



T.C.

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

ODYOLOJİ ve KONUŞMA SES BOZUKLUKLARI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ YAĞI VE DEKSAMETAZON'UN AKUSTİK TRAVMA
UYGULANAN RATLARIN KOKLEASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ELEKTROFİZYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Evrin GÖRÜŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA, 2016



T.C.

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

ODYOLOJİ ve KONUŞMA SES BOZUKLUKLARI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ YAĞI VE DEKSAMETAZON'UN AKUSTİK TRAVMA
UYGULANAN RATLARIN KOKLEASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ELEKTROFİZYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

(DENEYSEL ÇALIŞMA)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Evrin GÖRÜŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Selim Sermed ERBEK

ANKARA, 2016

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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

Tez Savunma Tarihi: 30/05/2016

Tez Konusu:“Üzüm Çekirdeğı Yağı ve Deksametazonun Akustik Travma Uygulanan Ratların Kokleası Üzerine Etkilerinin Elektrofizyolojik Olarak Değerlendirilmesi”

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

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Adnan Fuat Büyöklü
Prof. Dr. Selim Sermed Erbek
Prof. Dr. G. Aydan Genç

Başkent Üniversitesi
Başkent Üniversitesi
Hacettepe Üniversitesi

ONAY: Bu tez, Başkent Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğı'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun .13.. / .06.. / 2016 tarih ve .069... Karar Sayısı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Rengin ERDAL
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlanma imkanı bulduğum, manevi desteğini her zaman hissettiğim ve çalışma disiplini örnek aldığım değerli hocam Başkent Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Levent N. ÖZLÜOĞLU'na

Tez konumun seçimi, çalışmamın planlanması, yürütülmesi, laboratuvar ve sonuçlandırma aşamalarının hepsinde benimle birlikte çalışan, yol gösteren, bilgi ve birikimlerini paylaşan, insani vasıflarını her zaman kendime örnek aldığım Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Selim S. ERBEK'e

Bu yüksek lisansa başlamama vesile olan, bu alanda başarılı olacağıma inanan ve beni yüreklendiren, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, , tez çalışmamın laboratuvar aşamasında değerli katkılarını esirgemeyen, her zaman hoşgörülü, samimi, nazik ve tanımaktan onur duyduğum çok kıymetli hocam sayın Prof. Dr. H. Seyra ERBEK'e

Akademik bilgi ve manevi destekleriyle değerli katkılarından dolayı kıymetli hocalarım Prof. Dr. Erol BELGİN'e ve Prof. Dr. Fuat BÜYÜKLÜ'ye

Tez çalışmamdaki yardım ve katkılarından dolayı Uzm. Ody. Belde ÇULHAOĞLU'na

Eğitimim süresince tecrübelerini benimle paylaşan Odym. Sinem KAPICIOĞLU ve Odym. Güldeniz PEKCAN'a,

Eğitimim süresince, her zor anımda imdadıma yetişen, başarımla mutlu olan sevgili dostum dönem arkadaşım Nurcan ACAR ve diğer tüm dönem arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan, kararlarıma saygı duyup beni destekleyen ve sevgilerini en derinde hissettiğim canım aileme, sonsuz teşekkür ederim.

Evrin GÖRÜŞ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, akustik travma sonrası oral üzüm çekirdeği yağı kullanımının, intraperitoneal deksametazon kullanımına karşı bir üstünlüğünün olup olmadığını distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) test yöntemi ile araştırmaktır.

Çalışmaya 24 adet yaş ortalaması 12 ay ve ortalama ağırlıkları 250 gr olan Sprague Downey cinsi dişi rat dahil edilmiştir. Ratların genel anestezi altında otoskopik muayeneleri ve DPOAE testleri yapılarak akustik travma öncesi işitme eşikleri saptanmıştır. Daha sonra 103 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü serbest alanda 12 saat boyunca uygulanarak, akustik travma oluşturuldu. Akustik travma sonrası 24 adet rat, her grupta 8 rat olmak üzere üç gruba ayrıldı. Birinci gruptaki ratlara travma sonrası 2. saatte ve takiben 21 gün boyunca gavaj yolu ile, günde 1 kez 150 mg/kg/gün üzüm çekirdeği yağı verildi. İkinci gruptaki ratlara intraperitoneal yolla 125 µg/kg/gün deksametazon 14 gün boyunca uygulandı. Üçüncü grup ise kontrol grubu olarak belirlendi, herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Deney sırasında deksametazon uygulanan ve kontrol ratlardan birer tane ex oldu. Akustik travma öncesi, 1, 7 ve 21. günler olmak üzere toplam 4 kez DPOAE ölçümleri yapıldı.

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında akustik travma öncesi ve 1. günde DPOAE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Yedinci ve 21. gün yapılan ölçümlerde üzüm çekirdeği uygulanan grup ve kontrol grubunun değerleri 1. gün yapılan ölçümlere göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0,05$). Deksa metazon uygulanan grupta ise akustik travma sonrası yapılan ölçümlerde anlamlı değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Deksa metazon uygulanan grupta DPOAE değerleri, 7. ve 21. gün ölçümlerinde üzüm çekirdeği yağı verilen ratlar ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

Çalışmamızın sonunda üzüm çekirdeği yağının, en azından verilen dozda ve sürede, akustik travma sonrası koklear hasar üzerine koruyucu etkisi olmadığı, deksametazonun ise kısmen koruyucu etkisinin olabileceği sonucuna vardık.

Anahtar Sözcükler: akustik travma, üzüm çekirdeği yağı, DPOAE, deksametazon

ABSTRACT

The aim of this study is to search whether using grape seed oil orally is more effective than intraperitoneal dexamethasone application after acoustic trauma, by distortion product otoacoustic emissions (DPOAE) test.

Twenty-four female Sprague-Dawley rats (mean age 12 months, and mean weight 250 g) were included in this study. Autoscopic examinations and DPOAE tests of rats were performed under general anesthesia and their hearing thresholds were measured. Then acoustic trauma was created by exposing to the white noise (103 dB SPL intensity) in free field for 12 hours. After acoustic trauma rats were divided three groups. The first group was given grape seed oil by gavage (150 mg per kg/ day) at second hours after trauma, and for following 21 days. The second group was administered dexamethasone (125 µg per kg/ day) intraperitoneally for 14 days. The third group was selected as controls and given no medication. During the study one rat from each second and third groups were ex.DPOAE measurements of the rats were made total of four times (before acoustic trauma, 1st, 7th and 21st day, respectively.)

When the groups were compared to each other, it was not detected any statistically significant difference among the DPOAE values measured before acoustic trauma and at 1st day ($p>0.05$). According to the measurements made on 7th and 21st days, the values of the first (given grape seed oil) and control groups were detected significantly lower than the values of 1st day ($p<0.05$). In the measurements made after acoustic trauma, no significant change was observed in the dexamethasone group ($p>0.05$). DPOAE values of the dexamethasone group measured on 7th and 21st days were found significantly higher than the values of the first and control groups ($p<0.05$).

In conclusion, our findings suggest that grape seed oil has not protective effect on cochlear damage after acoustic trauma even at these given doses and duration but dexamethasone may have a protective effect partially.

Key words: acoustic trauma, grape seed oil, DPOAE, dexamethasone.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Rat Koklea Anatomisi	4
2.2 İşitme Fizyolojisi	5
2.3 Oto Akustik Emisyonlar	13
2.4 Akustik Travma	18
2.5 Steroidler	20
2.6 Antioksidanlar ve Üzüm çekirdeği Ekstresi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
7. KAYNAKLAR.....	48

KISALTMALAR

GBİK	: Gürültüye bağlı işitme kaybı
DPOAE	: Distortionproduct (distorsiyon ürünü) otoakustik emisyon
OAE	: Otoakustik emisyon
ÖT	: Östaki tüpü
DKK	: Dış kulak kanalı
DTH	: Dış tüylü hücre
SOAE	: Spontan otoakustik emisyonlar
TEOAE	: Transient evoked otoakustik emisyonlar
EP	: Endolenfatik potansiyel
KM	: Koklear mikrofoni
TSAP	: Tüm sinir aksiyon potansiyeli
ÜÇE	: Üzüm çekirdeği ekstresi
ÜÇY	: Üzüm çekirdeği yağı
AİK	: Ani işitme kaybı
SNR	: Sinyal - gürültü oranı
mm	: milimetre
mm²	: milimetre kare
Hz	: Hertz
kHz	: Kilo Hertz
dB	: Desibel
SPL	: Sound Pressure Level
HL	: Hearing Level

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Soldaki resim: Rat kafatasının alttan görünümü. Sağdaki resim: Rat kafatasının yandan görünümü. 1:Bulla 2:Dış kulak yolu 3 : Skuamöz kemik 4: Arka hava hücresi.

Şekil 2. Soldaki resim: Erişkin bir rat kokleası; Sağdaki resim: Rat kokleasının elektron mikroskopik görüntüsü

Şekil 3. Deksametazonun kimyasal formülü

Şekil 4. Proantosiyanidin kimyasal yapısı

Şekil 5. Gavaj kanülü

Şekil 6. Madsen Capella 2 (GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı

Şekil 7. Prob yerleşimi ve ölçüm düzeneği

Şekil 8. Akustik travma öncesi örnek ölçüm ekran resmi

Şekil 9. Akustik travma sonrası örnek ölçüm ekran resmi

Grafik 1. Ratların akustik travma öncesi ve sonrası DPOAE değerleri

Grafik 2. Ratların gruplara göre travma sonrası DPOAE değerleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akustik travma kısa süreli yüksek şiddette sese maruz kalma sonucu ortaya çıkan geçici veya kalıcı işitme kaybı ile sonuçlanabilen bir durum olup, gelişmiş ülkelerde işitme kayıplarının ana nedenlerindendir (1). Bu konuda birçok tedavi ve profilaksi yöntemleri denenmiş olmasına rağmen, henüz etkili bir tedavi şekli bulunamamıştır (2). Bu nedenle akustik travmaya bağlı kalıcı işitme kayıplarının önlenmesine ve tedavisine yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Pek çok çalışmada gürültü maruziyetinden sonra sensöriyal hücrelerin dejenerasyonuna ya da hasarına neden olan temel mekanizmalar araştırılmıştır. Gürültü etkisi ile sempatik sistemin aktive olması sonucu ortaya çıkan vazokonstriksiyon, koklear kan akımını azaltır. Buna bağlı oluşan hipoksi ve baziler membranın olağandan fazla olan hareketinden kaynaklanan mekanik yaralanma kokleada hücresel boyutta majör değişikliklere sebep olur (3).

Hipoksinin ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif stresin işitme kaybına yol açan gürültüye bağlı koklear zedelenmelerde temel rol oynadığı varsayılmaktadır (4). Yapılan çalışmalarda, gürültüye bağlı oluşan koklear zedelenmeye hipoksinin neden olduğu varsayımı, bu zedelenmenin profilaktik olarak iç kulak kan akımını arttıran ve/veya antioksidan ajanların kullanımı sonucu engellenebilmesi ile desteklenmektedir (5-15).

Gürültüye bağlı işitme kaybında (GBİK) anatomik hasarın başlıca yeri, işitme sistemi uç organının mekanik duyu reseptörleri seviyesindedir. Yani, yüksek şiddetteki ses korti organının iç ve dış tüylü hücrelerine zarar verir. Erken evrelerde en fazla dış tüylü hücreler etkilenir (16-18). Otoakustik emisyon (OAE), dış tüylü hücrelerin titreşimi sonucunda oluşan uyarıların dış kulak kanalından ölçülmesi prensibine dayalı bir testtir. OAE testi koklear fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılır (19). Bu çalışmada sonuçların kısa sürede alınabilmesi ve güncel literatürde kabul gören bir yöntem olmasından dolayı koklear fonksiyonların OAE ile değerlendirilmesi uygun görülmüştür.

Akustik travma veya GBİK tedavisinde amaç kokleada bozulan mikrodolaşımın ve doku oksijenasyonunun ve buna bağlı gelişen serbest radikal hasarının düzeltilmesine yönelik olmalıdır. Hipoksinin ortadan kaldırılması, ortaya çıkan metabolitlerin uzaklaştırılması ve zarar gören hücrelerin onarımı için gerekli desteğin oluşturulması amaçlanmaktadır. Bu nedenle tedavide kortikosteroidler, vazodilatör ajanlar, hacim genişleticiler, hiperbarik oksijen, kohlear apoptoz spesifik hücre sinyal inhibitörleri, lipid peroksit inhibitörleri ve antioksidanlar kullanılmaktadır (20, 21-25). Literatürde akustik travmada N-asetilsistein, koenzim Q, E vitamini, C vitamini, A vitamini, magnezyum, idebenone, çörek otu yağı gibi antioksidanların rolü üzerine farklı çalışmalar mevcuttur (20, 21, 26-28).

Glukokortikoidler (prednizon, deksametazon, metilprednizolon) geleneksel olarak birçok işitme kayıplarının tedavisinde kullanılmaktadır (29). Glukokortikoidlerin etkinliğinin yanında ciddi yan etkileri iç kulak disfonksiyonlarında uzun süreli sistemik kullanıma engel olmaktadır (29, 30). Bu yan etkiler; artmış enfeksiyona meyil, Na ve su retansiyonu, kas güçsüzlüğü, osteoporozis, artmış oküler basınç, Cushing, sinirlilik ve uykusuzluktur (31).

Üzümün (*Vitis vinifera*) tıbbi ve besinsel değeri binlerce yıldır bilinmektedir. Mısırlılar bu meyveyi yaklaşık 6000 yıldır tüketmektedir ve birçok antik Yunan filozofu üzümün iyileştirici etkisinden bahsetmiştir (32). Üzüm çekirdeği ekstresi (ÜÇE), oligomerik proanthocynidin içeren biyolojik aktif polyphenolic flavonoid kombinasyonudur. Güçlü bir antioksidan olan proanthocynidinler, doğada yaygın olarak bir çok sebze ve meyvede bulunan polyphenolic içeriktir. Bugüne kadar yapılan in vivo çalışmalarda ÜÇE'nin herhangi bir yan etkisi bildirilmemiştir. ÜÇE uzun yıllardan beri Amerika ve Avrupa'da kullanılan bir besin takviyesidir ve FDA tarafından GRAS (Generally recognized as safe-Genel olarak güvenli kabul edilen) statüsüne konulmuştur (33).

Hayvanlarda akustik travma modelleri üzerinde uzun süredir çalışmalar yapılmaktadır. Ancak üzüm çekirdeği yağı ile yapılan çalışmalara rastlanmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız, oral üzüm çekirdeği yağı kullanımının koklear tüylü

hücrelere olan etkilerinin, intraperitoneal deksametazon kullanımına karşı bir üstünlüğünün olup olmadığını elektrofizyolojik olarak araştırmaktır.



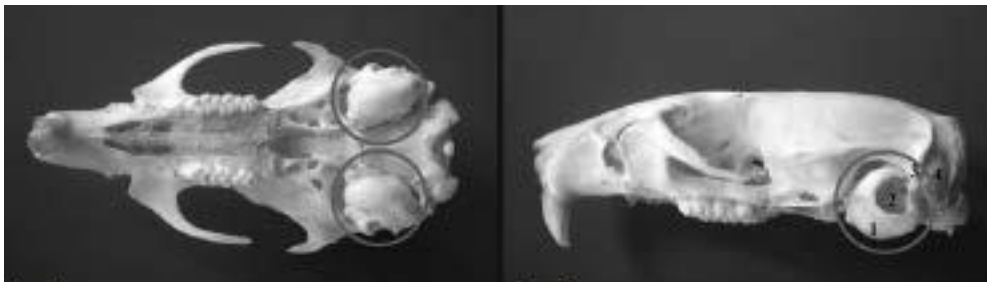
2. GENEL BİLGİLER

2.1. RAT KOKLEA ANATOMİSİ

İnsanlar 16 Hz - 20 kHz arasındaki frekansa sahip ses dalgalarını duyarlar. Ratlar ise 250 Hz – 80 kHz arasındaki ses dalgalarına duyarlıdırlar. Ultrasonik ses 20 kHz üzerindeki ses dalgalarıdır. Başparmağımızı işaret parmağına sürttüğümüzde oluşan ses bir tür ultrasonik sestir ve biz bu sesi duyamayız. Ratlar ultrasonik seslere duyarlıdırlar ve bizim duyamadığımız birçok sesi duyarlar (34).

Ratların birçok fizyolojik ve farmakolojik çalışmada deney hayvanı olarak tercih edilmesinin nedeni çabuk üreyebilmesi, deney uygulamalarında kullanımının ve bakımının kolay olması ve kısa sürede genetik açıdan benzer nitelikte gruplar oluşturulabilmesidir. Gibbs ve ark. tarafından ratın genetik haritasının çıkarılmasıyla birlikte genetik çalışmalarda da çok fazla tercih edilen bir laboratuvar hayvanı haline gelmiştir (35).

İnsan orta kulağındaki birçok yapı rat orta kulağında görülmektedir. Kobayla kıyaslandığında orta kulak yapıları insanlara daha çok benzerdir. İnsandaki gibi 3 kemikçik bulunur. Orta kulak kemikleri epitimpanik bölüme yerleşmiştir. İnsan kulağından farklı olarak orta kulak kavitesi bulla adı verilen ince bir kemik yapının içine yerleşmiştir (36) .

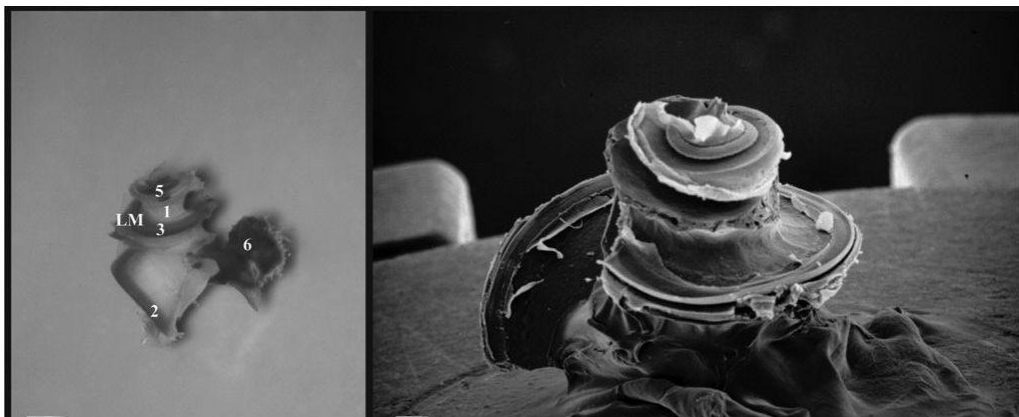


Şekil 1. Soldaki resim: Rat kafatasının alttan görünümü. Sağdaki resim: Rat kafatasının yandan görünümü. 1:Bulla 2:Dış kulak yolu 3: Skuamöz kemik 4: Arka hava hücresi (Albuquerque A.A.S.'nin (45) çalışmasından adapte edilmiştir).

Ratlarda internal karotid arter stapes krusları arasında yer almaktadır. Fasiyal sinir ise kobay ve insanlara göre daha yüzeyeldir, anterio-rostral seyrederek. İnsanlara göre diğer bir farklılık ise internal karotis arterin yuvarlak pencereyi tamamen örtmesidir (36).

Ratlarda kemikçiklerin boyları insandakilerin yaklaşık olarak dörtte biri kadardır (37). Rat orta kulağında malleus, gonial kemik bölgesinde timpanik anulusa yapışık olup malleus başı üzerinde “orbiküler apofiz” olarak adlandırılan geniş bir kitle vardır (38). İnsanlarda, timpanik membran alanı yaklaşık 66 mm² iken ratlarda 11 mm² ‘dir (39). Pars tensa ve pars flaksidanın boyutları da farklıdır. Rat orta kulağının küçük bir bullası, genellikle kapalı olan horizontale yakın yerleşimli östaki tüpü (ÖT) vardır (40). Ratın ÖT açılma basıncı ise insandakine benzerdir (41). Rat ve insan mukozası mukosiliyer transport sistemi benzerlik gösterir (42). Timpanik membran muayenesi otomikroskop ile kolay bir şekilde yapılabilir. Rat orta kulağının üç boyutlu yapısı ile insanın ki benzer iken, ratlarda mastoid hücreler yerine kavite tabanından çıkıntı yapan timpanik bulla mevcuttur (43).

