimyasal maddelerin ototoksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz: Antibiyotikler, diüretikler, kemoteropatik ilaçlar, antienflamatuar ilaçlar, diğer ilaçlar (kinin, klorokin, salisilatlar, polybrene ve talidomid), bazı kimyasal maddeler.

Aminoglikozid antibiyotiklerin ototoksik etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu grupta yer alan bütün ilaçlar değişik oranlarda ototoksik etkiye sahiptir. Aminoglikozidlerin ortalama ototoksikite oranının % 5-10 arasında olduğu bildirilmektedir (51).

Kahlmeter ve Dahleger 10000 hasta üzerinde aminoglikozid antibiyotiklerin kokleaya yaptığı toksik etkiyi araştırmışlar ve gentamisin %8,6, tobramisin %6,1, amikasin %13,9 ve netilmisin %2,4 oranında toksik olduğunu bulmuşlar. Bu etki bazılarında hem koklea hem de vestibül üzerinde ortaya çıkarken bazı aminoglikozid antibiyotikler sadece kokleotoksik ya da vestibülotoksiktirler (streptomisin, dihidrostreptomisin ve gentamisin primer olarak vestibülotoksiktir; amikasin, kanamisin, neomisin ise primer olarak kokleotoksiktir) (52). Ototoksik olduğu bilinen diğer antibiyotik ilaçlar makrolid antibiyotikler ve vankomisinidir (53).

Konjestif kalp yetmezliğinde, hipertansiyonda, karaciğer yetmezliğine bağlı gelişen asitlerin tedavisinde kullanılan loop diüretik ilaçların da ototoksik etkisi olduğu bilinmektedir. Başlıca ototoksik loop diüretikler şunlardır: Etakrinik asit, furosemid, bumetanid, pretanid, indakrinon, ozolinon, azosemid ve torsemiddir. Bunlar içerisinde en çok ototoksik etkisi olanlar etakrinik asit ve furosemiddir (53).

Kanser tedavisinde kullanılan bazı ilaçların da ototoksik etkisi vardır. Bunlardan en iyi bilineni malign tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan sisplatindir. Sisplatinin kokleotoksik etkisi yüksek olmakla birlikte vestibülotoksik etkileri de vardır. İşitme kaybı doza bağlı olarak artar ve genellikle geri dönüşsüzdür. Diğer ototoksik etkisi bilinen antineoplastik ilaçlar şunlardır: Karboplatin, nitrojen mustard, vinkristin, vinblastin,

misonidazol, 6-amino nikotinamid, alfa diflorometilornitin, diklorometotreksat ve linodamindir (53).

Ototoksik olduğu bilinen antienflamatuar ilaçların başında salisilatlar ve nonsteroid antienflamatuar ilaçlar gelmektedir. Salisilatlar ve nonsteroid antienflamatuar ilaçlar vazodilatasyon yapan prostoglandinlerin etkisini azaltmakta, vazokonstrüksiyon yapan lökotrienlerin etkisini arttırmaktadır. Vazokonstrüksiyon koklea kan akımının azalmasına neden olur. Sonuç olarak kokleada kan akımında azalma ve buna bağlı olarak dış titrete tüylü hücrelerin fonksiyonlarında meydana gelen bozukluk işitme kaybı ve tinnitusa neden olmaktadır (53).

Yapılan hayvan çalışmalarına göre karbon disülfid, toluen, trikloretilen ve ksilen gibi pek çok organik solvent ototoksiktir. Bu maddelerin ne şekilde işitme kaybı yaptığı bilinmemektedir. Ancak çoğunda dış titrete tüylü hücrelerde hasar saptanmıştır.

Kimyasal maddeler içinde karbonmonoksit, civa bileşikleri, altın tuzları, kurşun, arsenik, anilin boyasının ototoksik etkisi olduğu bilinmektedir (53).

