

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**PRENATAL DÖNEMDE EKZOJEN STEROİD VERİLMESİNİN
İŞİTSEL SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ, DENEYSEL BİR
HAYVAN ÇALIŞMASI**

UZMANLIK TEZİ

Öner SAKALLIOĞLU

DANIŞMAN

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Bu çalışma Fırat üniversitesi Bilimsel Araştırmaları Yönetim Birimi tarafından 1025 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Elazığ-2005

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Özge ARDIÇOĞLU

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. İrfan KAYGUSUZ

Kulak Burun Boğaz **Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Doç. Dr. Üzeyir GÖK

Doç. Dr. İrfan KAYGUSUZ

Yard. Doç. Dr. Erol KELEŞ

Yard. Doç. Dr. Nurullah BÜLBÜLLER

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca benim cerrahi ve medikal bir anlayış ve disiplin kazanmamı sağlayan, her konuda yol gösterici olan ve birikimlerini benden esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Şinasi YALÇIN, Doç. Dr. Üzeyir GÖK, Doç. Dr. İrfan KAYGUSUZ, Yard. Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ ve Yard. Doç. Dr. Erol KELEŞ'e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Mesleki ve özel yaşamımda bana her zaman öğretici, sevkedici, cesaretlendirici ve örnek olan değerli ağabeyim Uzm. Dr. Hayrettin Cengiz ALPAY'a teşekkür ederim.

İhtisas sürem içinde kendileriyle çalışma olanağı bulduğum, bir çok şey paylaşıp birlikte hep güzel şeyler yapmaya uğraştığım, benden güler yüz ve iyiliklerini esirgemeyen uzman ve asistan doktorlara, hemşirelere, sekreterlere ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimin histopatolojik incelemelerini titiz ve özenli bir şekilde gerçekleştiren Histoloji bölümünden Yard. Doç. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU'na, tezimin şekillenmesinde yol gösterici olan Farmakoloji bölümünden Yard. Doç. Dr. Engin ŞAHNA'ya ve çalışmamın elektron mikroskopik inceleme kısmını bilimsellik ciddiyeti içinde ve yoğun gayretlerle gerçekleştiren Hacettepe Üniversitesi Histoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Figen KAYMAZ'a teşekkür ederim. Tezimin deneysel çalışma sürecinde bana gönülden yardımcı olan, samimi ve seviyeli bir ortam sağlayan Veysel ÇAK'a teşekkür ederim.

Tezimin yapılması ve ortaya konulmasında bana her konuda anlayış ve sabır gösteren tez hocam Prof. Dr. Şinasi YALÇIN'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden destek, anlayış, ilgi ve fedakarlıklarını esirgemeyen sevgili eşim Evren'e, Neşe ablama ve aileme sonsuz minnettarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1 İşitme Sistemi	4
3.1.1. Kulak	5
3.1.1.a. Dış Kulak	5
3.1.1.b. Kulak Zarı	5
3.1.1.c. Orta Kulak	6
3.1.1.d. İç Kulak	7
3.1.1.e. Afferent İşitme Yolları	11
3.1.1.f. Efferent İşitme Yolları	13
3.2. Rat Kulak Morfolojisi	14
3.3. Gürültünün Kohlea Üzerine Etkileri	15
3.4. Steroidlerin Nöral Yapılar Üzerine Etkileri	17
3.5. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)	18
3.5.1. SOR ile Mücadele Aşamaları	19
3.5.1.a. Doğal Antioksidanlar	20
3.5.1.b. İlaçlar	20
3.6. Apoptozis	20
3.6.1 Apoptoziste Oksidatif Stres Hasarının Rolü	21
3.6.2 İskemi-Hipoksi ve Gürültünün İndüklediği Apoptozis	21
3.7. İşitsel Uyarılmış Potansiyeller	22
3.7.1. Beyinsapı Uyarılmış Cevap Odyometri	23
3.7.1.a. BERA Temel Sistemi	24
3.7.1.b. BERA Karakteristikleri	24
3.7.1.c. BERA'nın Klinik Uygulamaları	26
3.8. Deksametazon	27
3.9. Tedavi Gruplarına Uygulanan Ajanlar	28
3.9.1. Aminoguanidin	28
3.9.2. Caffeic Acide Phenethyl Ester (CAPE)	29
3.9.3. EGb-761	29

4. GEREÇ VE YÖNTEM	31
4.1. Denekler	31
4.2. Esas Deneklerin Elde Edilmesi	31
4.3. Deneklerin Gruplara Ayrılması	32
4.4. Deneklere Gürültü Uygulanması	33
4.5. Deneklere Antioksidan Ajanların Uygulanma Biçimi	34
4.6. Deneklerin İşitme Eşiklerinin BERA Testi İle Tespiti	35
4.7. Histopatolojik Değerlendirme	37
4.7.1. Işık Mikroskopisi İncelemesi İçin Doku Preparasyonu	38
4.7.2. Elektron Mikroskopisi İncelemesi İçin Doku Preparasyonu	39
4.7.3. İmmunohistokimya	39
4.8. İstatistiksel Analiz	39
5. BULGULAR	41
5.1. BERA Testi Sonuçları	41
5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	44
5.3. Elektron Mikroskopisi Bulguları	54
6. TARTIŞMA	62
7. KAYNAKLAR	70
8. ÖZGEÇMİŞ	87