Koklear kanalın uzunluğu 12,16 mm’dir. Membranöz kokleanın yapısı diğer memeliler gibidir (44). Rat kokleası 2,5 kez dönüş yapar (45).



Şekil 2: Soldaki resim: Erişkin bir rat kokleası; Sağdaki resim: Rat kokleasının elektron mikroskopik görüntüsü (Albuquerque A.A.S.’nin (45) çalışmasından adapte edilmiştir).

Ratlarda yüksek frekanslarda işitme insanlara göre daha iyidir. Çünkü küçük memeliler daha büyük memelilere göre, sesleri lokalize edebilmek için daha yüksek frekansları işitme ihtiyacı duyarlar. Bunun sonucunda kafası küçük olan memelilerin büyük olan memelilere göre yüksek frekanslarda işitmesi daha iyi olmaktadır (46).

Tüm memelilerin alçak frekanslarda işitmesi insanlardakinden daha kötüdür. Fare ve hamsterların iyi işittikleri aralık daha dardır. Hareketli bir aurikula yapısına sahip hayvanlar aurikulayı ileri geri hareket ettirerek kulaklarına ulaşan sesi arttırıp azaltabilirler. Alçak frekanslarda insanların daha iyi bir işitmeye sahip olmasının nedeni diğer hayvanlara göre sesleri daha iyi değerlendirebilmesidir (47).

2.2. İŞİTME FİZYOLOJİSİ

2.2.1 Ses Dalgası ve Özellikleri

Ses maddesel bir ortamdan dalgalar halinde yayılabilen bir titreşim enerjisidir. Katı, sıvı ve gaz ortamlardan yayıldığı halde boşlukta yayılmaz. Ses dalgalarının hızı yayıldıkları ortamın yapısına göre değişir. Ses, katı ortamlarda en hızlı, gaz ortamlarda ise en düşük yayılma hızına sahiptir. Sıvı ortamlarda yayılma hızı ise ikisinin ortasındadır. Deniz seviyesinde 20 derecelik bir sıcaklıktaki bir hava tabakasında sesin hızı 344 m/sn olarak bulunmuştur. Sıvı ortamlarda havaya göre 4 kat daha hızlı yayılır (1437 m/sn). Kemikte yayılma hızı 3013 m/sn dir (48, 49).

Frekans sesin 1 sn'de oluşturduğu titreşim sayısını ifade eder. Psikoakustik karşılığı perde (pitch)'dir. Frekans birimi Hertz (Hz)'dir. İnsan kulağı 16-20.000 Hz arasındaki sesleri duyabilir. Tek frekanstaki sese saf ses (pure tone) denir ve sesin bu biçimi doğada nadiren oluşur. Bu sese en iyi örnek diapozon sesidir. Birden fazla frekanstaki sese kompleks ses denir. Kompleks ses nonperiodik bir şekilde gerçekleşirse gürültü denir. Gürültü, eğer spektrumdaki frekansları içeriyorsa beyaz gürültü, ortanın alt ve üstündeki frekanslar filtre edilmişse dar bant gürültü adı verilir (50). Yüksek frekanslı seslere tiz, alçak frekanslı seslere pes sesler denir. İnsan kulağı her titreşimi ses olarak duymaz ve konuşma sesleri en geniş olarak 500–4000 Hz arasındadır (48, 49).

Sesin kulak tarafından duyulan yüksekliği sesin fizik şiddetine bağlıdır (48, 49). Ses şiddeti (intensity) ses dalgasının birim alana uyguladığı enerji miktarı olarak tanımlanabilir. Ses şiddeti birimi watt/cm^2 'dir. Pratikte bu birimin logoritmik değeri olan Bell kullanılmaktadır. Bunun da onda birlik değeri desibel (dB)'dir. İnsanın duyabileceği en küçük ses şiddeti $10^{-16} \text{ watt/cm}^2$ 'dir ($10^{-12} \text{ dyn/cm}^2$). Bunun dB olarak karşılığı 0'dır. Yani normal duyan insanın duyabileceği en küçük ses 0 dB olarak kabul edilmektedir (50).

Örneğin fısıltı sesinin şiddeti 30 dB iken, hafif konuşma sesi 40 dB, ortalama bir konuşma sesi 60 dB, yüksek sesle konuşma 80 dB, elektrik süpürgesi 90 dB, uçağın kalkışı 120–140 dB, yakın mesafede silah patlama sesinin şiddeti ise 130 dB'dir (48, 49).

2.2.2 İşitme

İşitme, atmosferde meydana gelen ses dalgalarının dış kulak tarafından toplanıp, beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar geçen süreç olarak tanımlanır. "İşitme sistemi" olarak adlandırılan kompleks bir yapı tarafından gerçekleştirilir (49).

İşitme sistemi birbirinden bağımsız ve işbirliği içinde çalışan birçok özelleşmiş hücre ve yapıdan oluşur. Kulak, işitme ve denge fonksiyonlarının periferik organı olup, temporal kemik içerisine yerleşmiştir. Kulak kendi içerisinde dış kulak, orta kulak ve iç kulak olmak üzere üç kısma ayrılır (51).

İşitme birbirini izleyen dört fazda gerçekleşir:

1. İletim (*conduction*) fazı
2. Dönüşüm (*transduction*) fazı
3. Sinirsel Kodlama (*neural coding*) fazı
4. Birleştirme-Algılama (*association- cognition*) fazı

1) İletim (*conduction*) fazı

İşitmenin olabilmesi için ilk şart ses dalgalarının atmosferden dış ve orta kulak aracılığı ile korti organına iletilmesidir. Bu mekanik olay sesin kendi enerjisi ile sağlanır. Ses dalgalarının toplanması ve dış kulak yoluna iletilmesi, sesin filtrelenmesi ve yükseltilmesi aurikulanın görevidir. Dış kulak kanalı (DKK) ise bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde rol oynar (52). Aurikula, konumu ve biçimi ile çevredeki sesleri toplama ve DKK'ya iletme görevi görür. Konka bir megafon gibi ses dalgalarını DKK'da yoğunlaştırır ki, bu şekilde ses dalgalarının şiddetinin 6 dB arttığı düşünülmektedir. Dış kulak kanalının girişi ve kanalın kendisi akustik rezonatör gibi rol oynar ve kulak zarındaki ses basıncını etkiler. Ses dalgasının atmosferdeki yayılması ile DKK'da yayılması karşılaştırıldığında yetişkin bir insanda 1000-8000 Hz frekans aralığında ses şiddetinin arttığı saptanmıştır. Bu şiddet artışı 3500-4000 Hz frekansı çevresinde en yüksek değerine ulaşmaktadır. 3500 Hz frekansındaki bir ses dalgası DKK'da yaklaşık 15-20 dB artmaktadır. Bu da GBİK odyogramlarında tespit edilen “akustik çentik” olarak adlandırılan 3000-4000 Hz'deki ani düşüşün sebebini açıklamaktadır (16, 49). Orta kulak, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarının iç kulaktaki sıvı ortama geçişini sağlar. Bu geçiş iki yolla olmaktadır: Ses titreşimleri ya kulak zarı ve kemikçik sisteminin titreşimi ile oval pencereden perilenfe geçer ya da ses titreşimleri kulak zarı ve orta kulaktaki havanın titreşimi ile yuvarlak ve oval pencere yoluyla perilenfe aktarılır. Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken yani direnci düşük olan gaz ortamdan direnci daha yüksek olan sıvı ortama geçerken ortalama 30 dB civarında bir enerji kaybına uğrar. Orta kulak bu ses dalgalarındaki enerji azalmasını önlemek amacıyla empedans adaptasyonu sağlar ve koklear sıvılara geçen akustik enerji amplifiye olur. Orta kulağın ses yükseltici etkisi üç mekanizma ile olmaktadır (53).

1. Kulak zarının tahtarevalli etkisi (catenary lever): Kulak zarının iki sabit titreşim noktası vardır. Bu noktalar, kemik anulus ve manubrium mallei. Kulak zarı kemiğe sıkı bir şekilde yapışır ve bu nedenle anulusta titreşmezken, ince olan orta kısımda titreşir. Böylece ses enerjisi kısmen hareketli manubriuma geçerken büyür ve iki katına çıkar.

2. Kemikçik zincirinin yükseltici etkisi (ossiküler lever): Kemikçikler bir kaldıracı andırır şekilde hareket eder. Manubrium mallei ve inkusun uzun kolu kaldıracın kollarını, malleus başı da destek noktalarını oluşturur. Ses dalgası inkodomalleolar kompleks aracılığıyla stapesin başına 1.3 kat güçlenerek ulaşmış olur (49, 54).

3. Kulak zarı ve stapes yüzeyleri arasındaki büyüklük farkı (Hidrolik lever): Orta kulağın amplifikatör etkisinde en önemli rol hidrolik mekanizmaya aittir. Bu mekanizma kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki yüzey alan farkından kaynaklanmaktadır. Kulak zarının titreşen bölümünün yüzölçümü ile oval pencerenin yüzölçümü arasındaki oran 17/1'dir. Kemikçiklerin kuvvetlendirici etkisi de eklendiğinde, ses dalgaları kulak zarından stapes tabanına 22 kat güçlenerek geçer (49, 55, 56).

Orta kulak kaslarının da ses iletimine etkisi vardır. M. Stapedius ve M. Tensor timpani kaslarının kontraksiyonu yüksek şiddetteki sesleri söndürme etkisi ile iç kulak yapılarını koruyucu etkiye sahiptir. Orta kulak genel olarak bakıldığında sesleri iç kulağa geçiren pasif bir mekanik sistemdir. Orta kulak mekanik bakımdan lineer bir özelliğe sahiptir. Yani sesin şiddeti yükselince, iç kulağa iletilen enerji miktarı da yükselir. Alçak frekanslarda kulak zarı değişmezken, yüksek frekanslarda kulak zarı düzensiz bir şekil alır. Böylece şiddet yükselmesi ile paralel olmayan bir enerji iç kulağa iletilir (49, 52, 54).

2) Dönüşüm (transduction) fazı

İç kulakta frekansların periferik analizleri yapılır ve korti organında ses enerjisi biyokimyasal olaylarla elektrik enerjisine dönüşür. Normal koşullarda, kulak zarı ve kemikçik sistemi ile oval pencereye ulaşan ses enerjisi, hem hızlı hem de yukarıda bahsedilen üç sistemin yükseltici etkisinden dolayı, hava yoluyla yuvarlak pencereye ulaşan ses enerjisinden fazladır. Pencerelelere ulaşan ayrı ses dalgası arasında iletim hızının farklı olması yüzünden faz farkı ortaya çıkar. Bu olaya dezafaj denir. Bu faz

farkı sonucu ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziler membranda titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura ulaşır (56).

Bekesy, 1960 yılında ses dalgalarının baziler membranda meydana getirdiği değişikliklere ilerleyen dalga (traveling wave) adını vermiştir. Bazal turda bazal membran daha gergindir ve baziler membran genişliği arttıkça gerginlik giderek azalır. Diğer bir nokta da baziler membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziler membranın amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslı sesler baziler membran amplitüdüleri bazal turda en yüksek seviyededir. Buna karşılık alçak frekanslarda baziler membran amplitüdü apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır (49, 52, 54, 55, 57).

Orta kulaktaki özelliklerin aksine baziler membrandaki titreşim amplitüdüleri nonlineerdir. Yani şiddetin artması ile amplitüd aynı oranda artmaz ve bu özellik yüksek frekanslarda daha belirgindir. Baziler membranın hareketi tüylü hücre hareketleri ile büyük ölçüde ilişkilidir. Tüylü hücrelerin titreşim amplitüdüleri arttıkça baziler membran amplitüdüleri de artar. Amplitüd artması özellikle dış tüylü hücrelerin hareket amplitüdüne bağlı olarak artış gösterir. Her tüylü hücrenin titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır (49, 52, 54). Kokleada bulunan tüylü hücrelerin temel fonksiyonu mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüşmesini sağlamaktır. Kokleada yaklaşık olarak 16.000 civarında olan tüylü hücrelerin %80'i DTH, (12.500 hücre) geri kalan %20 (3500 hücre) iç tüylü hücrelerdir (58, 59). Bu hücreler ses enerjisinin, yani mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüşümünde rol oynarlar. Bazal membrandaki yer değişimi, tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki dış tüylü hücrelerini bükerek hareketlendirir. Tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki sıvı kayma hareketi iç tüylü hücrelerini hareketlendirir. Böylece, iç tüylü hücreleri hız, dış tüylü hücreleri yer değiştirme algılayıcısı olarak görev görür (49, 52, 55, 56).

Transdüksiyon olayının meydana gelişi, yani baziler membran hareketleri ile sinir enerjisinin oluşması kokleada bulunan dört farklı ekstrasellüler elektriksel

potansiyelin fonksiyonu ile bağlantılıdır. Bu potansiyeller endolenfatik potansiyel (EP), koklear mikrofonik (KM), sumasyon potansiyeli (SM) ve tüm sinir aksiyon potansiyeli (TSAP) olarak adlandırılır (49).

Endolenfatik Potansiyel (EP): Skala mediada var olan elektriki potansiyeldir. Diğer elektriki potansiyeller gibi akustik uyarıya bağlı değildir. EP, kokleadaki stria vaskülerinden meydana gelir. Bu bölgenin tahrip edilmesi elektriki potansiyeli düşürür. EP, transdüksiyon olayı için mutlaka gereklidir (60).

Koklear Mikrofonik (KM): Koklea içinde veya oval pencere kenarında ölçülen bir alternatif akımdır. Büyük ölçüde DTH'lere ve bunların meydana getirdiği K^+ iyonu akımına bağlıdır. Baziller membran hareketleri ve ses uyarımları ile direkt ilişkidir. Dış tüylü hücrelerin stereosilyalarının hareketi ile direnci değişir. Stereosilyaların modiolustan uzaklaşmaları ile direnç düşer; modiolusa yaklaşmaları halinde ise artar. Endolenfatik potansiyel de bu hareketlerden etkilenir. Dış tüylü hücrelerin hasarında koklear mikrofonik kaybolmaktadır. Koklear mikrofonik dalga şekli baziller membran hareketlerine benzerlik göstermektedir (60).

Sumasyon Potansiyeli (SP): Daha çok tüylü hücrelerin özellikle DTH'lerin, hücre içi potansiyelleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. İletim dalgasının en büyük olduğu bölgeden elde edilir ve koklear mikrofonikten farklı olarak yüksek şiddetteki uyarım ile daha belirgin hale gelir. Ses uyarımı ve frekansına göre şiddeti değişir (61).

Tüm Sinir Aksiyon Potansiyeli (TSAP): Bileşik aksiyon potansiyeli olarak da adlandırılır. TSAP işitme siniri liflerinden ölçülür. Bu potansiyel yuvarlak pencere yanına yerleştirilen elektrodlar ile ölçülebildiği gibi sinire yerleştirilen elektrodlarla da ölçülebilir.

Transdüksiyon olayının meydana gelmesinde tüylü hücre ve stereosilya kompleksinin rolü olduğu kabul edilmektedir. İç tüylü hücrelerin stereosilyaları tektorial membran ile doğrudan ilişki kurmazlar. Aralarında zayıf bir bağ dokusu

vardır. Buna karşılık DTH' lerin stereosilyaları tektorial membran ile sıkı bir ilişki içindedir. Stereosilyaların tepelerinde spesifik olmayan iyon kanalları bulunur. Bu kanallar stereosilyaların hareketi ile açılır ya da kapanır. Baziler membran hareketleri ile stereosilyalar hareket eder ve iyon kanalları hareketin yönüne göre açılır ya da kapanır (62,63). Endolenf içinde +80 mV'luk bir Endolenfatik potansiyel vardır. Buna karşılık tüylü hücrelerin içinde ise negatif elektriksel yük bulunur. Bu yük iç tüylü hücrelerde -45 mV, dış tüylü hücrelerde ise -70 mV'dur. Bu fark nedeni ile hücre içine doğru K⁺ iyonları akımı ortaya çıkar ve kimyasal birtakım transmitterler aracılığıyla K⁺ akımı bir elektriksel polarizasyon ortaya çıkarır (40). Sonuçta baziler membran hareketleri elektriksel akıma dönüşmüş olur ve kendileri ile ilişkili olan sinir liflerine bu elektriksel potansiyel aktarılır. Bu yolla mekanik enerji stapes tabanından perilenfe aktarıldıktan sonra tüylü hücrelerde elektriksel akıma dönüştürülür ve böylece işitmenin transdüksiyon aşaması gerçekleşmiş olur (62).

3) Sinir şifresi (nöral kodlama) fazı:

Korti organında tüylü hücrelerde oluşan elektriksel akım akustik nöronların dendritlerini uyarır. Her frekanstaki ses stimulusu baziler membranda farklı bir alanı uyarır. Yüksek frekanstaki sesler kokleanın bazal bölgesinde, alçak frekanslı sesler ise apeks bölgesinde maksimum amplitüd oluşturur. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre değişik sinir liflerine iletilir. Sonuç olarak kulağa gelen ses, şiddetine ve frekansına göre korti organında kodlanmış olur(63,64).

4) Algı (cognition)- birleştirme (association) fazı

Spiral gangliondaki sinir hücrelerinin aksonları koklear siniri oluşturarak ponstaki koklear nükleuslara ulaşırlar. Koklear nükleuslar, ventral ve dorsal olmak üzere iki gruptur. Düşük frekanslı seslerle oluşan uyarı ventral nükleusta, yüksek frekanslı seslerle oluşan uyarı dorsal nükleusta sonlanır. Bu liflerin çoğu beyin sapının karşı tarafına geçerek superior olivar komplekse katılırlar. Lifler buradan lateral lemniskus ve inferior kollikulusa giderler. Inferior kollikulustan çıkan lifler medial genikulat nükleus aracılığıyla kortekste bulunan işitme merkezine gelirler.

İşitme merkezi temporal lobdaki *Silvian* fissüründe yerleşmiştir(49). Sonuçta kokleadan gelen sinir iletimleri işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür. Böylece sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale gelir(49,62).

2.3. OTO AKUSTİK EMİSYONLAR

Otoakustik emisyonları (OAE), kokleada dış tüylü hücrelerden kaynaklanan ve DKK'na yerleştirilen duyarlı bir mikrofonla kaydedilebilen çok düşük şiddetteki nonlinear akustik sinyaller olarak tanımlamak mümkündür. Otoakustik emisyon testi odyolojinin objektif testlerindendir. Otoakustik emisyonlar, genellikle kanal içine yerleştirilen bir prob aracılığıyla kulağa sunulan uyaranlara yanıt olarak kaydedilir. Dış kulak kanalına yerleştirilen bir prob, uyaran sunan hoparlör ve kokleada oluşup orta kulaktan dış kulağa iletilen OAE yanıtlarını kaydeden bir mikrofon içerir. Mikrofon ile alınan sesler sinyal ortalama yöntemi kullanılarak işlenir ve dijitalize edilir. Otoakustik emisyonları elde edebilmek için açık bir dış kulak kanalına gerek vardır. Emisyonların kaydedilebilmesi için orta kulakta önemli bir patolojinin bulunmaması ve kokleadaki DTH'lerin işlevini yitirmemiş olması gerekir (65).

Tarihçe

Otoakustik emisyonların ortaya çıkışının öyküsü iç kulak araştırmalarına dayanmaktadır. 1948 yılında fizikçi Thomas Gold, George Von Békésy'nin geliştirdiği ilerleyen dalga teorisinde, kokleaya pasif bir rol biçilmesinin aksine, kokleaya aktif bir modelin daha uygun olduğunu ileri sürmüştür. Teknolojik gelişmeler sonucunda İngiliz sinyal işlemcisi David Kemp'in 1978 yılında OAE'leri keşfetmesiyle, kokleanın aktif bir organ olduğu ve beyin gibi büyük oranda nonlinear ilişkiler sergilediği doğrulanmıştır.(65).