Otoakustik emisyonların üretim yeri kokleanın dış titrete tüylü hücreleridir. Ototoksik ilaçlar, hipoksi ve akustik travma ile dış tüylü hücrelerin tahribatı, otoakustik emisyonların üretimini engelleyecektir. OAE elde edilebilmesi için sağlıklı DKY ve orta kulak yapısı gereklidir.

Otoakustik emisyon ölçümlerinin klinik kullanımda invaziv olmaması, ağrısız olması, anestezi gerektirmemesi, ocuk ve mental retarde hastalarda rahatlıkla uygulanabilmesi, objektif bir test olması, hassas bir ölçüm olması ve test süresinin kısa olması gibi avantajları geniş hasta gruplarının taranabilmesini mümkün kılmaktadır.

Wit ve Risma deney hayvanlarında kısa koklea nedeniyle emisyon latansının çok kısa olacağını ve uyarılara verilen cevabın saptanamaması neticesinde klik uyarı emisyonlarının alınamayacağını iddia etmişler ve

alışmalarında ratlardan klik uyararı emisyon alamamışlardır (54). Buna karşılık yapılan diğerk çalışmalarda deney hayvanlarında TEOAE başarıyla alınabilmiştir. DPOAE ise kk deney hayvanlarında bile rahatlıkla alınabilmektedir (55-60).

Ancak kobaylarda otoakustik emisyon ölçümü yaparken karşılaşılan en önemli sorun kobay dış kulak yolunun çok dar olması ve probun yerleştirilmesinde karşılaşılan zorluklardır. Bizde alışmamızda iyi bir sedasyon sonrasında, emisyon ölçümü için en kk bebek probunu kullandık. Herhangi bir artefakt oluşmadan kolaylıkla emisyon ölçümlerini yaptık.

İyi bir sedasyon ve probun sağlam yerleştirilmesiyle aynı uyararı verilerek oluşturulan distorsiyon farklı zamanlarda yapılan kayıtlarda ± 5 dB' lik bir fark yaratabilir (61). Farklı zamanlarda yapılan iki farklı lmde DPOAE ve gürültü eşiği değişecektir. "Signal to Noise Rate" (SNR) DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitdlerine göre daha güvenilirdir (61,62). Çalışmamızda 1000-8000 Hz frekans aralığında ölçüm yaptık. Birçok çalışmada olduğu gibi bizde 3000-6000 Hz frekans arasında SNR'yi esas alarak değerlendirme yaptık.

Çalışmamızda kontrol grubu ile etanol grubu SNR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Bu da etanolün işitme üzerinde olumsuz etkisinin olmadığını göstermektedir.

Kontrol grubu ile NF grupları SNR değerleri karşılaştırıldığında özellikle 4000 ve 6000 Hz frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Bu da NF'nin ratlarda ototoksik olduğunu göstermektedir. Bu ototoksik etki NF'nin kokleada bulunan dış tüylü hücrelerin yapısını bozmasından veya hücre içinde ATP üretimini azaltmasından meydana gelmiş olabilir.

Etanol grubu ile NF grupları SNR değerleri karşılaştırıldığında özellikle 4000 ve 6000 Hz'deki frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark

bulundu ($p < 0.05$). Bu da bize ototoksik etkinin NF'den kaynaklandığını göstermektedir.

Loquet ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada etanol ve stirenin işitme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Etanolün tek başına işitme kaybına sebep olmadığını, stirenin tek başına işitme kaybı yaptığını ve etanol ve stirenin birlikte verildiğinde işitme kaybının daha fazla olduğunu, yani etanolün stirenin işitme üzerine olan olumsuz etkisini arttırdığını saptamışlardır (63).