Son yıllarda yapılan çok sayıda bilimsel çalışmayla desteklenen aktif koklea modeline göre; akustik dalgaların şiddetindeki artışa paralel olarak baziler membran üzerinde ilerleyen dalgaların genliklerindeki artış, düşük şiddetlerde doğrusal iken, orta ve yüksek şiddetlerde (artış oranının düşmesine bağlı olarak) nonlinear bir karakter kazanmaktadır. Bu modele göre, baziler membranın bu davranışından

sorumlu aktif bir mekanizma bulunmalıdır. “Koklear amplifikatör” adı verilen bu mekanizma, düşük şiddetlerdeki akustik uyarıların baziler membranda oluşturduğu dalgaların amplitüdünün artmasına ve ince frekans seçiciliğinin ortaya çıkmasına neden olur (65).

Otoakustik emisyon test yönteminin avantajları

1. Objektiftir
2. Güvenilirliği yüksektir.
3. Test süresi çok kısadır.
4. Genellikle DTH’nin aktivitesini yansıtır.
5. Noninvaziv bir tekniktir. Anestezi veya sedasyon gerektirmez.
6. Pahalı değildir. Sarf malzemesi gerektirmez.
7. Hastanın genel durumundan bağımsızdır. Simulasyon yaptığı düşünülen kişilerde, mental retarde hastalarda kolaylıkla uygulanabilir (65).

Otoakustik emisyon testinin klinikte kullanım alanları

1. Gürültüye bağlı işitme kaybının erken tanısında
2. İşitsel nöropati tanısında
3. Ototoksik ilaç kullanan hastalarda işitme monitorizasyonunda
4. Koklear-retrokoklear işitme kaybı ayırımında
5. Kokleanın, özellikle DTH’nin işlevinin yerinde olup olmadığının gösterilmesinde
6. Odyolojik değerlendirme için güvenilir yanıt vermeyen özellikle çocuklarda ve genç yaş hasta gruplarında (otistik, mental retarde vb olan hastalar) işitmenin normal olup olmadığının tespitinde
7. Yeni doğanlarda ve bebeklerde işitme kaybı taramalarında
8. Diğer odyolojik testlerin sağlamlasının yapılmasında
9. Medial superior olivary kompleks kökenli supresyonun araştırılmasında

Otoakustik emisyon türleri ve özellikleri

Otoakustik emisyonlar, akustik bir uyarana olmaksızın ortaya çıkan, spontan otoakustik emisyonlar, akustik bir uyarana varlığında kaydedilen, uyarılmış otoakustik emisyonlar olmak üzere iki sınıfta incelenebilir (65).

Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE)

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE) herhangi bir uyarana olmaksızın DKK'dan kayıt edilebilen dar bantlı, düşük yoğunluklu akustik sinyallerdir (66). Spontan Otoakustik Emisyonlar'ların oluşum mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte DTH'nin aktivitesi sonucunda oluştukları kabul edilmektedir (67). Normal dış, orta ve iç kulak fonksiyonlarına sahip bireylerin %40-60'ından SOAE elde edilebilir. Bu durum SOAE'lerin klinik yararını düşürür. Spontan Otoakustik Emisyonlar 30 dB HL'i aşan işitme kayıplarında elde edilemez. Bir kulakta SOAE'lerin saptanmasının nasıl yorumlanması gerektiği henüz tartışmalı bir konudur (65).

Spontan OAE'lerin amplitüdü genellikle -15 ile 0 dB SPL arasındadır. Spontan Otoakustik Emisyonlar DKK içindeki mevcut gürültü içinden 800 ve 4000 Hz arasında dar pikler olarak ortaya çıkarlar. En fazla ortaya çıktığı frekans aralığı 1-2 kHz arasındadır. Bu orta kulağın ters iletim fonksiyonunun en etkili olarak 1-2 kHz arasında olmasına bağlanabilir (65). Spontan Otoakustik Emisyonlar ototoksik ilaçlardan ve gürültüden etkilenir, yaş ilerledikçe görülme sıklığı azalır (68).

Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

Akustik bir uyarana cevaben ortaya çıkan emisyonlardır. Farklı uyarana tiplerine göre 3 grupta incelenir (65).

- a. Uyarana frekansı OAE (Stimulus frequency OAE, SFOAE)
- b. Transient evoked OAE (TEOAE)
- c. Distortion product OAE (DPOAE)

a. Uyarın Frekansı Otoakustik Emisyonlar (*Stimulus frequency* OAE, SFOAE)

Uyarın frekansı OAE tekniğinde, uyarın olarak kesintisiz saf sesler kullanılır. Bu tip OAE'lerin frekansa spesifikliğı yüksek olmasına karşın klinik kullanımı; yüksek donanım gerektirmesi, uyarınla yanıtın zaman bakımından birbirine yakınlığı ve emisyonların kayıt edilmesindeki güçlük nedeniyle yaygınlaşmamıştır (65,69).

b. Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar (TEOAE)

Transient evoked otoakustik emisyonlar, geniş bantlı klik veya sınırlı bir frekansa sahip (tone burst) akustik uyarınlarla elde edilir. Klik uyarınla ortaya çıkan OAE'lerin frekans aralığı oldukça geniştir. Klik uyarınla elde edilen OAE'lerin spektral çözömlemesi yapılarak yanıtların frekansa özgü dağılımını görmek mümkündür. Tonal uyarınlarla ise, frekansa özgü yanıtlar elde edilir (65).

Ölçüm için genellikle 80 dB SPL şiddetinde bir ses kaynağı ve 260 adet uyarı kullanılır. Transient Evoked Otoakustik Emisyonların zayıf olması (30 dB'in altında) ve uyarı şiddetindeki artışla nonlinear olarak gelişmesi nedeniyle, sinyallerin incelenmesinde nonlinear metod için yazılımlar kullanılır. Oluşan cevaplar uyarılara göre gecikerek ortaya çıktığı için, 20 ms'n' lik kayıt aralığının ilk 2 ms'n' si sıfırlanarak çizdirilir. Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar tüm kokleayı uyarın ve geniş band sinyal olan klik şeklindeki uyarıya cevap olarak meydana geldikleri için, frekanslar hakkında DPOAE'lar kadar spesifik bilgi verememektedir. Transient Evoked Otoakustik Emisyonlar işitmesi normal olan bireylerin % 98-100'ünden alınabilir. İşitme kaybı 25-30 dB SPL'i geçerse saptanamaz (70,71).

c. Distortion Product Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar eş zamanlı olarak, farklı frekanslardaki iki saf sesin kokleaya sunulmasının ardından ortaya çıkan cevaplardır. Bu iki saf ses (f_1 ve f_2) temel frekanslar olarak adlandırılırlar. Dış kulak yolundan gönderilen iki uyarın sese karşılık, koklea normal nonlinear cevabının bir sonucu olarak farklı bir frekansta (f_3), kendisine ait başka bir ses meydana getirecektir ki, distortion product (bozulmuş, değişmiş ürün) ismi de buradan gelmektedir. Ortaya çıkan OAE'nin (f_3) frekansı, uyarın temel frekanslardan farklıdır, ancak

matematiksel olarak temel frekanslarla ilişkilidir. f_1 ve f_2 dış uyaran olarak gönderilirken, bu ilişkinin fonksiyonu $2f_1-f_2$, $3f_1-f_2$, $2f_2-f_1$ gibi farklı şekillerde olabilir (65,72). En belirgin emisyon $2f_1-f_2$ frekansında alınır ki, bu da DPOAE'ların bazal membranda oluşma yerinden kaynaklanmaktadır (73, 74-76). Kokleanın bu bölgesindeki DTH'in fonksiyonunu en iyi şekilde yansıtır (77). $2f_1-f_2$ 'nin işitme sisteminde gönderilen sesin kübü ile orantılı bir ses komponentini içeren yansıma yarattığı kabul edilmektedir. İç kulağa f_1 ve f_2 olarak iki ayrı frekansta gönderilen seslerin arasındaki oranın 1.22 olduğu durumda en yüksek amplitüdlü emisyon alınacağı gösterilmiştir (74,78,79). Distortion product otoakustik emisyonların elde edilmesinde temel frekansların arasındaki oran önemlidir. Uyaran şiddetleri (L_1 ve L_2) arasındaki oranın da DPOAE amplitüdleri üzerine etkisi vardır. İnsanlarda en yüksek amplitüdlü DPOAE iki uyaran arası fark ($L_1>L_2$) 10-15 (75/65, 65/55 vb) olduğunda kayıt edilir (65).

Kulak yoluna iki ayrı frekansta ses vermek için iki minyatür hoparlör ve kokleanın cevabını kayıt etmek için bir minyatür mikrofona ihtiyaç vardır (80). İç kulağın iki ayrı frekansta uyaran ile uyarılması, iç kulakta yayılan bu iki dalganın birbirleri ile etkileşmesine ve iki dalganın birbirleri ile girişim gösterdiği ses tonlarında, daha düşük amplitüdlü bir cevabın oluşmasına neden olur. Oluşan cevap DKK'ya kadar yansır ve hassas mikrofona aracılığı ile kayıt edilir (81). Artefakt seviyesinin 20 dB'nin üzerinde olması durumunda cihaz otomatik olarak veri toplamayı durdurur. Test edilen frekanstaki emisyon cevabının S/N (sinyal/gürültü) oranının +6 dB ve üzerinde olması durumunda o frekansta emisyon cevabı var kabul edilmektedir. Ayrıca test ekranında probun kulak kanalına doğru yerleştirildiğini gösteren *prob fit* olarak adlandırılan ve uyaranın spektral özelliğini gösteren iki küçük pencere vardır (65).

Distortion product otoakustik emisyonların sinyal çıkarma özelliği 4-5 kHz üzerindeki frekanslarda, TEOAE'dan daha üstündür ve konuşma frekanslarının üzerindeki işitme kaybı için belirleme yaparken önemlidir. Distortion product otoakustik emisyonların yüksek hassasiyet ve iyi frekans özelliği gösteriyor olması,

normal duyma fonksiyonu olanlarla, ciddi DTH lezyonu olan olguları birbirinden ayırma imkanı vermektedir (82).

2.4. AKUSTİK TRAVMA

Akustik travma, ani ve yüksek şiddetteki gürültüye maruz kalma sonucunda o anda oluşan geçici veya kalıcı işitme kaybıdır. Örneğin silah atışı sırasında ani gürültüye maruz kalma akustik travma oluşturabilir. Kokleadaki tüm yapılar etkilenebilir. Ancak en hassas ve çok zarar gören yapı korti organıdır. Mekanik travma geçici eşik değişikliği veya kalıcı eşik değişikliği yaratabilir (83).

Sesin şiddeti ve bireyin sese maruz kaldığı süre akustik travmada önemli noktalar. Eşik kaymasının sürekli ya da geçici olması ve eşik kaymasının derecesi; etkisi altında kalınan gürültünün düzeyine, gürültünün frekans dağılımına, kişinin bu gürültünün etkisinde kaldığı süreye ve kişisel duyarlılığa bağlıdır (84).

Yüksek şiddette ve sürekli sesin etkisinde kalmak, iç kulakta özellikle korti organında bir takım değişikliklere yol açar. Anatomik hasarın başlıca yeri, iç kulağın mekanik duyu reseptörleri seviyesinde, iç ve dış tüylü hücrelerdedir. Çok yoğun akustik uyarının olduğu durumlarda destek hücre elemanları da direkt olarak etkilenebilir. En fazla etkilenen hücrelerin dış tüylü hücreler olduğu saptanmıştır. Bunun nedenleri şöyle sıralanabilir: İlk olarak, baziler membran üzerindeki yerleşiminden dolayı DTH' ler daha fazla yer değiştirme özelliğine sahiptir. İkinci olarak, stereosilya üzerindeki uçlar tektoriyal membran yüzeyine gömülü oldukları için daha fazla mekanik kuvvete maruz kalmaktadırlar. Ancak iç tüylü hücre uçları tektoriyal membrana gömülü değildir. Diğer bir neden de, iç tüylü hücrelerin çevresindeki destek hücreleri tarafından korunmaktadır. Dış tüylü hücreler ise korunmasız kalmaktadır. Gürültü etkisinde kalma durumunda başlangıçta tüylü hücrelerin hareketlerinde bozulma ortaya çıkar. İstirahatle bu düzen yeniden sağlanır, geçici işitme kayıpları mekanizması bu şekilde açıklanmaktadır. Gürültünün etkisinde kalma devam ederse tüylü hücreler ve stereosilyalarda hasar başlar. İlk patoloji stereosilyaları hücrelere bağlayan köklerde görülür. Bundan sonra

stereosilyalar kaybolur. Bu olaya paralel olarak hücreler de ölmeye başlar. Korti organı baziler membrandan ayrılır, bozulmaya uğrar ve yerini tek katlı yassı hücreli epitelyum dokusu alır. Kalıcı sensorinöral tip işitme kayıplarının mekanizması bu şekilde açıklanmaktadır (16, 49, 84).

Yüksek sese maruz kalma sonucu gelişen sensörinöral işitme kaybının iç kulakta tüylü hücre hasarı ve hipoksi sonucu geliştiği ileri sürülmektedir (85,86). Hipoksi gelişiminden sonra aşırı aktiviteye bağlı olarak hasarlı hücrelerden açığa çıkan ve bozulmuş kan dolaşımı nedeniyle uzaklaştırılamayıp ortamda biriken reaktif oksijen metabolitlerinin hücre hasarını arttırdığı ve şiddetli gürültü sonrasında hücre hasarının progresyonuna neden olduğu ifade edilmektedir (53,87). Mediatörlerin etkileri sonucunda postravmatik koklear iskemi artmakta ve hipoksi progressif bir özellik kazanmaktadır.

Gürültü maruziyeti nedeniyle meydana gelen oksidatif stresin hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerinin aktivasyonu yoluyla da serbest radikallerin oluşumunu arttırdığı öne sürülmektedir (4,17,18). Buna dayanılarak çeşitli araştırmalarda, antioksidanların ve ilgili bileşenlerin gürültüye bağlı koklear fonksiyon bozukluğu ve korti organı morfolojisi üzerinde etkisi test edilmiştir. Bu aday maddeler arasında, GSH, Allopurinol, ksantin oksidaz blokleri, N-L-Asetilsistein ve GSH peroksidaz ve süperoksit dismutaz sayılabilir (6,7,14,15). Tüm bu bulgular, profilaktik uygulamaların, gürültüye bağlı hücresel oksidatif stresin yol açtığı koklear zedelenmeyi ortadan kaldıracabileceği tezini desteklemektedir.

Gürültüye bağlı işitme kaybına duyarlılık konusunda yapılan uzun süreli bir araştırmaya göre, bazı kulaklar diğerlerine göre gürültüden daha fazla zarar görmektedir (88). Hem insanlarda hem de hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda gürültüye bağlı işitme kaybında bireysel olarak değişen duyarlılık düzeyi belirlenmiştir. Yaygın olan varsayıma göre, duyarlılık konusundaki bu değişkenlik, her olgu için tek olan biyolojik faktörlerin bir göstergesidir. Örneğin, koklear duvarların sertliği gibi kokleanın fiziksel özelliklerindeki genetik kökenli bir

bozukluk ya da tüylü hücrelerin yoğunluğu gibi koklear yapıdaki bir değişkenlik duyarlılığa katkıda bulunmaktadır (88,89).

Akut akustik travmanın patogeneğinde mekanik travma ve biyokimyasal hasar olduğu kabul edilmektedir. Histolojik olarak gürültüye maruz kalmış kokleada iki major kalıcı morfolojik değişiklik saptanmıştır. Bunlar hücre kaybı ve stereosiliya yaralanmasıdır (90). Bu nedenle akustik travma sonucunda ortaya çıkan sensörinöral işitme kaybının iç kulakta tüylü hücre hasarı ve hipoksi sonucu geliştiği ileri sürülmektedir (85,86). Hipoksi gelişiminden sonra aşırı aktiviteye bağlı olarak hasarlı hücrelerden açığa çıkan ve bozulmuş kan dolaşımı nedeniyle uzaklaştırılamayıp ortamda biriken reaktif oksijen metabolitlerinin hücre hasarını arttırdığı ve şiddetli gürültü sonrasında hücre hasarının progresyonuna neden olduğu belirtilmektedir (53,87). Mediatörlerin etkileri sonucunda postravmatik koklear iskemi artmakta ve hipoksi progressif bir özellik kazanmaktadır.

Akustik travma tedavisinde amaç öncelikle kokleada bozulan mikrosirkülasyonun ve doku oksijenasyonunun düzeltilmesine yönelik olmaktadır. Bu şekilde, gelişen hipoksinin ortadan kaldırılması, ortaya çıkan metabolitlerin uzaklaştırılması ve zarar gören hücrelerin onarımı için gerekli desteğin oluşturulması amaçlanmaktadır. Bu nedenle tedavide H1-reseptör antagonistleri, kortikosteroidler, vazodilatör ajanlar, antikoagülanlar, volüm genişleticiler, hiperbarik oksijen tedavisi kullanılır (91,92).

2.5. STEROİDLER

Kortikosteroidler adrenal korteks tarafından salgılanan steroid yapılı kortizol, aldosteron ve androjenler gibi hormonların sentez yoluyla oluşturulan aynı yapıdaki analoglarıdır. Kortikosteroidler antienflamatuar, antialerjik ve immünosupresif etkilerinden dolayı en sık kullanılan ilaçlardandır. Hedef organlarda hücre membranını aşarak sitoplazma içine girerler. Sitoplazmada reseptör protein ile birleşerek hücre çekirdeğine ulaşırlar. Orada kromatin ile birleşip, kendine özgü genleri etkileyerek o genlerin ekspresyonunu yani o genlere özel mRNA türlerinin

yapımını arttıırırlar. Sonuçta hücrenin ribozomlarında belirli proteinlerin sentezi hızlandırılmış olur (93).

Steroidler birçok kulak burun boğaz hastalıklarında kullanılmaktadır. İç kulak hastalıklarında steroid kullanımı ise 1979 yılında McCabe'nin (94) otoimmün sensorinöral işitme kaybını ve 1989'da otoimmün iç kulak hastalığını tanımlamasıyla gündeme gelmiştir. Steroidler meniere hastalığı, ani işitme kaybı, tinnitus ve GBİK gibi birçok iç kulak hastalığında kullanılmıştır (95).

Steroidlerin iç kulakta etkin olabilecek optimum dozu henüz net olarak bilinmemekle birlikte, steroidlerin iç kulaktaki daha yüksek konsantrasyonlarının, işitme kaybının geri döndürülmesinde daha etkin olacağı düşünülmektedir. Ancak steroidler kan beyin bariyerini zayıf oranda geçtiklerinden, iç kulak sıvılarındaki konsantrasyonunu arttırmak için intravenöz (IV) veya oral yolla daha yüksek steroid dozları gerekmektedir. Özellikle Almanya'da ani işitme kaybı (AİK) standart tedavisinde 250 mg/gün prednizolon kullanılmaktadır ve bu tedavinin daha yüksek perilenf konsantrasyonu sağladığı gösterilmiştir (96). Ancak steroidler için daha yüksek plazma seviyesi, daha çok sistemik yan etki anlamına gelmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda iç kulakta glukokortikoid ve mineralokortikoid reseptörleri bulunması (97), steroidlerin bu reseptörler aracılığıyla koklea fonksiyonlarını düzenlediği fikrini doğurmuştur. Steroidlerin kokleaya olan etkilerinin araştırıldığı pek çok çalışmada steroidlerin; labirentteki inflamasyonu azalttığı (98), koklear kan akımını arttırdığı (99), kokleayı iskemiden koruduğu (100) ve GBİK'a karşı koruyucu etki gösterdiği (101) ortaya konmuştur.