Natalie ve ark. etil benzenin işitme üzerine doz bağımlı etkisini araştırmak için ratlar üzerinde bir çalışma yapmışlar. Bahsi geçen çalışmada ratlara 5 gün boyunca, günde 8 saat, inhalasyon yoluyla 0, 300, 400 ve 550 ppm dozlarında etil benzen verilmiş ve etil benzene maruziyetten 3 ve 6 hafta sonra DPOAE ile ölçümler yapılmıştır. En düşük konsantrasyonda işitmede etkilenme saptanmazken diğer dozlarda artan doza korele olarak işitme eşiklerinde düşme saptanmıştır. Sonuç olarak kimyasal organik bir solvent olan etil benzenin doz bağımlı ototoksik etkisinin olduğunu bulmuşlar (64).

Çalışmamızda 0,1 µg/ml, 10 µg/ml ve 1000 µg/ml NF verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Yani NF'nin ototoksik etkisinin doz bağımsız olduğu kanaatindeyiz.

6. SONUÇ

1. Solvent olarak kullandığımız etanolün ratlarda işitme üzerine olumsuz etkisinin olmadığını saptadık.
2. Kontrol grubu ile NF grupları SNR değerleri karşılaştırıldığında özellikle 4000 ve 6000 Hz frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Bu da NF'nin ratlarda ototoksik olduğunu göstermektedir.
3. Etanol grubu ile NF grupları SNR değerleri karşılaştırıldığında özellikle 4000 ve 6000 Hz'deki frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Bu da bize ototoksik etkinin NF'den kaynaklandığını göstermektedir.
4. NF'nin ototoksik etkisi için doz artımına bağlı istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Yani NF'nin ototoksik etkisi doz bağımsız olduğu kanaatindeyiz.
5. NF'nin ratlarda işitmeye olan olumsuz etkisinin kokleotoksik etkisinden olabileceğini düşünmekteyiz. NF'nin nörotoksik olduğu bilinmektedir. NF'nin nörotoksik etkisinden dolayı aynı zamanda akustik sinir üzerinde de toksik etkisi olabilir. Bundan dolayı akustik sinirin fonksiyonel değerlendirmesini içeren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.
6. Bu çalışmamızda NF'nin ratlarda işitme üzerine olumsuz etkisinin olduğunu bulduk. Bu maddenin üretiminde çalışan işçiler başta

olmak üzere endüstriyel bölgelerde yaşayan insanlar da olumsuz etkilenmiş olabilir. Bu yüzden insanlar üzerinde de ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. NF'nin insanlar üzerinde de işitmeye olumsuz etkisi saptanırsa, insan ve hayvan sağlığı için gerekli önlemler alınmalıdır.

7. NF'ye bağlı ortaya çıkan işitme kaybının, mtDNA ya da mitokondrilerde oluşan diğer patolojik bozukluklara bağlı olarak gelişip gelişmediğini tespit etmek için moleküler düzeyde çalışmalar yapılması gereklidir.



7. ÖZET

Nonilfenol (NF) endüstride yaygın olarak kullanılan, çevremizde yoğun olarak karşılaştığımız toksik, karsinogenik, östrojenik ve nörotoksik etkisi olan, insan ve hayvan sağlığı için tehlike yaratabilecek nitelikte olduğu gösterilmiş kimyasal bir maddedir (1,2). Nörotoksik etkileri bilinmekle birlikte nonilfenolün işitme üzerine etkisi ile ilgili bizim bilgilerimize göre bugüne kadar literatürde herhangi bir çalışma yayınlanmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız nonilfenolün işitme üzerine olumsuz etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Çalışmaya 50 rat dahil edildi. 50 rat her grup 10 rat içerecek şekilde beş gruba ayrıldı. (Grup 1 kontrol, grup 2 etanol, grup 3, 4 ve 5 ise farklı dozda NF verilen gruplardı). Kontrol grubuna (grup 1) standart rat yemi ve su verildi. Etanol grubuna (grup 2) 6 hafta boyunca her gün etanol aerosol olarak rat başına günde 1 ml olacak şekilde verildi. Grup 3, 4 ve 5'e ise etanol içinde çözünen NF; sırasıyla 0,1 µg/ml, 10 µg/ml ve 1000 µg/ml derişiminde olacak şekilde hazırlandı ve uygulandı. Çözeltiler kafeslere rat başına günde 1 ml, 6 hafta boyunca aerosol olarak verildi. Altıncı haftanın sonunda ratların "distortion product otoakustik emisyon" (DPOAE) ölçümleri yapıldı.

DPOAE ölçümü sonucunda, kontrol grubu ile etanol grubu "signal to noise" (SNR) değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$). Ancak kontrol grubu ile NF grupları SNR değerleri karşılaştırıldığında 4000 ve 6000 Hz frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Etanol grubu ile NF grupları SNR değerleri karşılaştırıldığında 4000 ve 6000 Hz'deki frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$).

Sonuç olarak çalışmamızda NF'nin ratlarda işitme üzerine olumsuz etkisinin olduğunu saptadık. Bununla birlikte meydana gelen işitme kaybının doz bağımlı olmadığını bulduk ($p>0.05$). Ratlarda işitme kaybına

neden olan NF' nin insanlarda da işitme üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.



8. SUMMARY

EFFECTS OF NONYLPHENOL ON THE HEARING OF RATS

Nonylphenol (NF) which a toxic, carcinogenic, estrogenic and neurotoxic chemical substance is commonly used in industry, has been proven to be harmful to human and animal health and has been widespread in environment (1,2). As well as neurotoxic effects of NF is known, any study about effects of NF on hearing hasn't been published in literature according to our knowledge. Our aim in this study is to show whether NF has a negative effect on hearing or not.

Fifty rats were included in the study. 50 rats were divided into five groups that each contained ten animals. (Group 1 control, group 2 ethanol, group 3, 4 and 5 differently NF dosed groups). Standard rat food and water was given to control group (group 1). Ethanol was given to ethanol group (group 2) in aerosol form for six weeks as 1 ml/day for each rat. NF dissolved in ethanol was prepared and given to group 3, 4 and 5; respectively 0,1 µg/ml, 10 µg/ml and 1000 µg/ml concentrations. Solutions were given to cages in aerosol form for six weeks as 1 ml/day for each rat. "Distortion product otoacoustic emission" (DPOAE) measurements were evaluated at the end of the sixth week.

DPOAE measurement results didn't show any statistically significant difference compared to the control group and ethanol group "signal to noise" (SNR) values ($p > 0,05$). But between SNR values of control group and NF groups at 4000 and 6000 Hz frequencies, we found significant statistically difference ($p < 0.05$). Also between SNR values of ethanol group and NF groups at 4000 and 6000 Hz frequencies we found significant statistically difference ($p < 0.05$).

As a result in our study we found out NF has negative effect on hearing among the rats. As well as the hearing loss is not dose dependent ($p > 0.05$). Further studies are needed to be searched if NF has an effect on hearing of humans as well as hearing loss among the rats.

9. KAYNAKLAR

1. Uguz C, Iscan M, Ergüven A, Isgor B, Togan I. The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Environ Res* 2003; 92:262-70.
2. Cakmak G, Togan I, Uğuz C, Severcan F. FT-IR spectroscopic analysis of rainbow trout liver exposed to nonylphenol. *Appl Spectrosc* 2003; 57:835-41.
3. Akyıldız N. İşitme ve denge organlarının morfolojisi. In: Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi I. Ankara, Bilimsel Tıp Kitabevi, 1998:3-73.
4. Abbas PJ. Physiology of the auditory system, 2. ed. St. Louis Missouri: Mosby Year Book Inc, 1993:2566-603.
5. Yiğitsubay V, Şenocak F. İşitme duyusu, In: Textbook of Medical Physiology. Eds: Guyton AC; Güven kitabevi, Ankara, 5. baskıdan çeviri, 1976:61-75.
6. Şehitoğlu M ve ark. Surgical Anatomy of the Guinea Pig. *Ear Nose Throat Journal* 1990; 69:91-97.
7. Sichel J, Plotnik M, Cherny L, Elidian J, Sohmer H. A Unique Animal For Auditory Research. *J Bas Clin Physy Pharm* 1997; 8:208-10.