Steroidler; viral enfeksiyon, mikrosirkülasyon bozuklukları ve otoimmün hadiselerden sonra kokleada meydana gelen enflamasyonun baskılanması amacıyla kullanılırlar. Steroidler kokleada antienflamatuvar etkilerini, fosfolipaz A2'yi inhibe ederek, lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunu engelleyerek ve hücre membranlarının stabilizasyonunu koruyarak gösterirler. Ayrıca steroidler kokleada, kan akımını artırırlar ve Na-K-ATP az enzimini aktive

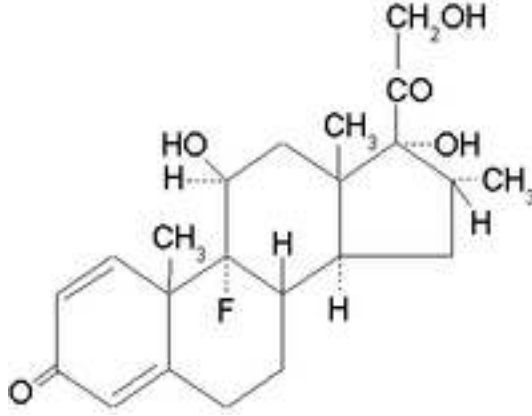
ederek selüler ozmolariteyi düzenlerler (102-104). Aktif veya inaktif tüberküloz bulunması, gözdeki herpes enfeksiyonu, gebelik, aktif peptik ülser, diabetes mellitus, konjestif kalp yetersizliği gibi durumlarda glikokortikoidler kullanılmamalıdır (105). Steroidlerin kısa süreli kullanımına bağlı oluşabilecek yan etkiler; ağızda metalik tat, yüzde flashing, iştah azalması, mide irritasyonu, insomnia, sıvı retansiyonu, geçici kan glikoz seviyesi yüksekliği, kan basıncında artış olarak bildirilmiştir. Uzun süreli kullanımda ise *Cushing* sendromu, psikişik bozukluklar, peptik ülser, glikoz entoleransı, büyümenin baskılanması, konvülsiyonlar, enfeksiyon gelişiminin kolaylaşması, osteoporoz, avasküler nekroz bildirilmiştir (106). Steroidler çeşitli kulak hastalıklarında oral, intravenöz ve intratimpanik yoldan kullanılmaktadır.

Oral yoldan kullanım, uygulamadaki kolaylık, düşük maliyet ve yan etki insidansının az oluşu gibi nedenlerle en çok tercih edilen yöntemdir. Uygulanan steroid dozları ve süreleri değişiklik gösterse de, genellikle oral yoldan 1 mg/kg/gün azalan dozlarda 10-14 gün kullanılmaktadır (107,108).

İnatrimpanik uygulamada, orta kulağa enjeksiyon ile verilen madde, yuvarlak pencere yoluyla iç kulağa ulaştırılmaktadır. İnatrimpanik yolla steroid uygulaması; adrenal korteksin baskılanmaması, perilenfte yüksek miktarda bulunması, sistemik yan etki oluşturmaması ve sistemik steroidlerin kontrendike olduğu durumlar için avantajlıdır. Fakat uygulama sonrası ağrı, akut otitis media, vertigo, timpanik membran perforasyonu, hasta uyumu ve invaziv bir girişim olması intratimpanik steroid kullanımını sınırlandıran dezavantajlarıdır (104).

Deksametazon

Deksametazon kimyasal formülü 9 α fluoro- 16- α -metil prednisolondur. Sentetik glukokortikoidler içinde antienflamatuar etkisi en güçlü olanıdır. Uzun etkili bir kortikosteroiddir (109). Sentetik kortikosterooidler, antienflamatuar etkileri nedeniyle kullanılırlar. Çeşitli metabolik etkilerinin yanı sıra, vücudun çeşitli uyarılara karşı immün yanıtını modifiye ederler. Karaciğerde metabolize olur ve idrarla atılırlar (110). Yarılanma ömrü 4 saattir (111).



Şekil 3: Deksametazonun kimyasal formülü (Aydın H.’ nin (225) tez çalışmasından adapte edilmiştir.)

2.6. ANTIOKSİDANLAR VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRESİ

Tüm aerobik organizmaların hücresel metabolik süreçlerinde canlı dokularda toksik özellikte serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Bu serbest radikal maddelerin en önemlileri süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit radikalleridir (112).

Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal türleridir. İnsan vücudunda doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan (antioksidan) sistemlerle bu oluşan serbest radikaller yok edilerek herhangi bir sitotoksisite meydana gelmez. Bu işleyiş radikaller lehine bozulduğunda (oksidatif stres) serbest radikaller DNA, protein ve lipidlerde yapısal bozukluklara neden olur. Dolayısıyla hücre membranının yapı ve fonksiyonunda bozulma meydana gelir ve bunun sonucunda serbest radikaller damar tıkanıklığı, kireçlenme, dokulardaki kansızlık, merkezi sinir sistemindeki rahatsızlıklar, gastrit, kanser gibi yüzlerce hastalığa neden olabilir (113-117).

Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri temizleyerek, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları hücresel düzeyde engellemekte (DNA bozulmalarını ve yağların peroksidasyonunu azaltan, meydana gelen hasarın tamirinde görev alan), dolayısıyla dejeneratif hastalıkların

oluşumunu durdurmaktadır. Antioksidanlar, iki grupta sınıflandırılırlar: enzimatik ve nonenzimatik. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E, vitamin C, vitamin A (a-karoten), fenolik bileşikler, selenyum, transferin ve laktoferrindir (118-120).

Fenolik bileşikler, benzenin hidroksi türevleri olan sekonder metabolitlerdir ve bitkilerde fazla miktarda bulunurlar. Fenollerin antioksidan etkileri de benzen halkasında hidroksi gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar (120,121).

Üzümün (*Vitis vinifera*) tıbbi ve besinsel değeri binlerce yıldır bilinmektedir. Mısırlılar bu meyveyi yaklaşık 6000 yıldır tüketmektedir ve birçok antik Yunan filozofu üzümün iyileştirici etkisinden bahsetmiştir. Üzüm çekirdeği, üzümün ağırlığının küçük bir kısmını oluşturmalarına rağmen ekstrakte edilebilen fenollerin üçte ikisini içerir. Çekirdek en fazla fenol içeriğine sahiptir ve ağırlığının % 5-8'i kadar fenol içerebilir (122). Fenoller çoklu hidroksil grupları içeren, hidrojen veren antioksidanlardır ve tekli oksijen doyurucularıdır. Bu özellikleri ile polifenoller reduktan ajanlar grubunda yer alır. Aynı zamanda çok güçlü metal şelatlayıcı ajanlardır. Serbest radikalleri doyurarak zincir reaksiyonunu kırarlar (123). Fenolik antioksidanlar hidrojen atomunu peroksil radikale hızlıca verir, böylece alkil peroksid oluşturarak (ROOH) lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (124).

Üzümün yetiştiği bölgenin iklimi, üzüm kabuğunun kalınlığı, üzümün hasat zamanı gibi faktörler flavonoid içeriğini etkiler (125). Üzüm çekirdeği ekstresi (ÜÇE) kırmızı üzüm çekirdeğinden standardize edilmiş su-etanol karışımıyla ekstrakte edilir. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi ile birlikte yapılan HPLC (High Performance Liquid Chromatography) çalışmaları ÜÇE'nin monomerik,

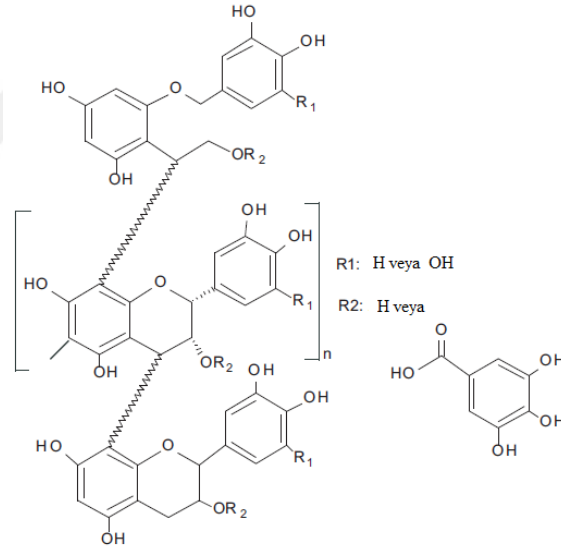
dimerik, trimerik, tetramerik ve diğer oligomerik proantosyanidin biyoflavonoidlerini içerdiğini göstermiştir (Bagchi ve ark 2000). Kateşinler ve oligomerik proantosyanidinler, üzümün odunlaşmış kısımlarında, özellikle de çekirdeğinde bulunur (126).

Üzüm çekirdeğinden yağ elde etmek için sadece çekirdek kısımlarının kullanıldığı ve çekirdek kuru maddesinin yaklaşık olarak %7-20'sinin yağdan oluştuğu bildirilmiştir (127). Üzüm çekirdeği yağı, başta linoleik (128,129) ve oleik asit olmak üzere doymamış yağ asitleri bakımından zengindir (130). Yaklaşık olarak %90 doymamış yağ asitlerini (MUFA ve PUFA) ve %10 doymuş yağ asitlerini içermekte olan bu yağ, %58-78 oranında linoleik asit; %3-15 oranında ise oleik asit içermektedir (128). Ayrıca bu yağdaki toplam tokoferol içeriğinin 454 mg/kg olduğu bildirilmiştir (131). Yağda çözünen en güçlü antioksidan olan tokoferoller, vitamin E aktivitesine sahiptir (132,133).

Uzun yıllar boyunca değişik coğrafyalarda kullanılan üzüm çekirdeği ekstresinin statüsü FDA (*Food and Drug Administration*) tarafından GRAS (*generally regarded as safe*) olarak tanımlanmıştır. Tavsiye edilen dozu günde 100 ile 300 mg olarak kabul edilmiştir. Ancak hamilelik ve laktasyon döneminde kadınların ÜÇE'den kaçınmaları tavsiye edilir (122).

Üzüm çekirdeği ve kabuğundaki ana fenolik bileşikler proantosyanidinlerdir (134). Proantosyanidinler güneş ışığının zararlı etkilerine karşı korumada, görmeyi geliştirmede, eklemlerde, arterlerde ve kalp gibi vücut dokularında esnekliği geliştirmede, kapiller, arter ve venleri güçlendirerek kan dolaşımında yardımcı rol oynar. Proantosyanidinlerin serbest radikalleri süpürücü güçlü antioksidan etkilerine ek olarak vazodilatatör, antikarsinojenik, antialerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, kardioprotektif, immünstimülan, antiviral ve östrojenik etkileri vardır. (122,135,136,138). Üzüm çekirdeği proantosyanidinleri vasküler endotel superoksit üretimini vücutta ve beyinde önemli ölçüde azaltırlar (137). Proantosyanidinler ayrıca fosfolipaz A2, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederler. Proantosyanidinler lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu azaltarak antioksidan savunmayı güçlendirirler (139).

Proantosiyamidinlerin antioksidan gücü E vitamininden 20, C vitamininden ise 50 kat güçlüdür (140-142). Üzüm çekirdeği ekstresi süperoksitleri yakalamada hidroksil radikallerine göre daha başarılıdır ve E vitamini ile kombine edildiğinde daha çok radikal yakalanır (143). Fenolikler vitaminleri erken oksidasyondan koruyup primer işlevleri için hazır hale getirirler (123). Sonuç olarak serbest radikal yakalayan ÜÇE içerikleri, resveratrol, kateşin, flavonol, proantosyanidin, antosyanin ve gallik asittir. Antioksidan özelliği bulunanlar prosiyanidin ve antosiyanindir. Membran oksidasyonuna karşı koruyanlar ise resveratrol ve kateşindir (134). Resveratrol kardiyovasküler hastalıklara karşı protektif etkilere, antiinflamatuvar ve antikarsinojen etkilere sahiptir. Resveratrol, kan beyin bariyerini geçen bir madde olduğu için akut ve kronik nörodejeneratif hastalıklardan korumada hem de sağaltımda yararlı olabilir (144).



Şekil 4: Proantosiyanidinin kimyasal yapısı (Çetin A.'nın (145) çalışmasından adapte edilmiştir).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Etik kurul

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (DA15/44) alındıktan sonra Ankara Başkent Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada, uluslararası Helsinki Deklarasyonu'nda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara uyuldu. Çalışmaya başlamadan önce güç analizi planlaması istatistiksel bir yazılım kullanılarak gerçekleştirildi.

Deney hayvanları

Çalışmamıza 24 adet, 12 aylık, ortalama 250 gram ağırlığında, sağlıklı Spraquey Downey dişi ratlar dahil edildi. Ratlar; aynı oda ve eşit koşullarda 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta 20-22°C sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri, arka plan gürültü seviyesinin 50 dB SPL'nin altında olduğu kafeslerin içerisinde barındırıldı.

Deneyisel işlemler

Tüm ratların genel anestezi altında otoskopik muayeneleri yapıp, dış kulak yolundaki debris ve buşonlar deney öncesinde temizlendi. Genel anestezi, ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60mg/kg intraperitoneal ve xylazine HCl (Rompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6mg/kg intraperitoneal(ip) verilerek sağlandı. Birkaç uygulama hariç genel olarak idame anesteziye ihtiyaç duyulmadı.

Akustik travma öncesi tüm ratların DPOAE ölçümleri yapıldı. Emisyon sonuçları aynı deneğin her iki kulağında birbirinden bağımsız olduğu için, tüm deneklerin her iki kulağına birden otoakustik emisyon testi uygulandı. DPOAE ölçümleri sonucu, sinyal gürültü oranı (SNR) 3 dB SPL'nin üzerinde olan 24 adet rat çalışmaya dahil edildi.

Deneklere 8'erli gruplar halinde 60 dB SPL gürültü izolasyonu sağlanan kabinde, 103 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü (white noise) serbest alanda 12 saat

boyunca uygulanarak, akustik travma oluşturuldu. Gürültü *Interacoustics* AC 40 model odyometre cihazından *Interacoustics* AP 70 model yükselticiye, oradan da iki adet hoparlöre aktarıldı.

Çalışma grupları

Gürültü maruziyeti sonrası 24 adet rat, her grupta 8 rat olmak üzere üç gruba ayrıldı. Çalışma sırasında deksametazon uygulanan ratlardan biri ve kontrol grubundan bir rat ex oldu. Çalışma sonrası tüm ratlar servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi.

1. grup (Üzüm Çekirdeği Yağı Grubu): 8 deney hayvanının her birine gürültü maruziyeti sonrası 2. saatte ve takiben 21 gün boyunca gavaj yolu ile, günde 1 kez 150 mg/kg/gün üzüm çekirdeği yağı verildi. Akustik travma öncesi, sonrasında 1.,7. ve 21. günler olmak üzere toplam 4 kez DPOAE ölçümleri yapıldı.



Şekil 5: Gavaj kanülü

2. grup (Deksametazon Grubu): 7 deney hayvanının her birine akustik travma sonrası 2. saatte ve takiben 14 gün boyunca 125 µg/kg/gün dozda intraperitoneal (İP) yolla günde bir kez deksametazon uygulandı. Akustik travma öncesi, sonrasında 1. 7. ve 21. günler olmak üzere toplam 4 kez DPOAE ölçümleri yapıldı.

3. grup (Kontrol Grubu): 7 deney hayvanının hiç birine herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Doğal yolla beslenmesi sağlandı. Akustik travma öncesi, sonrasında 1.,7. ve 21. günler olmak üzere toplam 4 kez DPOAE ölçümleri yapıldı.

DPOAE (Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon) Testi Uygulanması

Anestezi verildikten sonra, ratlar test için bekleme süresince ısıtıcı altında vücut sıcaklıkları korundu. Testler *Madsen Capella 2*(GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı kullanılarak yapıldı. Prob olarak yenidoğan probu kullanıldı.



Şekil6: Madsen Capella 2(GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı

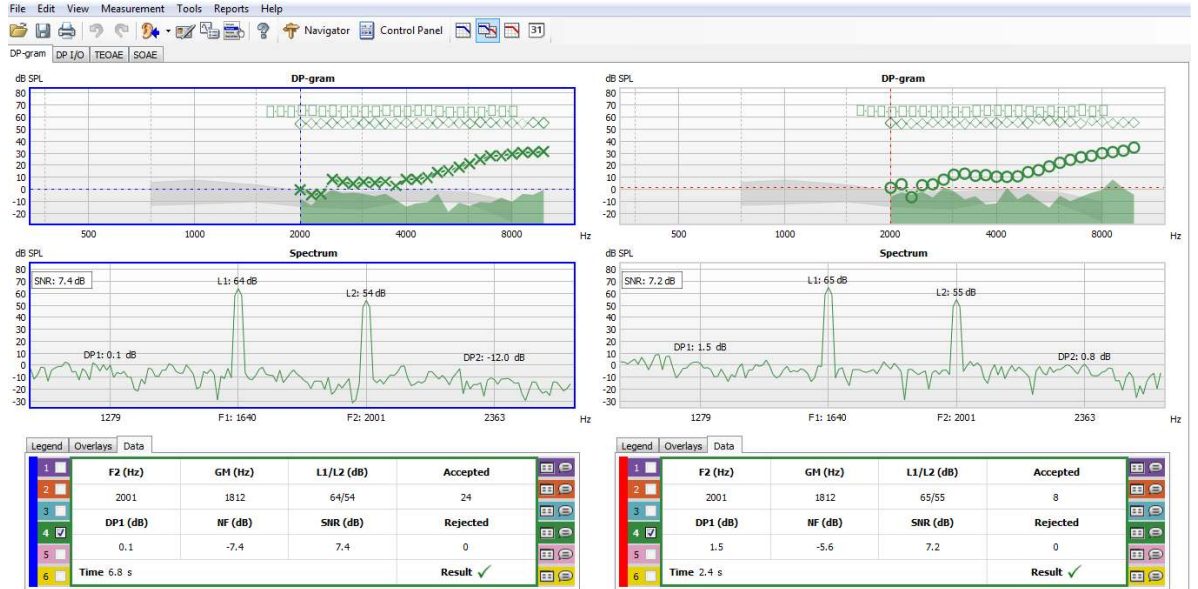
Tüm grupların DPOAE ölçümleri eş zamanlı olarak gerçekleştirildi. Ratın kafası yere yatay pozisyona getirildikten sonra ölçüm yapılacak kulağın dış kulak kanalına prob iyice yerleştirildi. Cihazdaki prob göstergesi ve uyaran dalga formu uygun konfigürasyonu ile cihazın uygun ölçüm pozisyonunda olduğu görüldükten sonra ölçüme başlandı.



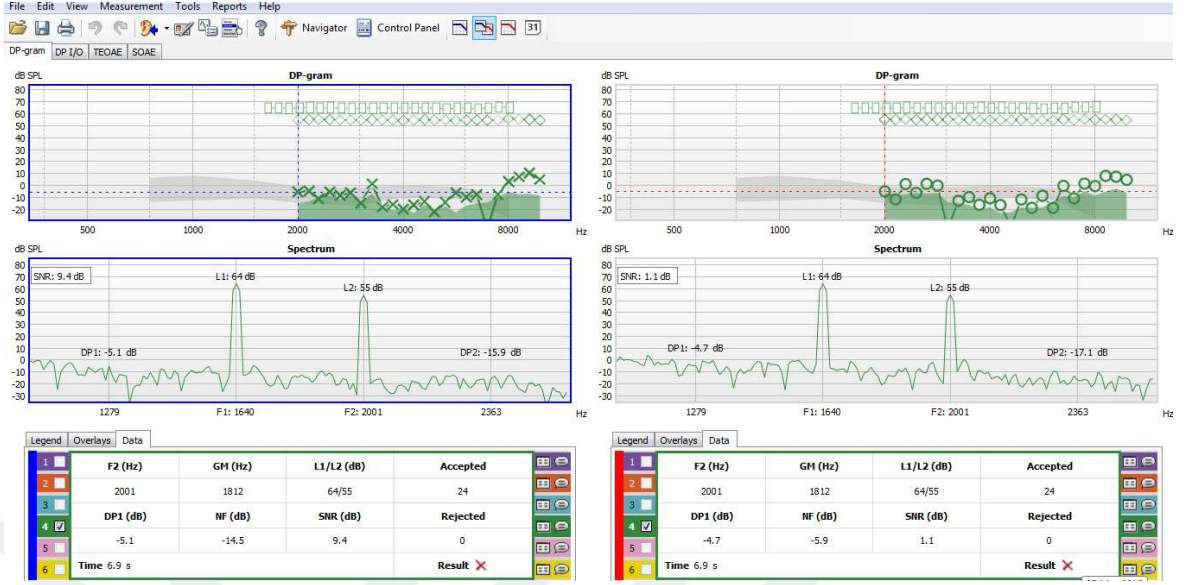
Şekil 7: Prob yerleşimi ve ölçüm düzeneği

Ölçüm parametreleri

f2 ve f1 frekansları arasındaki oran ($f2/f1$) 1.22 olacak şekilde tutuldu. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL ($L1 = 65$ dB SPL, $L2 = 55$ dB SPL) düzeyinde tutuldu. DPOAE'lar, $2f1-f2$ frekansında ölçüldü. DPOAE ölçümleri sonucu, 2002, 4004, 6064, 7998 ve 9854 Hz frekanslarında oluşan sinyal gürültü oranları (SNR) kaydedildi. Elde edilen SNR'lerden her bir rat için iki kulaktaki toplam 10 değerın ortalaması alınarak bir amplitüd değeri saptandı.