8. Gray H. Organs of Sense-Ear. In: Anatomy Descriptive and Surgical. London: Paragon Book Service Ltd, 1995:577-59.
9. Thorne M, Salt AN, DeMott JE, Henson MM, Henson OW Jr, Gewalt SL. Cochlear fluid space dimensions for six species derived from reconstructions of three-dimensional magnetic resonance images. Laryngoscope 1999; 109:1661-8.
10. Akyıldız N. İşitme ve denge organlarının anatomik ve fonksiyonel muayenesi. In: Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi I. Ankara, Bilimsel Tıp Kitabevi, 1998:131-228.
11. Kemp DT. Otoacoustic emissions in perspective. In: Robinette MS, Glatcke TJ. Otoacoustic Emissions Clinical Applications. New York: Thime Medical Publishers, 1997:1-21.
12. Kemp DT. Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function and use. British Medical Bulletin 2002; 63:223-241.
13. Decker NT. General recording considerations and clinical instrument options. In: Robinette MS, Glatcke TJ. Otoacoustic Emissions: Clinical Applications. New York: Thime Medikal Publishers 1997; 151-180.
14. Mehl AL, Thomson V. The Colorado newborn hearing screening project, 1992-1999: on the threshold of effective population-based universal newborn hearing screening. Pediatrics 2002; 109-117.

15. Guan MX. Mitochondrial 12S rRNA mutations associated with aminoglycoside ototoxicity. *Mitochondrion* 2011; 11:237-45.
16. Wolfram D.J, Wagener H.P. Diabetes mellitus, simple optic atrophy among siblings: report of four cases, *Mayo Clin Proc* 1938; 13:715–718.
17. Khaidakov M, Heflich RH, Manjanatha MG, Myers MB, Aidoo A. Accumulation of point mutations in mitochondrial DNA of aging mice. *Mutat Res* 2003; 526:1-7.
18. Karadeniz H, Caliskan A, Uguz C. Electrochemical monitoring of the interaction between 4-nonylphenol and DNA by graphite and carbon nanotube modified graphite electrodes. *Anal Sci* 2010; 26:1065-9.
19. Nimrod AC, Benson WH. Environmental estrogenic effects of alkylphenol ethoxylates. *Crit Rev Toxicol* 1996; 26:335-64.
20. Ahel M, Giger W, Koc M. Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-1. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res* 1994; 28:1131-1142.
21. Hawrelak M, Bennett E, Metcalfe C. The environmental fate of the primary degradation products of alkylphenol ethoxylate surfactants in recycled paper sludge. *Chemosphere* 1999; 39:745-52.
22. Mann RM, Boddy MR. Biodegradation of a nonylphenol ethoxylate by the autochthonous microflora in lake water with observations on the influence of light. *Chemosphere* 2000; 41:1361-9.

23. Pedersen SN, Christiansen LB, Pedersen KL, Korsgaard B, Bjerregaard P. In vivo estrogenic activity of branched and linear alkylphenols in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sci Total Environ* 1999; 233:89-96.
24. Uguz C, Togan I, Eroglu Y, Tabak I, Zengin M, Iscan M. Alkylphenol concentrations in two rivers of Turkey. *Environ Toxicol Pharmacol* 2003; 14:87-8.
25. Lamm K, Lamm H, Arnold W. Effect of hyperbaric oxygen therapy in comparison to conventional or placebo therapy or no treatment in idiopathic sudden hearing loss, acoustic trauma, noise-induced hearing loss and tinnitus. A literature survey. *Adv Otorhinolaryngol* 1998; 54:86-99.
26. Jobling S, Sumpter JP. Detergent components in sewage are weakly oestrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquat Toxicol* 1993; 27:361-372.
27. White R, Jobling S, Hoare SA, Sumpter JP, Parker MG. Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* 1994; 135:175-82.
28. Jobling S, Sheahan D, Osborne JA, Matthissen P, Sumpter JP. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Onchirynchus mykiss*) exposed to estrogenic akylyphenolic chemicals. *Environ Toxic Chem* 1996; 15:194-202.