Şekil 8: Akustik travma öncesi örnek ölçüm ekran resmi



Şekil 9: Akustik travma sonrası örnek ölçüm ekran resmi

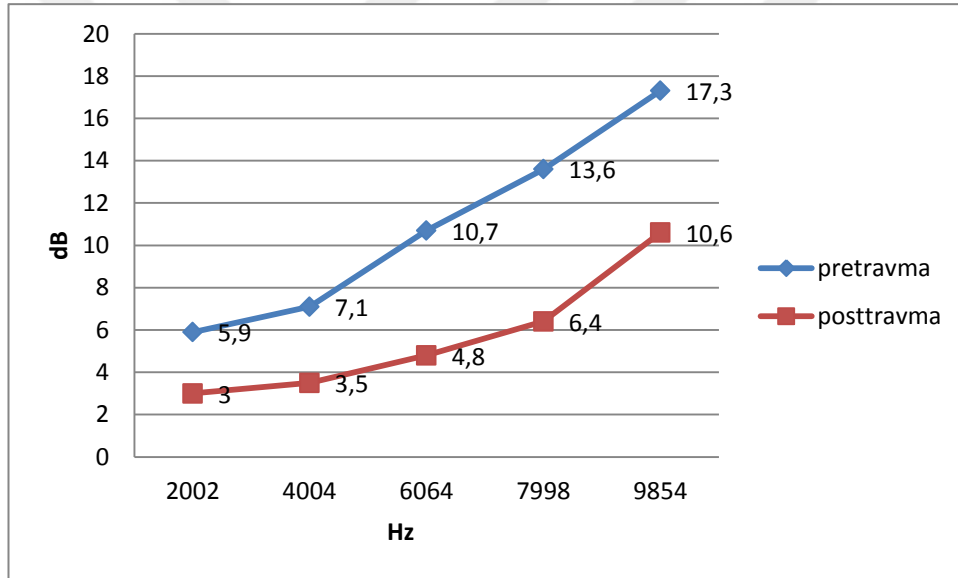
3.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Statistical Program for Social Sciences) 20.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişken sayısal veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Sayısal verilerin ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması “Student *t* testi” ile, grupların kendi içinde karşılaştırılması “Paired *t* test” ile yapıldı. P değerinin 0,05 den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Deksametazon uygulanan grupta ve kontrol grubunda birer rat çalışma sırasında ex. oldu. Bu nedenle üzüm çekirdeği yağı uygulanan grupta 8 (16 kulak), deksametazon uygulananlarda 7 (14 kulak) ve kontrol grubunda 7 (14 kulak) ratın ölçümleri değerlendirmeye alındı.

Grafik 1’ de ratlarda akustik travma öncesi ve sonrası DPOAE değerleri (dB) verilmektedir. Akustik travma sonrası bütün frekanslarda DPOAE değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağlandı ($p<0,05$).



Grafik 1. Ratların akustik travma öncesi ve sonrası DPOAE değerleri

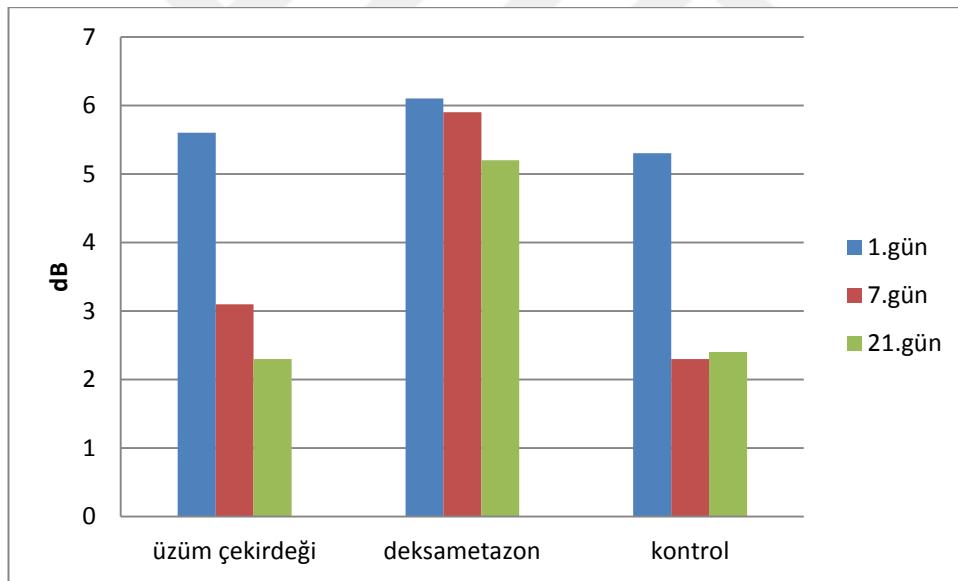
Grafik 2’de grupların akustik travması sonrası 1., 7. ve 21. günde ölçülen DPOAE değerleri verilmektedir.

Üzüm çekirdeği yağı uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde akustik travma sonrası 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümlerde 1. güne göre DPOAE değerlerinde anlamlı düşüş izlendi ($p<0,05$).

Deksametazon uygulanan ratlarda akustik travma sonrası yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).

Kontrol grubunda akustik travma sonrası yapılan ölçümlerde üzüm çekirdeği yağına benzer şekilde 1. güne göre 7. ve 21. günlerde DPOAE değerlerinde anlamlı düşüş izlendi.

Gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında ise 1. günde DPOAE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ($p>0,05$), 7. ve 21. gün yapılan ölçümlerde üzüm çekirdeği yağı uygulanan grup ve kontrol grubunun değerleri deksametazon uygulanan gruba göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0,05$). Ancak üzüm çekirdeği yağı uygulanan ratlar ve kontrol grubu arasında 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümler arasında fark yoktu ($p>0,05$).



Grafik 2. Ratların gruplara göre travma sonrası DPOAE değerleri

5. TARTIŞMA

Gürültüye bağlı işitme kaybı yaygın olduğu kadar profilaksi ve tedavisi zor bir sağlık sorunudur. Birçok karmaşık mekanizma GBİK'yı tetikler.

Literatür incelendiğinde, farklı antioksidan ajanların, akustik travmaya bağlı koklear hasar üzerine etkisi araştırılmıştır. Ancak antioksidan özelliği olan ÜÇY ile yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, çalışmamızda akustik travma modelinde ÜÇY'nin etkisi deksametazon ile karşılaştırılmıştır. Üzüm çekirdeği yağı uygulanan grupta koklear hasar üzerine iyileştirici ve hasarı sınırlayıcı bir etki sağlanamazken, deksametazonun koklear hasarı sınırlayıcı bir etkisi olduğu gösterilmiştir.

Akustik travmanın etkisi ile işitmenin değerlendirildiği deneysel çalışmalarda ABR, TEOAE VE DPOAE test bataryaları kullanılmaktadır. TEOAE ve DPOAE iç kulak fonksiyonlarının değerlendirilmesinde en çok kullanılan yöntemdir (146).

Hatzopoulos ve ark. ototoksisite çalışmalarında genel olarak ABR testi kullanılmasına karşın, ABR yanıtlarının tüm sinir liflerinin integrasyonu sonucu oluştuğunu, bu nedenle ototoksisitede koklear mikromekanikliği göstermede OAE'nin daha efektif olacağını savunmuşlardır (147).

OAE'ler kendi içerisinde karşılaştırıldığında yüksek frekans seçiciliğinden dolayı DPOAE'nin TEOAE'ye göre üstünlüğü mevcuttur (148,149). 4 kHz üzeri ölçümde TEOAE'ye göre daha kullanışlıdır (150). DPOAE'lerin değişkenliği günler ve haftalar sonra yapılan ölçümlerle araştırılmış ve 5 ila 9 dB arasında farklılık olabileceği görülmüştür (151). Tüm bu olumlu özelliklerinden dolayı çalışmamızda DPOAE testi tercih edilmiştir.

Orta kulaktaki negatif ve pozitif basınç değişikliklerine bağlı olarak, otoakustik emisyon amplitüd ve dalga tekrarlanabilirliği (reprodusibilite) oranlarında belirgin değişiklikler meydana gelir. Bu yüzden otoakustik emisyon ölçümü

yapılırken orta kulağın durumu mutlaka değerlendirilmelidir (152). Biz de çalışmamızda OAE ölçümü yapmadan önce ratlara otoskopik muayene yaptık.

DPOAE analizinde, değerlendirme parametresi olarak DPOAE amplitüdünü kullanan çalışmalar mevcuttur. Sinyal gürültü oranı ise “Signal to Noise Ratio” (SNR), kokleadan alınan sinyalin, ölçüm sırasında kayıt edilen internal gürültüye oranı olarak tanımlanır. Farklı zaman ve koşullarda yapılan ölçümlerde emisyon amplitüdlerinin ve gürültü eşiğinin değişebileceği ve DPOAE amplitüdlerinin solunum sesleri ve ortam gürültüsünden etkilenebileceği göz önüne alınırsa, SNR değerleri DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilirdir (153). Bu nedenle deneysel akustik travma oluşturduğumuz çalışmamızda, DPOAE işitme testi ve SNR oranları kullanılmıştır (154,155).

Çok çeşitli hayvan türleriyle deneysel çalışma yapılabilmektedir. Fare, rat, Guinea pig, hamster, çinçilya gibi deney hayvanları sıklıkla kullanılanlardır (156-159). Çalışmamızda; geniş frekans aralığı, akustik travma hassasiyeti gibi özelliklerinden dolayı işitme araştırmalarında sıklıkla kullanılan rat modelini tercih ettik. Hayvan modeli ne olursa olsun, OAE cevapları alınırken ortak sorun, hayvanların DKY’nin dar olması ve DKY içerisine yerleştirilen probun her zaman uygun şekilde yerleştirilememesidir. Probun yerleştirilmesinin ardından yanıtları alabilmek için birkaç kez probun pozisyonunun değiştirilmesi gerekebilir. İşlem sırasında DKY’de ödem, enfeksiyon, kanamaya sekonder pıhtı ve serümen artışı gözlemlenebilir. Tüm bu nedenler probun yerleştirilmesinde ve OAE yanıtlarının alınmasında sorunlara neden olabilir (160).

Literatür incelendiğinde, hayvan deneylerinde birbirinden çok farklı akustik travma modelleri oluşturulduğunu ve farklı terminolojilerin kullanıldığını görmek mümkündür. Ayrıca “akustik travma hayvan modeli” oluşturma konusunda görüş birliği yoktur. Benzer çalışmalarda “akustik travma”, “GBİK”, “akut akustik travma” ya da “impulse noise trauma” gibi farklı isimler kullanılmıştır (21,22,26,161-163).

Örneğin Fetoni ve ark. yaptıkları bir çalışmada 6 kHz frekans, 120 dB SPL şiddetindeki saf sesi 40 dakika uygulamışlar ve bunu “akustik travma” olarak belirtmişlerdir (21). Yine Fetoni ve ark. 1 yıl sonra yaptıkları çalışmada 6 kHz frekans, 120 dB saf sesi 30 dakika uygulamışlar ve bu uygulamayı “GBİK” olarak belirtmişlerdir (26). Kuokkanen ve ark. saldırı tüfeği ile oluşturdukları 162 dB SPL şiddetinde ses kullanarak yaptıkları başka bir çalışmalarında “akut akustik travma” ismini kullanmışlardır. Abaamrane ve ark benzer şekilde tüfek ile oluşturdukları 170 dB SPL şiddetinde ses kullanarak yaptıkları çalışmalarında “akustik travma” terimini kullanmışlardır (162,163).

Choi ve ark. 105 dB SPL şiddetindeki, 4 kHz saf sesi 6 saat uygulayarak oluşturdukları işitme kaybını “akut akustik travma” olarak belirtmişlerdir (22).

Duan ve ark. ise 160 dB SPL şiddetindeki saf sesi her biri milisaniyeler süren 50 impuls şeklinde uygulamış ve bunu “impulse noise trauma” olarak tanımlamıştır (161).

Min Ah Han ve ark. C57BL/6J farelerde intratimpanik ve intraperitoneal uygulanan dexametazonun işitme üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 60 dakika süreyle 110 dB SPL beyaz gürültü vermişler ve bunu gürültüye bağlı işitme kaybı olarak isimlendirmişlerdir (164). Biz bu çalışmamızda “Akustik travma” demeyi tercih ettik.

Chen ve ark. intratimpanik yolla uygulanan deksametazonun gürültüye bağlı işitme kaybında retrokoklear bölgedeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 6 saat boyunca 120 dB SPL şiddette gürültü vermişlerdir (165).

Özdoğan ve ark. akustik travma sonrası intratimpanik steroid uygulamasının koklea üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 8 saat 110 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü vermişlerdir (166).

Bas ve ark. gürültüye bağlı işitme kaybında deksametazon, antioksidan özelliği olan melatonin ve immünosüpresan takrolimusun işitme üzerine etkilerini karşılaştırdıkları rat modeli çalışmalarında, 4 saat süreyle 120 dB SPL gürültü verdiklerini bildirmişlerdir (167).

Can ve ark. ratlarda intratimpanik yolla uygulanan NAC, deksametazon ve pirasetamin işitme üzerine etkinliklerini karşılaştırdıkları çalışmada, akustik travma yaratmak için 24 saat boyunca 1-12kHz, 110 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü vermişlerdir (31).

Erdoğan ve ark. antioksidan özelliği olan kafeik asit fenil esterinin işitme üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada 120 dB SPL şiddetinde 40 dakika gürültü uygulamışlar ve bunu akustik travma olarak isimlendirmişlerdir. Akustik travma öncesi emisyon ölçümleri ile akustik travmadan 24 saat sonraki emisyon ölçümleri karşılaştırıldığında her iki grupta akustik travma oluştuğunu görmüşlerdir ($p<0.05$) (168).

Özdemir ve ark. hiperbarik oksijen terapisinin akut akustik travma üzerine olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında 110 dB SPL şiddetindeki beyaz gürültüyü (1-12 kHz) 25 dakika süre ile uygulamıştır (169).

Yukarıda belirtildiği üzere akustik travma modeli konusunda belirli bir fikir birliği yoktur. Kliniğimizde daha önce oluşturulan akustik travma modelleri (28,225) örnek alınarak, benzer bir model oluşturulmuş, 12 saat boyunca 103 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü verilmiştir.

Gürültüye bağlı işitme kaybı önemli bir klinik sorundur (170). Artık biliyoruz ki, birçok moleküler yolak apoptotik hücre ölümüne sebep olmaktadır. Gürültüye bağlı işitme kayıplarında, aminoglikozid antibiyotikler, kemoteropötikler, diğer çevresel faktörler ve yaşlanmada izlenen benzer moleküler yollara dair kanıtlar artmaktadır. Bu faktörlerin hepsi de serbest radikaller ile ilişkili bulunmuştur. Müdahale başlangıcındaki ROS oluşumu engellenerek, koklear kan akışı

sürdürülmeye yönlendirilebilir. Alternatif tedavi yaklaşımları ve stratejileri; nörotrafik büyüme faktörleri, steroidler, kalsinörin inhibitörleri, kaspaz inhibitörleri ve src-protein tirozin kinaz inhibitörleridir (171-175,177-185). İşitme kaybının ve tüylü hücrelerin ölümünün engellenmesinde bunların her biri en azından kısmen etkilidirler. Ancak bu stratejilerin hiç biri tek başına yeterince etkili değildir. Hücre ölümü sürecinde mücadele edilebilecek yolların çeşitliliği göz önüne alındığında çok fazla tedavi hedefi olduğu açıktır.

Klinik açıdan bakıldığında en etkili strateji olarak moleküler süreci başlatan olaylar hedeflenebilir. Böylece hücrenin normal fizyolojik durumu nispeten korunmuş olur.

Gürültü öncesi A,C,E vitaminleri gibi süpürücü ajanların verilmesinin erken dönem serbest radikal oluşumunu azaltacağı varsayılabilir. Ohinata, Ohlemiller, Yamane, Nicotena ve meslektaşları bunu çalışmalarında ortaya koymuşlardır (186-190).

Yamashita ve ark. kobaylarda 5 saat 120 dB SPL gürültü maruziyeti sonrası, serbest radikallerin gecikmeli üretimini araştırdıkları çalışmalarında, gecikmeli ROS üretiminin bir sonucu olarak ROS ve RNS süpürücülerinin GBİK'nı azalttığını, sadece gürültü maruziyeti öncesi değil, gürültü sonrası 1 ve 3. günlerde de tedaviye başlamanın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Tedavinin 5 gün gecikmeli olmasının ise gürültü hasarına etki etmediğini savunmuşlardır. ROS ve RNS ürünlerinin korti hücreleri içinde gürültüden 7-10 gün sonra en üst seviyeye ulaştığını ve bu doğrultuda tüylü hücre ölümünün de bir süreç gerektirdiğini bildirmişlerdir (191). Bizim çalışmamızda da tedavi gruplarında deksametazon ve ÜÇY uygulaması gürültü maruziyetinden 2 saat sonra başlatılmıştır.

Gürültünün serbest radikal oluşumunu uyardığı, hidroksil radikallerinin 1-2 saat gürültüye maruziyette 4 katı kadar artış gösterdiği bilinmektedir. Benzer olarak süper oksit ve reaksiyon ürünleri de gürültü maruziyetinden 2 saat sonra belirgin bir artış göstermektedir (186, 187). Ohlemiller ve arkadaşları oksidatif stresin erken

dönemde başladığı ve zamanla azımsanmayacak boyuta geldiğini ilk ileri sürenler arasındadır (187). Tüylü hücre ölümünün gürültü sonrası 14 gün gibi bir zamanda tamamlanıyor olması da serbest radikallerin hasarının zaman içerisinde oluştuğunu açıklayabilir (192). Gürültü mazuriyetinden 15-30 dakika sonra lipit peroksidasyonu ve peroksinitrit oluşumu (189,190), 1.-5. saatler arasında lipit peroksidasyon ürünleri seviyesinde artış olmaktadır (188).

Serbest oksijen radikalleri lipid, protein ve nükleik asit gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri serbest radikallerle karşılaştığı zaman yaygın peroksidasyon oluşmaktadır. Sonuç olarak hücre membran bütünlüğü bozulur. Bu olaylar zinciri hücre ölümü ile sonuçlanır (193).

Normal şartlarda dolaşımda bulunan serbest radikallerin zararlı etkileri, vücutta mevcut olan antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmaktadır. Antioksidanlar; ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri korurlar. Ancak çeşitli sebeplerle serbest radikallerin fazla üretilmesi veya antioksidan savunma sisteminin zayıflaması, serbest radikallerin toksik etkisini ortaya çıkarır (194).

Gürültü sonrası kokleada, baskı altındaki hücrelere ilave oksijen sağlamak amacı ile kan akışını hızlandıran hızlı metabolizmaları barındıran birçok dokunun aksine, kan damarlarında vazokonstrüksiyon, azalmış kırmızı kan hücresi (195) ile azalmış kan akışı (170,196-199) gözlemlenmiştir. Bu gürültü uyaranlı vazokonstrüksiyon, serbest radikallerin vazoaktif bir yan ürünü olan 8-isoprostane- F_{2a} 'nın ses uyaranlı oluşumunun doğrudan sonucudur. Böylece, serbest radikal oluşumunu azaltan antioksidan ajanlar gürültü uyaranlı vazokonstrüksiyonu elemine edebilirler. Gürültü maruziyetinin tamamen önlenmesi mümkün olmadığından, hücrelerin biyokimyasal hasardan korunması en önemli noktadır. Dolayısı ile gürültüye maruziyet sonrası hasarı önleyici ve koruyucu bir protokolün geliştirilmesi gereklidir (191).

Literatür incelendiğinde çeşitli çevresel faktörler sonucu serbest oksijen radikalleri oluşumuna bağlı işitme kayıplarında, antioksidan ajanların işitme üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalara rastlanmıştır.

Filiz ve ark. ratlarda amikasin kullanımı sonucu ototoksisiteye bağlı işitme kaybında, bir antioksidan olan beta glukanın 15 günlük kullanımıyla işitmeye etkisini araştırmışlar. 1,5,10 ve 15. Günlerde DPOAE ölçümleri sonucu beta glukana' ın amikasin'e bağlı koklear hasar üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu ve bir tedavi alternatifini olabileceğini belirtmişlerdir (200).

Akyürek ve ark. gentamisin ile kokleotoksisite oluşturdıkları rat modelinde, antioksidan özelliği ile ototoksisitede oksidatif hasarı önleyebileceğini düşündükleri ginkgo biloba kullanmışlar. İşitmeyi OAE testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, ginkgo bilobanın gentamisinin kokleotoksik etkisini sınırlayıcı etkisinin olabileceği sonucuna varılmışlardır (201).

Kalcioğlu ve ark. klinikte yaygın olarak kullanılan bir antikanser ilaç olan ve ototoksik etkisi bilinen cisplatin ile yaptıkları çalışmada, antioksidan bir ajan olan erdostein ile birlikte kullanıldığında koklear fonksiyonlarda koruyucu etki gösterdiğini ve ototoksisiteyi engellediğini göstermişlerdir (202).

Avcı ve ark. gram negatif enfeksiyonların kısa süreli tedavisinde kullanılan ve serbest radikaller üzerinden ototoksik yan etkiye sebep olan amikasinin bu yan etkisinin güçlü bir antioksidan olan resveratrol tarafından azaltılıp azaltılamayacağını araştırdıkları çalışmalarında, resveratrolün amikasin ototoksisitesinde koruyucu etki sağladığını tespit etmişlerdir (203).

Kliniğimizde, Çulhaoğlu ve ark. 4 kHz 107 dB SPL şiddetinde 12 saat boyunca gürültü verilerek oluşturulan akustik travma rat modelinde, akustik travma sonrası üç gün çörek otu yağı uygulamışlardır. Çörek otu yağı kullanımının elektrofizyolojik yöntem olan ABR ile değerlendirdikleri bu çalışmada, çörek otu

yağı kullanımının akustik travma sonrası işitme eşiklerine koruyucu yönde etki oluşturduğunu saptamışlardır (28).

Arıcı ve ark. ratlarda akustik travmaya bağlı gelişen işitme kaybı modelinde antioksidan özelliği olan likopenin etkisinin incelenmesini amaçlamışlardır. Üç saat boyunca 4 kHz bandında 120 dB SPL şiddetinde gürültü verilerek oluşturulan akustik travmanın ardından, çalışma grubundaki ratlara 14 gün boyunca 25 mg/kg likopen uygulanmıştır. 10 ve 14. günlerde DPOAE ve ABR ile işitmenin değerlendirildiği bu çalışmada, likopenin akustik travmaya bağlı gelişen işitme kayıplarında işitme eşiklerini düşürücü etkisi olduğunu saptamışlardır (204).

Yang ve ark. ratlarda stirene (sıvı hidrokarbon) maruziyeti sonucu hasarlı kokleada, antioksidan özelliği olan L-NAC'ın işitme üzerine etkilerini incelemişlerdir. Koklear hasar sonrası ratlar 3 hafta, haftada 5 gün karından enjeksiyonla L-NAC 325 mg/kg ile tedavi edilmiştir. L-NAC ile tedavi edilen hayvanlarda ABR eşik kaymasında anlamlı bir azalma olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca kontrol grubunda hasar görmüş dış tüylü hücre oranı %28,3 iken L-NAC ile tedavi edilen grupta bu oran sadece % 10.6 olarak saptanmıştır (205).

Ewert ve ark. ratlarda patlamaya maruziyet sonrası antioksidan kullanımının işitme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Açık alanda patlama simülatörü ile gerçekleştirdikleri düzenekte 3 kez ardışık olarak yüksek basınçlı patlama ile kalıcı işitme kaybı oluşturmuşlardır. Patlamadan 1 saat sonra 2,4-disülfonil-fenil tersiyer butil nitron (HPN-07) ve N-asetilsistein (NAC) dan oluşan antioksidan kombinasyonu ile tedaviye başlanmıştır. İşitme 3 ve 24. saatlerde, 7 ve 21. günlerde ABR ve DPOAE ile değerlendirilmiş, ilk 3. saat ölçümde kontrol grubu ve tedavi grubu arasında işitme eşik değişimi açısından iki grup arasında fark yokken, 21. gün ölçümlerde tedavi grubunda anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüşün 24. saatten itibaren başladığı saptanmıştır. Dış tüylü hücre kaybı artışı kontrol grubunda %32 artarken, tedavi grubunda bu oran %10'a ulaşmıştır. Bu bulgular, antioksidan kombinasyonunun patlamaya maruziyet sonrası kısa süreli kullanımının geçici ve

kalıcı eşik değişikliğini, mekanik ve sinirsel bileşenlerin zarar görmesini azaltarak, önleyebileceğini belirtmişlerdir (206).

Kalkanis ve ark. sisplatin ototoksitesisi üzerine E vitamininin koruyucu etkisini araştırdıkları rat modeli çalışmalarında, 1. gruba sisplatin uygulamasından 30 dk sonra E vitamini, 2. gruba sisplatin uygulamasından 30 dk sonra soya yağı, 3. gruba salin uygulamasından 30 dk sonra soya yağı verilmiştir. Tedavinin 3. gününde işitmeleri ABR ile değerlendirilmiş ve daha sonra elektron mikroskobu incelemesi için kokleaları çıkartılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonunda 1. gruptaki hayvanların işitme eşikleri 2. grupla karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuş, elektron mikroskobu taramalarında da koklear hasarın daha az olduğu görülmüştür. Bir antioksidan olan E vitamininin sisplatin ototoksitesisinde koruyucu bir rol oynadığı ortaya koyulmuştur (207).

Can ve ark. ratlarda potent bir antioksidan olan NAC, deksametazon ve pırasetamin (antioksidan, antiagregan, nöroprotektif) akut travma sonrası iç kulak hasarına karşı koruyucu etkilerini histolojik olarak inceledikleri çalışmada, bu üç bileşiğin stria vaskülaris ve korti organındaki apoptozise uğramış hücre oranlarını azaltmadaki etkilerinin benzer olduğunu, etkinlik açısından birbirlerine bir üstünlük göstermediklerini ancak, steroid grubunda spiral gangliondaki apoptozise uğramış hücre oranlarının pırasetamin ve NAC grubuna göre çok daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (31).

Bas ve ark. akustik travma sonrası deksametazon, antioksidan özelliği olan melatonin ve immünoşüpresan takrolimusun işitme üzerine etkilerini DPOAE ve ABR ile karşılaştırdıkları rat modeli çalışmalarında, melatonin ve takrolimusun gürültü kaynaklı işitme kaybına karşı koruyucu özelliklere sahip olduğu, buna karşın deksametazonun böyle bir etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır (167).

Son 10 yılda, beslenme ve antioksidan besinler hastalıkların önlenmesinin odağı olmuştur (208). Çalışmalar göstermiştir ki, üzüm ürünleri diğer meyvelerden çok daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir(20). Bunun nedeni, belli serbest

radikalleri nötralize etmesi veya hücre membranlarında oksidatif atağı minimize etmesi olabilir (209-211). Proantisiyonidin; sebze, meyve tohumları, fındık ve çiçeklerde doğal olarak oluşan polifenolik bileşiklerdir. Üzüm çekirdeği ekstresi oksijen radikalleri ve oksidatif strese karşı oligomerik proantisiyonidin içeren farmakolojik, teropötik ve kemoprotektif özellikleri olan bir aktif flavonoid kombinasyonudur (212).

Üzüm çekirdeği ekstresinin gürültüye bağlı işitme kaybı veya kulak hastalıkları üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya mevcut literatürde rastlanmamış olmasına rağmen, birçok antioksidanın gürültüye bağlı işitme kaybına etkisi araştırılmıştır. Üzüm çekirdeği ekstresinin çeşitli sebeplerle oksidatif hasara bağlı hastalıklarda yapılmış çok sayıda çalışması mevcuttur. Gürültüye bağlı işitme kayıplarında antioksidan kullanımı ve ÜÇE'nin oksidatif hasara karşı kullanımıyla ilgili araştırmalar, çalışmamızda ÜÇE'nin akustik travma sonucu iç kulakta meydana gelen oksidatif hasara karşı olumlu sonuçlar verebileceğini düşündürmüştür.

Bagchi ve ark. *invivo* koşullarda üzüm çekirdeği ekstresi, C vitamini ve E vitamininin serbest oksijen radikallerine karşı süpürücü etkisini araştırdıkları çalışmada; ÜÇE'nin C vitamini ve E vitaminine göre çok daha güçlü serbest oksijen radikali süpürücü özelliğe sahip olduğunu göstermişlerdir. ÜÇE süperoksit anyon ve hidroksil radikallerini % 78-81 inhibe ederken, C vitamininin % 12-19, E vitamininin %36-44 oranında inhibe edebildiğini rapor etmişlerdir (213).

Bagchi ve ark. *invivo* ve *invitro* koşullarda ÜÇE'nin C vitamini, E vitamini ve β -karotenden serbest radikal süpürücü özelliğinin çok daha güçlü olduğunu göstermişlerdir. ÜÇE, insan göğüs, akciğer ve mide adenokarsinoma hücreleri üzerinde anlamlı sitotoksik etki gösterirken, normal mide mukoza hücreleri ve makrofaj J774A.1 hücrelerinin üremesi ve canlılıklarını sürdürmelerini arttırdığını göstermişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre ÜÇE'nin ilaç ve kimyasal kaynaklı toksisiteye karşı multiorgan koruma sağlayabileceğini bildirmişlerdir (214).

Çakır ve ark. kolestatik karaciğer iskem/reperfüzyon hasarına karşı ÜÇE'nin etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları rat modeli çalışmada, ÜÇE'nin karaciğer fonksiyonlarını iyileştirebileceği, inflamasyon ve oksidatif stresi azaltabileceğini göstermişlerdir. Hepatik iskem oluşturulmadan 15 gün önce 50 mg/kg/gün ÜÇE oral olarak uygulanmış ve çalışma boyunca devam etmiştir (215).

Devi ve ark. ratlarda ÜÇE'nin oksidatif strese bağlı beyin hasarı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. 75 mg/kg/gün dozunda 9 hafta uyguladıkları ÜÇE'nin serbest radikallere bağlı beyin hasarını azaltma ve yavaşlatmada, beyinle ilgili hastalıkları minimize etmede önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Antioksidan savunma görevini, lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu düşürerek gerçekleştirdiğini savunmuşlardır (216).

Saada ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, ÜÇE'nin ışınlama ile uyarılmış oksidatif hasar ve metabolik bozukluklara karşı koruyucu etkisinin olduğunu savunmuşlardır. Çalışmada, ışınlama öncesi 14 gün boyunca 100 mg/kg/gün verilen ÜÇE'nin, ratların kalp ve pankreas dokularında oksidatif hasardan koruyabileceği sonucuna varmışlardır (217).

Bagchi ve ark. üzüm çekirdeği proantisiyonidinlerinin oksidatif strese karşı geniş spektrumlu farmakolojik ve medikal özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalarda invivo ve invitro koşullarda IH636 proantosiyonidin ekstresinin serbest radikallere karşı mükemmel bir koruma sağladığını ve C vitamini, E vitamini ve β -karoten'den çok daha güçlü serbest radikal süpürücü etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, ÜÇE'nin yüksek biyoyararlanımı olduğunu, birden fazla hedef organın ilaç, kimyasal kaynaklı toksisiteden korumak için potansiyel terapötik bir araç olabileceğini bildirmişlerdir (218).

Yukarıdaki çalışmalarda güçlü antioksidan etkisi olan ÜÇY'nin farklı hastalıklarda olumlu sonuçları gösterilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda ÜÇY'nin akustik travma sonrası koklear hasar üzerine koruyucu etkisi gösterilememiştir. Koklear hasar veya iç kulak hastalıkları üzerine ÜÇY kullanımına ilişkin bir

çalışmaya rastlamadığımız için, doz ayarlaması yapılırken farklı hastalıklarda kullanılmış ÜÇY dozları değerlendirilerek, 150 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir. Ancak ilaçların farklı hastalıklarda farklı dozlarda etkili olabileceği göz önüne alındığında, uyguladığımız ÜÇY dozu eksik veya fazla gelmiş olabilir. Daha yüksek dozda uygulanacak ÜÇY ile koklear hasar üzerine koruyucu etki arttırılabileceği gibi, Erdem ve ark. ile Miman ve ark. çalışmalarında yüksek doz antioksidanın ters etki ile ototoksisiteyi arttırıcı etki de gösterebileceğini savunmuşlardır. Bu etkinin doza bağımlı olarak değişiklik gösterip göstermeyeceği ileri çalışmalarla desteklenmelidir.

Glukokortikoidler (prednizon, deksametazon, metilprednizolon) geleneksel olarak birçok işitme hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (29). Glukokortikoidlerin etkinliğinin yanında ciddi yan etkileri iç kulak disfonksiyonlarında uzun süreli kullanıma engel olmaktadır (29,30). Bu yan etkiler; artmış enfeksiyona meyil, Na ve su retansiyonu, kas güçsüzlüğü, osteoporozis, artmış oküler basınç, cushing, sinirlilik ve uykusuzluktur (31).

Genel olarak, iç kulak hastalıklarında kullanılan steroid tedavileri sistemik uygulamalara dayanmaktadır. Bununla birlikte, santral sinir sistemindeki kan-beyin bariyerinin benzeri olan kan-labirentin bariyeri nedeniyle sistemik steroid uygulamalarında iç kulakta etkili lokal steroid konsantrasyon artışlarını sağlamak güçtür. Ayrıca, sistemik steroid uygulamalarında mide mukoza hasarı, kan şekeri yükselmesi, karaciğer tıkanıklığı ve enfeksiyon riskini içeren yan etkiler oluşabilmektedir (219).

Gürültüye bağlı işitme kayıpları tedavisinde hücrel hiperreaksiyonu azaltıcı, azalmış olan mikrosirkülasyonu arttırıcı ve dış tüy hücrelerinin aşırı fonksiyonu sırasında oluşan metabolitleri uzaklaştırıcı birçok tedavi edici ajan denenmiştir. Bu ajanlar içinde kortikosteroidler gürültüye bağlı işitme kayıplarında en çok denenilenlerden biridir. Kortikosteroidler, hücre fonksiyonlarında genomik yollarla (intraselüler reseptörlere bağlanır ve sonuç olarak ilgili gen ekspresyonunu etkiler) uzun dönemde etkilere sebep olmaktadır. Kortikosteroidler, ayrıca hücre

fonksiyonlarını nongenomik yollarla (birçok farklı çeşit hücre membran reseptörünü etkiler) hızlıca değiştirebilir. Kortikosteroidlerin, hasarlı hücrelerdeki koruyucu etkisi şu yollarla olmaktadır: 1) hücre membranı stabilizasyonu 2) serbest oksijen radikallerini temizleyerek ve 3) fosfolipaz A2 inhibisyonu (220-222).

Deksametazon (DXM) ise sentetik bir glukortikoid reseptör agonisti olup TNF α 'nın indüklediği apoptozisi inhibe etmektedir. TNF α ile ilişkili işitsel tüylü hücrelerdeki apoptozisde deksametazonun koruyucu etkisi TNFR1 aktivasyonu ile olmaktadır. Yapılan invitro çalışmada tüylü hücrelerde TNF α kaynaklı hücre ölümünün DXM ile engellendiği gösterilmiştir (223, 224).

Klinikte koklear hasar üzerine en çok tercih edilen ve olumlu etkileri bilinen ilaç deksametazon olduğu için, karşılaştırmalı çalışmamızda ÜÇY'nin etkisini değerlendirmek üzere deksametazon tercih edilmiştir. Deksametazon uygulanan grupta ÜÇY grubunun aksine 7. Ve 21. Günde DPOAE değerlerinde 1. Gün ölçümlerine göre anlamlı bir farklılık oluşmamıştır. Buna göre bizim oluşturduğumuz akustik travma modelinde deksametazonun koklear DTH'lerdeki oluşan hasarı kısmen azaltıcı etkisi olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, gürültü maruziyeti sonrası deksametazon uygulamasının, koklear hasarın ilerlemesini en azından sınırlandırdığı gösterilmiştir. Literatür incelendiğinde deksametazonla yapılan araştırmalarda, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan daha olumlu sonuçlar alındığı görülmektedir. Bu da bize, uyguladığımız akustik travma modelinde sürenin çok daha uzun tutulması sonucu, geri dönüşümsüz bir koklear hasar oluşturduğumuzu düşündürmüştür. Aynı sebebe bağlı olarak ÜÇY'den beklediğimiz olumlu sonucu alamamış olabiliriz. Üzüm çekirdeği yağı pek çok çalışmada güçlü serbest radikal süpürücü etkisi kanıtlanmış bir antioksidan ajandır. Çalışmamızda bu etkinliğin zayıf bulunmasının, çalışma koşulları ve yöntemi ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Üzüm çekirdeği yağının koruyucu etkisinin daha ileri bir seviyede olabileceği, bunun anlaşılabilmesi için doz ve süre ayarlaması ile ilgili detaylı çalışmaların çok daha iyi sonuçlar verebileceği düşünülmüştür.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada akustik travma sonucu oluşan koklear hasarda ÜÇY'nin olası koruyucu etkinliğini deksametazonla karşılaştırmak amacıyla araştırma kapsamına alınan 22 adet rat üzerinde elde ettiğimiz sonuçları şöyle sıralayabiliriz:

1. Çalışmamıza katılan tüm ratlarda akustik travma modeli oluşturulmuştur.
2. Akustik travma sonrası bütün frekanslarda DPOAE değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağlanmıştır.
3. Üzüm çekirdeği yağı uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde akustik travma sonrası 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümlerde, 1. güne göre DPOAE değerlerinde anlamlı düşüş izlenmiştir.
4. Akustik travma sonrası uygulanan ÜÇY'nin, koklear hasara karşı koruyucu etki göstermediği saptanmıştır.
5. Dekametazon uygulanan ratlarda akustik travma sonrası 7. ve 21. günlerde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir.
6. Akustik travma sonrası uygulanan deksametazonun koklear hasar üzerine sınırlayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir.
7. Çalışmamızın sonuçları, çalışmamızın amacı ve çalışma modelimizle birlikte değerlendirildiğinde, ÜÇY'nin olası olumlu etkilerini farklı dozlarda araştırmaya yönelik hayvan deneyleri yapılmalıdır.
8. Ayrıca, ÜÇY'nin koklear hasar üzerine etkisinin araştırılacağı farklı akustik travma modellerinin uygulanacağı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Ahn JH, Kang HH, Kim YJ, Anti-apoptotic role of retinoic acid in the inner ear of noise-exposed mice, *Biochem Biophys Res Commun.*, 335(2):485-90, 2005.
2. Lynch ED, Kil J. Compounds for the prevention and treatment of noise-induced hearing loss, *Drug Discov Today* 10(19):1291-8, 2005.
3. Wang Y, Hirose K, Liberinan MC. Dynamics of noise-induced cellular injury and repair in the mouse cochlea. *J Assoc Res Otolaryngol* 3:248-268. 2002.
4. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss, *Ear Hear* 27(1): 1-19, 2006.
5. Kopke RD, Coleman JK, Liu J, Candidate's thesis: enhancing intrinsic cochlear stress defenses to reduce noise-induced hearing loss, *Laryngoscope* 112: 1515–1532, 2002.
6. Kopke RD, Weisskopf PA, Boone JL, Reduction of noise-induced hearing loss using L-NAC and salicylate in the chinchilla, *Hear Res.*, 149:138–146, 2000.
7. Franze A, Sequino L, Saulino C, Effect over time of allopurinol on noise-induced hearing loss in guinea pigs, *Int Audiol*, 42: 227-234, 2003.
8. Hoshino T, Tabuchi K, Hirose Y, The non-steroidal anti-inflammatory drugs protect mouse cochlea against acoustic injury, *Tohoku J Exp Med.*, 216:53-9, 2008.
9. Coleman JK, Kopke RD, Liu J, Pharmacological rescue of noise induced hearing loss using N-acetylcysteine and acetyl-L-carnitine, *Hear Res.*, 226: 104-113, 2007.
10. Kopke R, Bielefeld E, Liu J, Prevention of impulse noise-induced hearing loss with antioxidants, *Acta Otolaryngol.*, 125: 235-243, 2005.
11. Yamashita D, Jiang HY, Le Prell CG, Post-exposure treatment attenuates noise-induced hearing loss, *Neuroscience* 134: 633-42, 2005.
12. Hamernik RP, Qiu W, Davis B. The effectiveness of N-acetyl-L-cysteine (L-NAC) in the prevention of severe noise-induced hearing loss, *Hear Res.*, 239: 99-106, 2008.
13. Samson J, Wiktorek-Smagur A, Politanski P, Noise-induced time-dependent changes in oxidative stress in the mouse cochlea and attenuation by Dmethionine, *Neuroscience*, 152:146-150, 2008.