29. Giesy JP, Pierens SL, Snyder EM, Miles-Richardson S, Kramer VJ, Snyder SA, Nichols KM, Villeneuve DA. Effects of 4-nonylphenol on fecundity and biomarkers of estrogenicity in fathead minnows (*Pimphales promelas*). *Environ Toxicol Chem* 2000; 19:1368-1377.
30. Metcalfe CD, Metcalfe TL, Kiparissis Y, Koenig BG, Khan C, Hughes RJ, Croley TR, March RE, Potter T. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ Toxicol Chem* 2001; 20:297-308.
31. Tapiero H, Ba GN, Tew KD. Estrogens and environmental estrogens. *Biomed Pharmacother* 2002; 56:36-44.
32. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Jørgensen N, Carlsen E, Petersen PM, Giwercman A, Andersen AG, Jensen TK, Andersson AM, Müller J. Germ cell cancer and disorders of spermatogenesis: an environmental connection? *APMIS* 1998; 106:3-11.
33. Veeramachaneni DNR. Deteriorating trends in male reproduction: idiopathic or environmental? *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61:121-130.
34. Hughes PJ, McLellan H, Lowes DA, Kahn SZ, Bilmen JG, Tovey SC, Godfrey RE, Michell RH, Kirk CJ, Michelangeli F. Estrogenic alkylphenols induce cell death by inhibiting testis endoplasmic reticulum Ca(2+) pumps. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277:568-74.

35. Christiansen T, Korsgaard B, Jespersen A. Effects of nonylphenol and 17 beta-oestradiol on vitellogenin synthesis, testicular structure and cytology in male eelpout *Zoarces viviparus*. *J Exp Biol* 1998; 201:179-92.
36. Ashfield L.A, Pottinger T.G, Sumpter J.P. Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index. *Environ Toxicol Chem* 1998; 17:679-686.
37. Blom A, Ekman E, Johannisson A, Norrgren L, Pesonen M. Effects of xenoestrogenic environmental pollutants on the proliferation of a human breast cancer cell line (MCF-7). *Arch Environ Contam Toxicol* 1998; 34:306-10.
38. Legler J, van den Brink CE, Brouwer A, Murk AJ, van der Saag PT, Vethaak AD, van der Burg B. Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicol Sci* 1999; 48:55-66.
39. Uğuz C, Erdoğan M, Sevimli A, ve ark. Nonilfenolün bıldırcınlarda histopatolojik ve moleküler düzeydeki etkileri. 18. Ulusal Biyokimya Kongresi. *Turk J. Biochem* 2004; 29:159-160.
40. Argese E, Marcomini A, Miana P, Bettiol C, Perin G. Submitochondrial particle response to linear alkylbenzen sulfonates, nonylphenol polyethoxylates and their biodegradation derivatives. *Environ Toxicol Chem* 1994; 13:737-742.
41. Karadeniz H, Caliskan A, Uguz C. Electrochemical monitoring of the interaction between 4-nonylphenol and DNA by graphite and carbon nanotube modified graphite electrodes. *Anal Sci* 2010; 26:1065-9.