14. Yamasoba T, Nuttall AL, Haris C, Role of glutathione in protection against noise-induced hearing loss, *Brain Res.*, 784: 82-90, 1998.
15. McFadden SL, Ohlemiller KK, Ding D, The influence of superoxide dismutase and glutathione peroxidase deficiencies on noise-induced hearing loss in mice, *Noise Health*, 3:49-64, 2001.
16. Brenda LLM, Glen KM, Noise-induced hearing loss, (Cummings CW, ed). *Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 4. baskı, Philadelphia, Elsevier Mosby, 2906-2925, 2005.
17. Daniel E, Noise and hearing loss, a review. *J Sch Health*, 77: 225-31, 2007.
18. Cheng AG, Cunningham LL, Rubel EW, Mechanisms of hair cell death and protection, *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 13: 343-8, 2005.
19. Brownell WE, Outer hair cell electromotility and otoacoustic emissions. *Ear Hear* 11:82-92. 1990.
20. Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM, Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma, *Free Radic Biol & Med.*, 1454–63, 2007.
21. Fetoni AR, Ferraresi A, Greca CL, Antioxidant protection against acoustic trauma by coadministration of idebenone and vitamin E, *Neuroreport*, 19(3):277-81, 2008.
22. Choi CH, Chen K, Vasquez-Weldon A, Effectiveness of 4-hydroxy phenyl N-tert-butyl nitron (4-OHPBN) alone and in combination with other antioxidant drugs in the treatment of acute acoustic trauma in chinchilla, *Free Radic Biol Med*, 44(9):1772-84, 2008.
23. Takahashi K, Kusakari J, Kimura S, Wada T, Hara A. The effect of methylprednisolone on acoustic trauma. *Acta Otolaryngol* 116(2):209-12. 1996.
24. Coleman JK, Quirk WS, Dengerink HA, Pentoxifylline increases cochlear blood flow while decreasing blood pressure in guinea pigs, *Hear Res.*, 47(1-2):169-74, 1990.
25. Çakir BÖ, Ercan İ, Civelek Ş, Negative effect of immediate hyperbaric oxygen therapy in acute acoustic trauma. *Otology& Neurotology*, 27: 478- 483, 2006.
26. Fetoni AR, M Ralli, B Sergi, C Parrilla, D Troiani, G Paludetti. Protective effects of Nacetylcysteine on noise-induced hearing loss in guinea pigs, *Acta Otorhinolaryngol*, 29(2): 70–5, 2009.
27. Hirose Y, Sugahara K, Mikuriya T, Hashimoto M, Shimogori H, Yamashita H. Effect of water-soluble coenzyme Q10 on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 128(10):1071-6. 2008.

28. Çulhaoğlu B, Ratlarda akustik travma sonrası çörek otu yağı uygulamasının elektrofizyolojik etkilerinin araştırılması, Yüksek lisans tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Ankara, 2015.
29. Nadel DM, The use of systemic steroids in otolaryngology, Ear, nose, & throat journal 75:502-6, 1996.
30. Alexiou C, Arnold W, Fauser C, Sudden sensorineural hearing loss : does application of glucocorticoids make sense?, Archives Otolaryngology Head Neck Surgery, 127:253-8, 2001.
31. Can E, Gürültüye maruz bırakılan sıçanlarda intratimpanik deksametazon, n-asetil sistein, pirasetam'ın kokleayı koruyucu etkilerinin karşılaştırılması, Uzmanlık tezi, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Kocaeli, 2009.
32. Özkan G, Ulusoy Ş, Örem A, The effect of grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) on urinary sodium excretion, J clin Anal med, (6): 469-471, 2014.
33. Belviranlı M. Üzüm çekirdeği ekstresinin sıçanlarda akut ve kronik egzersizin neden olduğu oksidatif hasar ve antioksidan savunma üzerine etkileri. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya, 2009.
34. Kelly JB, Masterton B. Auditory sensitivity of the albino rat. J Comp Physiol Psychol, 91(4):930-6, 1977.
35. Gibbs RA, Weinstock GM, Metzker ML, Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. Nature, 428(6982):493-521, 2004.
36. Antonio J., Oliveira A De., Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research, Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, 75:43-49, 2009.
37. Judkins RF, Li H, Surgical anatomy of the rat middle ear, Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 117(5):438-47, 1997.
38. Fleischer G, Evolutionary principles of the mammalian middle ear, Advances in anatomy, embryology and cell biology, New York, 55:5-70 Springer-verlag, 1978.
39. Zimmer W.M., Rosin D.F., Saunders J.C., Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. The Anatomical Record, 239(4):475-84, 1994.
40. Daniel H.J, Brinn J.E, Fulghum R.S., Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology, 91(1):82-9. 1982.

41. Hellström S., Stenfors L.E., The pressure equilibrating function of pars flaccida in middle ear mechanics. *Acta Physiologica Scandinavica*, 118(4):337-341, 1983.
42. Albiin N, Hellström S, Stenfors LE, Middle ear mucosa in rats and humans. *The Annals of otology, rhinology & laryngology. Supplement*, 126:2-15. 1985.
43. Hellström S, Salen B, Stenfors LE, Anatomy of the rat middle ear, *Cells Tissues Organs*, 112(4):346-352, 1982.
44. Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy of the laboratory rat*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1976.
45. Albuquerque A.A.S, Rossato M, Oliveira J.A.A, Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research, *Braz J Otorhinolaryngol*, 75(1):43-9, 2009.
46. Heffner HE. Heffner RS. Audition. *Handbook of research methods in experimental psychology* (Davis SF, ed). Madlen ,Blackwell. 413-440, 2003.
47. Heffner HE. Heffner RS. Hearing Ranges of Laboratory Animals *J Am Assoc Lab Anim Sci.*, 46(1): 20-2. 2007.
48. PJ. A. *Physiology of the auditory system.*, 2. ed. St. Louis Missouri: Mosby YearBook Inc; p. 2566-603. 1993.
49. Akyıldız N. *İşitme Fizyolojisi Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi* Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1.cilt: 22-128. 1998.
50. Büyüklü F, *Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi*, Cilt 1, Ankara, Anadolu Sanat, 31. 2013.
51. Aslan A, Belgin E. *Kulak anatomisi ve işitme fizyolojisi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi*, (Koç C, ed.), Ankara, Güneş Tıp Kitabevi: 45-71. 2004.
52. Abbas PJ, Miller CA. *Physiology of the Auditory System*. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE. *Otolaryngology Head&Neck Surgery*, Mosby-Year Book. 4: 2831-2874,1998.
53. Shirwany Na, Seidman MD, tang W. Effect of transtympanic injection of steroids on cochlear blood flow, auditory sensitivity, and histology in the guinea pig. *Am J Otol*; 19:230-235, 1998.
54. Mills JH, Adkins WY. *Anatomy and Physiology of Hearing* Ed: Bailey BJ, *Head&Neck Surgery–Otolaryngology*. Lippincott Company, Piladelphia, 1. Edition, Vol. 2: 1441-1461, 1993.

55. Bluestone CD. Physiology of the Middle Ear and Eustachian Tube. In Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL. Otolaryngology. WB Saunders Company, 1: pp.163-197. 1991.
56. Lonsbury-Martin BL, Martin GK; Coats AC. Physiology of the Auditory and Vestibular Systems. In Ballenger JJ. Diseases of the Nose, Throat, Ear, Head&Neck. Lea &Febiger, 948-1005. 1991.
57. Guyton AC. Hearing sense, Textbook of Medikal Phsiology, WB Saunders, 987, 2:1057-1072.
58. Belgin E. Periferik İşitme Sisteminin Anatomi ve Fizyolojisi. Temel Odyoloji (Belgin E, ed). Ankara, Güneş Kitapevi. 27-38,2015.
59. Kemp DT. Otoacoustic emissions as a diagnostic tool in a clinical contex. Active process and otoacoustic emissions in hearing (Manley G.A, et al, ed). New York, Springer. 421-460, 2008.
60. Akyıldız N. İşitme Fizyolojisi Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1.cilt: 96-97, 1998.
61. Büyüklü F, Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi, Cilt 1, Ankara, Anadolu Sanat, 23. 2013.
62. Moore DR. Anatomy and physiology of binaural hearing. Audiology 30: 125-134. 1991.
63. Eldredge DH, Miller JD. Physiology of hearing. Annu Rev Physiol, 33: 81-310, 1971.
64. Neely JG. Mechanisms of hearing: cochlear physiology. Ear Nose Throat J 64:292-307, 1985.
65. Şerbetçioğlu, B, Dizdar, H. Otoakustik emisyonlar. (Belgin E, ed). Temel Odyoloji (113-122). Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri, 2015.
66. Penner MJ, Glotzbach L, Huang T, Spontaneous otoacoustic emissions: measurement and data, Hear Res., 68: 229-37, 1993.
67. Oysu Ç, Külekçi M, Kavak L, Kontralateral Akustik Uyarının Spontan Otoakustik Emisyonlar Üzerine Etkileri. Turk Arch Otolaryngol, 39(2): 96-101, 2001.
68. Bright KE, Spontaneous otoacoustic emissions, (Robinette MS, Glatke TJ eds), Otoacoustic emissions, 2nd ed.(74-94), Thieme Medical, 2002.
69. Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions, Ear Hear, 14(1):11-22, 1993.

70. Erdem T. Otoakustik emisyonların klinikte kullanım alanları (Çeşitli tiplerde işitme kaybı gösteren veya işitme taraması yapılan 166 olgunun 287 kulagı üzerinde yapılan çalışma). Uzmanlık Tezi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı İzmir, 1998.
71. Özturan O, Lew H, Jerger J, Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları, KBB İhtis Derg, 2: 194–205, 1994.
72. Mills DM, Feeney MP, Drake EJ, Developing standards for distortion product otoacoustic emission measurements. J Acoust Soc Am., 122(4) : 2203-14. 2007.
73. Lonsbory-Martin BL, Martin G. A review of otoacoustic emissions. J Acoust Soc Am 89:2027-67. 1991.
74. Kemp DT, Brown MB. Ear canal acoustic and round window electrical correlates of $2f_1-f_2$ distortion generated in the cochlea. Hear Res. 13:39-46. 1984.
75. Lonsbory-Martin BL, Harris FB, Stagner BB, Hawkins MD; Martin GK. Distortion product otoacoustic emissions in human. II. relations to acoustic immittance and stimulus frequency and spontaneous emissionss in normally hearing subjects. Ann Otol Rhinol Laryngol 99: 15–29. 1990.
76. Neely ST, Johnson TA, Kopun J, Dierking DM, Gorga MP. Distortion-product otoacoustic emission input/output characteristics in normal-hearing and hearing-impaired human ears. J Acoust Soc Am 126(2):728-38. 2009.
77. Yılmaz HR, Uz E, Yücel N, Altuntaş I, Özçelik N. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. J Biochem Mol Toxicol 18(4):234-8. 2004.
78. Dağlı AŞ. Distortion product otoakustik emisyonlar (Uyarı/cevap eğrileri). K.B.B. BBC Derg, 4 : 2-140-2. 1996.
79. Martin GK, Probst R, Lonsbury-Martin BL. Otoacoustic emissions in human ears: Normativ Findings. Ear Hear. 11: 106-20. 1990.
80. Lonsbory-Martin BL, Harris FB, Stagner BB, Distortion product otoacoustic emissions in human. II. relations to acoustic immittance and stimulus frequency and spontaneous emissionss in normally hearing subjects, Ann Otol Rhinol Laryngol., 147:15–29, 1990.
81. Korres GS, Balatsouras DG, Tzagaroulakis A, Distortion product otoacoustic emissions in an industrial setting. Noise Health 11(43):103-10. 2009.
82. Bonfils P, Avan P, Francois M, Trotoux J, Narcy P. Distortion-product otoacoustic emissions in neonates: normative data. Acta Otolaryngol. 112(5):739-44. 1992.

83. Erdoğan A.A, Gürültüye Bağlı İşitme Kayıpları, Temel Odyoloji, (Belgin E, ed), Ankara, Güneş Kitapevi, 383-404, 2015.
84. Şenkal Ö.A. Derecesine ve Lokalizasyonuna Göre İşitme Kayıpları. Temel Odyoloji (Belgin E, ed). Ankara, Güneş Kitapevi. 301-322, 2015.
85. Kopke RD, Hoffer ME, Wester D, O'Leary MJ, Jackson RL. Target topical steroid therapy in sudden sensorineural hearing loss. *Otology & neurotology*; 22(4):475-479, 2001.
86. Senneroğlu L, Dini FM, Sennaroğlu G, Transtympanic dexamethasone application in Meniere's disease: an alternative treatment for intractable vertigo, *J Laryngol Otol*, 113(3): 217-221, 1999.
87. Senneroğlu L, Ozkul A, Gedikoglu G, Effect of intratympanic steroid application on the development of experimental cholesteotoma, *Laryngoscope*, 108:543-547, 1998.
88. Davis RR, Kozel P, Erway LC. Genetic influences in individual susceptibility to noise: a review, *Noise Health*, 5: 19-28. 2003.
89. Ward WD. General auditory effects of noise. *Otolaryngol Clin North Am*. 12: 473-92. 1979.
90. Sato H, Takahashi H, Honjo I. Transtympanic iontophoresis of dexamethasone and fosfomycin. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 114(5):531-533, 1988.
91. Müderris S, ÖztürkcanS, Aykur M. Ani İşitme Kayıplarında Etiyoloji ve Tedavi. *KBB Postası*; 1(6): 7-10, 1992.
92. Wilson WR, Byl FM, Laird N. The efficacy of steroids in the treatment of idiopathic sudden hearing loss, A double-blind clinical study, *Arch Otolaryngol*, 106(12):772-776, 1980.
93. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Baltimore, Maryland. Lippincott Williams & Wilkins. 1996.
94. McCabe BF, Autoimmune inner ear disease: therapy, *Am J Otol*. 10:196- 197. 1989.
95. Barrs DM. Intratympanic corticosteroids Meniere's disease and vertigo. *Otolaryngol Clin N Am.*, 37: 955- 972, 2004.
96. Niedermeyer HP, Zahneisen G, Lupp P, Busch R, Arnold W. Cortisol levels in the human perilymph after intravenous administration of prednisolone, *Audiol Neurotol*, 8:316 -21, 2003.

97. Rarey KE, Luttge WG. Presence of type I and type II/I receptors for adrenocorticosteroid hormones in the inner ear. *Hear Res* ;41:217–221. 1989.
98. Stokroos RJ, Albers FW, Schirm J. The etiology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. Experimental herpes simplex virus infection of the inner ear. *Am J Otol* 19: 447–452. 1998.
99. Nagura M, Iwasaki S, Wu R, Mizuta K, Umemura K, Hoshino T. Effects of corticosteroid, contrast medium and ATP on focal microcirculatory disorders of the cochlea. *Eur J Pharmacol* 366:47–53. 1999.
100. Tabuchi K, Oikawa K, Uemaetomari I, Tsuji S, Wada T, Hara A. Glucocorticoids and dehydroepiandrosterone sulfate ameliorate ischemia-induced injury of the cochlea. *Hear Res* 180:51–56. 2003.
101. Lamm K, Arnold W. The effect of prednisolone and nonsteroidal anti-inflammatory agents on the normal and noisedamaged guinea pig inner ear. *Hear Res* 115:149–161. 1998.
102. Parnes LS, Sun AH, Freeman DJ. Corticosteroid pharmacokinetics in the inner ear fluids: an animal study followed by clinical application. *Laryngoscope*, 109(7 Pt 2):1-17, 1999.
103. Tabuchi K, Oikawa K, Uemaetomari I, Glucocorticoids and dehydroepiandrosterone sulfate ameliorate ischemia induced injury of the cochlea. *Hear Res.*, 180(1-2):51-6, 2003.
104. Haynes DS, O'Malley M, Cohen S, Watford K, Labadie RF. Intratympanic dexamethasone for sudden sensorineural hearing loss after failure of systemic therapy. *Laryngoscope*. 117(1):3-15. 2007.
105. Westerlaken BO, de Kleine E, van der Laan B, Albers F. The treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss using pulse therapy: a prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Laryngoscope*. 117(4):684-90. 2007.
106. Hougardy DMC, Peterson GM, Bleasel MD, Randall CTC. Is enough attention being given to the adverse effects of corticosteroid therapy, *J. Clin Pharm Ther* 25:227-234. 2000.
107. Slattery WH, Fisher LM, Iqbal Z, Liu N. Oral steroid regimens for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 132(1):5-10, 2005.
108. Conlin AE, Parnes LS. Treatment of sudden sensorineural hearing loss: I. A systematic review. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 133(6):573-81. 2007.
109. Doyle KJ, Bauch C, Battista R, Intratympanic steroid treatment: a review. *Otol Neurotol* 25:1034-9. 2004.

110. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. 7th ed. Norwalk, CT:Appleton & Lange, 1998.
111. Czock D, Keller F, Rasche F.M, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of systemically administered glucocorticoids, Clin Pharmacokinet, 44 (1): 61-98, 2005.
112. Gencer S., Fakoemülsifikasyon cerrahisinde serbest radikal hasarına karşı intraoperatif askorbik asit kullanımı, Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2004.
113. Güzelhan, Y., Şizofrenide serbest radikaller, Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, 10, 2, 90-96, 2000.
114. Vinayaka, K.S., Free radical scavenging and insecticidal activity of Elaeagnus kologa Schldl., Drug Invention, 1(1), 74-77, 2009.
115. Rathod, N.R, Free radical scavenging activity of Calotropis gigantea on streptozotocin-induced diabetic rats, Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 71(6), 615-621, 2009.
116. Karaca, Ş., Güder, H., Dermatolojide Antioksidan Sistem, Turkish Journal of Dermatology, 3, 32-39, 2009.
117. Sivritepe, N., Asma, üzüm ve şaraptaki antioksidantlar. Gıda. Dünya Yayınları. 12, 73-78. 2000.
118. Berköz, M. ve ark., Akut lösemilerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesi, Erciyes Tıp Dergisi, 30(3), 157-162, 2008.
119. McElroy J.S., Kopsell D.A., Physiological role of carotenoids and other antioxidants in plants and application to turfgrass stress management, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 37, 327-333, 2009.
120. Sivritepe N., Doğada oksidatif stres; asma, üzüm ve şarapta antioksidantlar. Anadolu, J. of AARI, 11(2) 180-135, 2001.
121. Nizamlıoğlu N.M, Nas S., Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 20-35, 2010.
122. Kar P, Laight D, Shaw KM, Cummings MH, Flavonoid-rich grapeseed extracts: a new approach in high cardiovascular risk patients?, Int J Clin Pract 60(11): 1484–92, 2006.
123. Dogan A, Celik I, Hepatoprotective and antioxidant activities of grapeseeds against ethanol-induced oxidative stress in rats, Brit J Nutr, 107(1):45-51, 2012.

124. Wang CZ, Mehendale SR, Yuan CS, Commonly used antioxidant botanicals: Active constituents and their potential role in cardiovascular illness, *Am J Chinese Med.*, 35(4): 543–58, 2007.
125. Rapport L, Lockwood B. Proanthocyanidins and grape seed extract. *Pharm J.*, 266:581-4, 2001.
126. Kovac V, Alonso E, Revilla E. The effect of adding supplementary quantities of seeds during fermentation on the phenolic composition of wines. *Am J Enol Vitic.*, 46:363-7, 1995.
127. Akin A, Altındışli A, Büyükhelvacıgil M, Evaluation of fatty acid content, total fat and total phenolic compounds in the seed of native grape varieties (*Vitis vinifera* L.) grown in Konya province, Turkey. 32. World Congress of Vine and Wine and the 7th General Assembly of The O.I.V., Zagreb, Croatia. 2009.
128. Bail S, Stuebiger G, Krist S, Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol, composition, total phenols and antioxidant capacity, *Food Chem.*, 108, 1122-1132, 2008.
129. Maier T, Schieber A, Kammerer D.R, Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants, *Food Chem.*, 112, 551-559, 2009.
130. Baydar N.G, Akkurt M, Oil content and oil quality properties of some grape seeds, *Turk J. Agric. For.*, 25, 163-168, 2001.
131. Faydaoğlu E, Sürücüoğlu M.S, Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları, *EÜFBED*, 6(2), 233-265, 2013.
132. Önenç S.S, ve Açıkgöz Z, Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri, *Hayvansal Üretim*, 46(1), 50-55, 2005.
133. Özgan A, Fonksiyonel yumurta eldesinde üzüm çekirdeği yağının kullanım olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2008.
134. Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB, Biological activities of polyphenols from grapes, *Int J Mol Sci*, 11: 622-46, 2010.
135. Ahn SH, Kim HJ, Jeong I Hong YJ, Kim M-J, Rhie D-J, Grape seed proanthocyanidin extract inhibits glutamate-induced cell death through inhibition of calcium signals and nitric oxide formation in cultured rat hippocampal neurons, *BMC Neurosci* 12(78): 1-12, 2011.
136. Zhao G, Gao H, Qiu J, Lu W, Wei X, The molecular mechanism of protective effects of grape seed proanthocyanidin extract on reperfusion arrhythmias in rats in vivo, *Biol Pharm Bull* 33(5): 759-67, 2010.

137. Prasain JK, Carlson SH, Wyss JM, Flavonoids and age related disease: Risk, benefits and critical Windows, *Maturitas* 66(2): 163–171, 2010.
138. Kaur M, Velmurugan B, Rajamanickam S, Agarwal R, Agarwal C, Gallic acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharm Res.*, 26(9): 2133–40, 2009.
139. Devi SA, Jolitha AB, Ishii N, Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE) and antioxidant defense in the brain of adult rats, *Med Sci Monitor*, 12(4): 124-29, 2006.
140. Bagchi M, Milnes M, Williams C, Balmoori J, Xumei Y, Stohs S, Bagchi D, Acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal injury in rats, and the protective ability of a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Nutr Res* 19(8): 1189-99, 1999.
141. Aldinia G, Carinia M, Piccolia A, Procyanidins from grape seeds protect endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelium-dependent relaxation in human artery: new evidences for cardioprotection, *Life Sci.*, 73: 2883–98, 2003.
142. Balu M, Sangeetha P, Haripriya D, Panneerselvam C, Rejuvenation of antioxidant system in central nervous system of aged rats by grape seed extract. *Neurosci Lett* 383: 295–300, 2005.
143. Yamaguchi F, Yoshimura Y, Nakazawa H, Ariga T. Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H₂O₂/NaOH/DMSO system. *J Agr Food Chem* 47: 2544-48, 1999.
144. Brown L, Kroon PA, Das DK, Das S, Tosaki A, Chan V, et al. The biological responses to resveratrol and other polyphenols from alcoholic beverages. *Alcohol Clin Exp Res*, 33(9): 1513–23, 2009.
145. Çetin A., Sağdıç O., Üzümün biyoaktif bileşenleri ve antioksidan etkileriyle ilgili kısa bir derleme, *Erciyes Tıp Dergisi*, 31(4), 369-375, 2009.
146. Uzun C., Koten M., Adalı M.K., Method of measuring transient evoked otoacoustic emissions in guinea pigs. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 7:97-105, 2000.
147. Hatzopoulos S., Stefano M., Albertin A., Martini A., Evaluation of cisplatin ototoxicity in a rat animal model. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 884(1):211-25, 1999.
148. Lonsbury-Martin B.L, Martin G.K., Evoked otoacoustic emissions as objective screeners for ototoxicity. *Semin Hear*, 22:377-92, 2001.

149. Kakigi A, Hirakawa H, Harel N, Mount R, Harrison R. Comparison of distortion-product and transient evoked otoacoustic emissions with ABR threshold shift in chinchillas with ototoxic damage. *Auris Nasus Larynx*, 25(3):223-32, 1998.
150. Nakamura M, Yamasoba T, Kaga K. Changes in Otoacoustic Emissions in Patient with Idiopathic Sudden Deafness, *Audiology*, 36:121-135, 1997.
151. McCoy MJ, Franklin D, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Evoked otoacoustic emissions test-retest reliability. *ASHA* 32: 156, 1990.
152. Owens JJ, McCoy MJ, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Otoacoustic emissions in children with normal ears, middle ear dysfunction and ventilating tubes. *Am J Otol*;14:34-40, 1993.
153. Freitas M, Silva V, Brito G. Distortion-product otoacoustic emissions and auditory brainstem responses sensitivity assessment in cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 75(4):476-84, 2009.
154. Brown AM, McDowell B, Forge A. Acoustic distortion products can be used to monitor the effects of chronic gentamicin treatment. *Hear Res*. 42: 143- 56. 1989.
155. Hatzopoulos S, Di Stefano M, Campbell KC, Cisplatin ototoxicity in the Sprague Dawley rat evaluated by distortion product otoacoustic emissions. *Audiology* 40: 253-64. 2001.
156. Wimmer C, Mees K, Stumpf P. Round window application of D-methionine, sodium thiosulfate, brain-derived neurotrophic factor, and fibroblast growth factor-2 in cisplatin-induced ototoxicity. *Otol Neurotol*,25(1):33-40. 2004.
157. Church M, Blakley B, Burgio D, Gupta A. WR-2721 (Amifostine) ameliorates cisplatin-induced hearing loss but causes neurotoxicity in hamsters: dosedependent effects. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2004;5(3):227-37.
158. Campbell K, Larsen DL, Meech R, Glutathione ester but not glutathione protects against cisplatin-induced ototoxicity in a rat model, *J Am Acad Audiol*, 14(3):124-33, 2003.
159. Whitworth CA, Ramkumar V, Jones B, Protection against cisplatin ototoxicity by adenosine agonists, *Biochem Pharmacol*, 67(9):1801-7, 2004.
160. Bayır Ö. Castellani solüsyonunun kobaylarda ototoksik etkisinin otoakustik emisyon ve beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyelleri ile değerlendirilmesi Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, İzmir, 2010.
161. Duan M, Qiu J, Laurell G, Olofsson A, Counter SA, Borg E. Dose and time-dependent protection of the antioxidant N-L-acetylcysteine against impulse noise trauma. *Hear Res.*, 192(1-2):1-9. 2004.

162. Kuokkanen J, Aarnisolo AA, Ylikoski J, Efficiency of hyperbaric oxygen therapy in experimental acute acoustic trauma from firearms. *Acta Otolaryngol Suppl* 543:132-4. 2000.
163. Abaamrane L, Raffina F, Galb M, Avanc P, Sendowskia I. Long-term administration of magnesium after acoustic trauma caused by gunshot noise in guinea pigs. *Hear Res.* 247 (2):137-45. 2008.
164. Han M.A, Back S.A, Kim H.L, Therapeutic effect of dexamethasone for noise-induced hearing loss: Systemic versus intratympanic injection in mice, *Otology & Neurotology*, 36:755-762, 2015.
165. Chen L, Dean C, Gandolfi M, Dexamethasone's effect in the retrocochlear auditory centers of a noise-induced hearing loss mouse model, *Otolaryngology–Head and Neck Surger*, 151(4): 667–674, 2014.
166. Ozdogan F, Ensari S, Cakir O, Investigation of the cochlear effects of intratympanic steroids administered following acoustic trauma, *Laryngoscope*, 122:877–882, 2012.
167. Bas E, Soriano F.M, Láinez J.M, An experimental comparative study of dexamethasone, melatonin and tacrolimus in noise-induced hearing loss, *Acta Oto-Laryngologica*, 129: 385-389, 2009.
168. Erdoğan O, Akustik travmada kafeik asit fenil esteri tedavisinin işitme kaybı üzerine etkisi, Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Isparta, 2010.
169. Özdemir E, Akustik travmaya bağlı işitme kaybında transtimpanik steroid tedavi etkinliğinin araştırılması, Uzmanlık tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, 2009.
170. Miller J. M, Yamashita D, Minami S, Yamasoba T, Le Prell C. G, Mechanisms and prevention of noise-induced hearing loss, *Otol. Jpn.*, 16:139–153, 2006.
171. Sugahara K, Shimogori H, Yamashita H, The role of acidic fibroblast growth factor in recovery of acoustic trauma, *NeuroReport*, 12:3299–3302, 2001.
172. Ylikoski J, Pirvola U, Virkkala J, Suvanto P, Liang X. Q, Magal E, Altschuler R, Miller J. M, Saarma M, Guinea pig auditory neurons are protected by glial cell line-derived growth factor from degeneration after noise trauma, *Hear. Res.*, 124:17–26, 1998.
173. Yamasoba T, Schacht J, Shoji F, Miller J. M, Attenuation of cochlear damage from noise trauma by an iron chelator, a free radical scavenger and glial cell line-derived neurotrophic factor in vivo, *Brain Res.*, 815:317–325, 1999.

174. Shoji F, Miller A. L, Mitchell A, Yamasoba T, Altschuler R. A, Miller J. M, Differential protective effects of neurotrophins in the attenuation of noise-induced hair cell loss, *Hear. Res.*, 146:134–142, 2000.
175. Takemura K, Komeda M, Yagi M, Himeno C, Izumikawa M, Doi T, Kuriyama H, Miller J. M, Yamashita T, Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig, *Hear. Res.*, 196:58–68, 2004.
176. Lamm K; Arnold W, The effect of prednisolone and non-steroidal antiinflammatory agents on the normal and noise-damaged guinea pig inner ear, *Hear. Res.*, 115:149–161, 1998.
177. Minami S. B, Yamashita D, Schacht J, Miller J. M, Calcineurin activation contributes to noise-induced hearing loss, *J. Neurosci. Res.*, 78:383–392, 2004.
178. Uemaetomari I, Tabuchi K, Hoshino T, Protective effect of calcineurin inhibitors on acoustic injury of the cochlea, *Hear. Res.*, 209:86–90, 2005.
179. Okuda T, Sugahara K, Takemoto T, Inhibition of caspases alleviates gentamicin-induced cochlear damage in guinea pigs, *Auris Nasus Larynx*, 32:33–37, 2005.
180. Nakagawa T, Kim T. S, Murai N, novel technique for inducing local inner ear damage, *Hear. Res.*, 176:122–127, 2003.
181. Cheng A. G, Huang T, Stracher A, Calpain inhibitors protect auditory sensory cells from hypoxia and neurotrophin-withdrawal induced apoptosis, *Brain Res.*, 850:234–243, 1999.
182. Wei X, Zhao L, Liu J, Minocycline prevents gentamicin-induced ototoxicity by inhibiting p38 map kinase phosphorylation and caspase 3 activation, *Neuroscience*, 131:513–521, 2005.
183. Corbaccia E, Lanzoni I, Ding D, Minocycline attenuates gentamicin induced hair cell loss in neonatal cochlear cultures, *Hear. Res.*, 197:11–18, 2004.
184. Zhang M, Liu W, Ding D, Salvi R, Pifithrin-alpha suppresses p53 and protects cochlear and vestibular hair cells from cisplatin-induced apoptosis, *Neuroscience*, 120:191–205, 2003.
185. Harris K. C, Hu B, Hangauer D, Henderson D, Prevention of noise-induced hearing loss with Src-PTK inhibitors, *Hear. Res.*, 208:14–25, 2005.
186. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Iguchi H, Nakagawa T, Kojima A, Appearance of free radicals in the guinea pig inner ear after noise-induced acoustic trauma, *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 252:504–508;1995.
187. Ohlemiller K K, Wright J. S, Dugan L. L, Early elevation of cochlear reactive oxygen species following noise exposure, *Audiol. Neurotol.*, 4:229–236, 1999.

188. Ohinata Y, Miller J. M, Altschuler R. A, Schacht J, Intense noise induces formation of vasoactive lipid peroxidation products in the cochlea, *Brain Res.*, 878:163–173, 2000.
189. Henderson D, Bielefeld E. C, Harris K. C, Hu B. H, The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear*, 27:1–19, 2006.
190. Nicotera T. M, Henderson, D, Zheng X. Y, Ding D. L, McFadden S. L, Reactive oxygen species, apoptosis, and necrosis in noise-exposed cochleas of chinchillas, *Abstr. Assoc. Res. Otolaryngol.*, 22:159, 1999.
191. Yamashita D, Jiang H, Schacht J, Miller J. M, Delayed production of free radicals following noise exposure, *Brain Res.*, 1019:201–209, 2004.
192. Bohne B. A, Harding G. W, Nordmann A. S, Tseng C. J, Liang G. E, Bahadori R. S, Survival-fixation of the cochlea: a technique for following time-dependent degeneration and repair in noise-exposed chinchillas, *Hear. Res.*, 134:163–178, 1999.
193. Del Maestro R, Free radicals as mediators of tissue injury, Trace elements, micronutrients and free radicals, (Dreosti IE, ed), New Jersey, Humano Press, 25-51, 1991.
194. Dreosti I.E. Trace elements, micronutrients and free radicals. Humana Press Inc. New York 149-170. 1991.
195. Quirk W. S, Seidman M. D, Cochlear vascular changes in response to loud noise, *Am. J. Otol.*, 16:322–325, 1995.
196. Lipscomb, D. M.; Roettger, R. L. Capillary constriction in cochlear and vestibular tissues during intense noise stimulation. *Laryngoscope* 83:259–263; 1973.
197. Perlman, H. B.; Kimura, R. Cochlear blood flow and acoustic trauma. *Acta Otolaryngol. (Stockh.)* 54:99–119; 1962.
198. Miller JM, Ren TY, Dengerink HA, Cochlear blood flow changes with short sound stimulation. Scientific basis of noise-induced hearing loss, (Axelsson A, Borchgrevink H.M, Hamernik R.P, Hellstrom P.A, Henderson D, Salvi R.J, eds.), New York, Thieme Medical 95–109. 1996.
199. Thorne P. R, Nuttall A. L, Laser doppler measurements of cochlear blood flow during loud sound exposure in the guinea pig, *Hear. Res.*, 27:1–10, 1987.
200. Filiz A, Amikasin ototoksisitesinde betaglukan' ın koruyucu etkisinin deney hayvanlarında otoakustik emisyon ile değerlendirilmesi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Malatya, 2011.

201. Akyürek F, Deneysel hayvan modelinde gentamisine bağlı gelişen kokletoksik etkiyi önlemede ginkgo biloba ve betahistin dihidroklorür'ün rolünün otoakustik emisyonla araştırılması, Uzmanlık tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Bolu, 2009.
202. Kalcıoğlu MT, Kızılay A, Gulec M, Karatas E, Iraz M, Akyol O, Egri M, Ozturan O, protective effect of erdosteine against ototoxicity induced by cisplatin in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 262:856-863, 2005.
203. Avcı D, Ratlarda intraperitoneal yolla uygulanan resveratrol'ün amikasin ototoksitesisi üzerine etkisinin otoakustik emisyonlar ve histopatolojik çalışmalarla değerlendirilmesi, Uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, 2015.
204. Arıcı M, Sıçanlarda akustik travmaya bağlı işitme kaybı modelinde likopenin etkisinin araştırılması, Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, İzmir, 2015.
205. Yang W, Hu B, Chen G, L-NAC protect hair cells in the rat cochlea from injury of exposure to styrene, *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.*, 25(4):176-9, 2011.
206. Ewert D.L, Lu J, Li W, Antioxidant treatment reduces blast-induced cochlear damage and hearing loss, *Hearing Research*, 285, 29-39, 2012.
207. Kalkanis JG, Whitworth C, Rybak LP. Vitamin E reduced cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope*; 114(3):538-542, 2004.
208. Adams AK, Wermuth WO, McBride PE: Antioxidant vitamins and the prevention of coronary heart disease. *Am Fam Phys*, 60: 895–904, 1999.
209. Jamroz A, Beltowski J, Antioxidant capacity of selected wines, *Med Sci Monit*, 7(6): 1198–202, 2001.
210. Duthie GG, Bellizzi MC: Effects of antioxidants on vascular health. *Br Med Bull*, 55: 568–77, 1999.
211. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G, The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Rad Biol Med*, 13: 341–90, 1992.
212. Ritcher AR, Schreoter H, Rore H et al: Uptake and metabolism of epicatechin and its access to brain after oral ingestion. *Free Rad Biol Med*, 33(12): 1693–702, 2002.
213. Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro, *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.*, 95(2):179-89, 1997.

214. Bagchi D, Ray SD, Patel D, Bagchi M, Protection against drug- and chemical-induced multiorgan toxicity by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract, *Drugs Exp Clin Res.*, 27(1):3-15, 2001.
215. Çakır T, Aslaner A, Tekeli S.Ö, Grape seed protects cholestatic rats liver from ischemia/reperfusion injury, *Acta Cirúrgica Brasileira*, Vol. 31 (3) 183– 189, 2016.
216. Devi S.A, Jolitha A.B, Ishii N, Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) and antioxidant defense in the brain of adult rats, *Med Sci Monit*, 12(4):124-129, 2006.
217. Saada H.N, Said U.Z, Meky N.H, Grape seed extract vitis vinifera protects against radiation-induced oxidative damage and metabolic disorders in rats, *Phytother. Res.*, 23, 434–438, 2009.
218. Bagchi D, Bagchi M, Stohs S.J, Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 957: 260–270, 2002.
219. Takemura K, Komeda M, Yagi M, Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res.* 196: 58–68. 2004.
220. Tabuchi K, Murashita H, Sakai S, Therapeutic time window of methylprednisolone in acoustic injury. *Otology& Neurotology.* 27:1176- 1179. 2006.
221. Lamm K, Arnold W, Successful treatment of noise-induced cochlear ischemia, hypoxia, and hearing loss. *Ann N Y Acad Sci.* 884:233- 48. 1999.
222. Borski RJ, Nongenomic membrane actions of glucocorticoids in vertebrates. *Trends Endocrinol Metab.* 11:427- 36. 2000.
223. Dinh CT, S. Haake, S. Chen, K. Hoang, E. Nong, A. A. Eshraghi, T. J. Balkany. Dexamethasone protects organ of corti explants against tumor necrosis factor- α -induced loss of auditory hair cells and alters the expression levels of apoptosis-related genes. *Neuroscience.* 157(2):405–13. 2008.
224. Udo, KM, Pereda-Fernandez, C, Manderscheid, M, Pfeilschifter, J. Dexamethasone inhibits TNF- α -induced apoptosis and IAP protein down regulation in MCF-7 cells. *Br J Pharmacol.* 133(4):467–76. 2001.
225. Uysal G, Ratlarda akustik travma sonrası intratimpanik retinoik asit uygulamasının elektrofizyolojik etkilerinin araştırılması, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Ankara, 2015.