42. Michelangeli F, Orlowski S, Champeil P, East JM, Lee AG. Mechanism of inhibition of the (Ca²⁺)-Mg²⁺)-ATPase by nonylphenol. *Biochemistry* 1990; 29:3091-101.
43. Bragadin M, Perin G, Iero A, Manente S, Rizzoli V, Scutari G. An in vitro study on the toxic effects of nonylphenols (NP) in mitochondria. *Chemosphere* 1999; 38:1997-2001.
44. Jubendradass R, D'Cruz SC, Rani SJ, Mathur PP. Nonylphenol induces apoptosis via mitochondria- and Fas-L-mediated pathways in the liver of adult male rat. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012; 62:405-11.
45. Muncke J. Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain: Is packaging a relevant source? *Sci Total Environ* 2009; 407:4549-59.
46. Ademollo N, Ferrara F, Delise M, Fabietti F, Funari E. Nonylphenol and octylphenol in human breast milk. *Environ Int* 2008; 34:984-7.
47. Zhang YQ, Mao Z, Zheng YL, Han BP, Chen LT, Li J, Li F. Elevation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression in the mouse brain after chronic nonylphenol exposure. *Int J Mol Sci* 2008; 9:1977-88.
48. Heneka MT, O'Banion MK. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 2007; 184:69-91.
49. Tansey MG, McCoy MK, Frank-Cannon TC. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Exp Neurol* 2007; 208:1-25.

50. Ekdahl CT, Claassen JH, Bonde S, Kokaia Z, Lindvall O. Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:13632-7.
51. Matz GJ. Aminoglycoside cochlear ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26:705-12.
52. Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26:857-71.
53. Akyıldız N. Ototoksik ilaçlar. In: Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi II. Ankara, Bilimsel Tıp Kitabevi, 2002:415-437.
54. Wit HP, Ritsma RJ. Evoked acoustical responses from the human ear: some experimental results. *Hear Res* 1980; 2:253-61.
55. Bonfils P, Avan P, Francois M, Trotoux J, Narcy P. Distortion-product otoacoustic emissions in neonates: normative data. *Acta Otolaryngol* 1992; 112:739-44.
56. Brown AM, Kemp DT. Suppressibility of the 2f1-f2 stimulated acoustic emissions in gerbil and man. *Hear Res* 1984; 13:29-37.
57. Brown AM. Acoustic distortion from rodent ears: a comparison of responses from rats, guinea pigs and gerbils. *Hear Res* 1987; 31:25-37.
58. Henley CM 3rd, Owings MH, Stagner BB, Martin GK, Lonsbury-Martin BL. Postnatal development of 2f1-f2 otoacoustic emissions in pigmented rat. *Hear Res* 1990; 43:141-8.

59. Horner KC, Lenoir M, Bock GR. Distortion product otoacoustic emissions in hearing-impaired mutant mice. *J Acoust Soc Am* 1985; 78:1603-11.
60. Kemp DT, Brown AM. Ear canal acoustic and round window electrical correlates of 2f1-f2 distortion generated in the cochlea. *Hear Res* 1984; 13:39-46.
61. Brown AM, McDowell B, Forge A. Acoustic distortion products can be used to monitor the effects of chronic gentamicin treatment. *Hear Res*. 1989 Nov;42:143-56.
62. Hatzopoulos S, Di Stefano M, Campbell KC, Falgione D, Ricci D, Rosignoli M, Finesso M, Albertin A, Previati M, Capitani S, Martini A. Cisplatin ototoxicity in the Sprague Dawley rat evaluated by distortion product otoacoustic emissions. *Audiology* 2001; 40:253-64.
63. Loquet G, Campo P, Lataye R, Cossec B, Bonnet P. Combined effects of exposure to styrene and ethanol on the auditory function in the rat. *Hear Res* 2000; 148:173-80.
64. Natalie L.M, Cappaert NL, Klis SF, Baretta AB, Muijser H, Smoorenburg GF. Ethyl benzene-induced ototoxicity in rats: a dose-dependent mid-frequency hearing loss. *J Assoc Res Otolaryngol* 2000; 1:292-9.