TABLO LİSTESİ

		SAYFA
Tablo 1	İşitsel Uyarılmış Potansiyellerin Sınıflandırılması	22
Tablo 2	Çalışmada Kullanılan Uyarının Özellikleri	36
Tablo 3	Çalışmada Kullanılan Kayıt Parametreleri	37
Tablo 4	Gürültü Uygulamasından 48 Saat Sonraki BERA Eşikleri	42
Tablo 5	Gürültü Uygulamasından 2 Ay Sonraki BERA Eşikleri	42

ŞEKİL LİSTESİ

		SAYFA
Şekil 1	Dış ve Orta Kulak	7
Şekil 2	İç Kulak Yapıları	10
Şekil 3	Afferent İşitme Yolları	13
Şekil 4	Rat Orta Kulağı	14
Şekil 5	İşitsel Beyinsapı Potansiyellerinin Sinirsel Kökenleri	25
Şekil 6	Deneklerin Bakımının Yapıldığı Kafes	31
Şekil 7	Denekler Gürültünün Uygulandığı Ses İzolasyonlu Kafes	33
Şekil 8	Gürültü Seviyesi Ölçüm Cihazı	34
Şekil 9	Bir Deneğe IP Yoldan İlaç Verilişi	35
Şekil 10	Bir Deneğe BERA Testi Uygulanırken	36
Şekil 11	Normal Bir BERA Trasesi	37
Şekil 12	Rat Timpanik Bullası ve Kokleası	38
Şekil 13	Gürültü Uygulamasından Önceki, 48 Saat Sonraki ve 2 Ay Sonraki İşitme Eşiği Değerlerinin Grafiksel Dökümü	43
Şekil 14	Korti Organında Kaspaz İmmun Reaktivitesinin Olmaması	44
Şekil 15	Spiral Ganglion Hücrelerindeki İmmun Reaktivite	45
Şekil 16	Stria Vasküleristeki (++) Kaspaz İfadesi	45
Şekil 17	Spiral Ganglion Hücrelerinde (+) Reaktivite	46
Şekil 18	Korti Organında Kaspaz Negatiflik	47
Şekil 19	Spiral Ganglion Hücrelerindeki (+) Kaspaz İfadesi	47
Şekil 20	Korti Organındaki (+) Kaspaz İmmun Reaktivitesi	48
Şekil 21	Stria Vasküleristeki (+++), Korti Organındaki (+) Kaspaz İfadesi	49
Şekil 22	Spiral Ganglion Hücrelerinde Hem Sitoplazmik Hemde Nüklear (+++) Kaspaz İmmun Reaktivitesi	49
Şekil 23	Spiral Ganglion Hücrelerindeki (+) İmmun Reaktivite	50
Şekil 24	Stria Vasküleristeki (+) Kaspaz Reaksiyonu	51
Şekil 25	Spiral Ganglion Hücrelerinde (+) Şiddetinde Kaspaz İfadesi	52

Şekil 26	Spiral Ganglion Hücrelerindeki Kaspaz İmmun Reaksiyonu	53
Şekil 27	Saçlı Hücreler Arasındaki Bağlantı Birimlerinin Kopması ve Sitoplazma Organellerinde Bir Miktar Dejenerasyon	54
Şekil 28	Destek Hücreler ile Saçlı Hücreler Arasındaki Bağlantılarda Bir Miktar Ayrılma	55
Şekil 29	Saçlı Hücrelerin Kendi Aralarındaki Bağlantılarda Olduğu Gibi Destek Hücreler Arasındaki Bağlantılarda Kopukluk Ve Destek Hücrelerde Yoğun Sitoliz	56
Şekil 30	Saçlı Hücrelerin Biribiri ve Destek Hücreleri Arasındaki Normal Bağlantı Kompleksleri	57
Şekil 31	Destek Hücrelerinin Saçlı Hücrelerle Bağlantı ve İlişkinin Kopması ve Destek Hücrelerin Sitoplazmasında Organellerin Tümüyle Lizise Uğraması	58
Şekil 32	Saçlı Hücreler Arasındaki Bağlantı Komplekslerindeki Devamlılık	59
Şekil 33	Saçlı Hücreler Arası Bağlantılarda Kopma	60
Şekil 34	Saçlı Hücreler ile Destek Hücreler Arasındaki Bağlantı Komplekslerinde Ayrılma ve Destek Hücrelerde Dejenerasyon	61

KISALTMALAR LİSTESİ

- ACP: Apikal Kutikuler Plak (Apical Cuticular Plate)
AEP: İşitsel Uyarılmış Potansiyeller (Auditory Evoked Audiometry)
BAP: Bileşik Aksiyon Poyansiyelleri
BERA: Beyinsapı Uyarılmış Cevap Odyometrisi (Brainstem Evoked Response Audiometry)
CAPE: Kafeik Asit Feniletıl Ester (Caffeic Acide Phenethyl Ester)
dB: DeciBell
DKY: Dış Kulak Yolu
EcochG: Elektrokokleografi
GBİK: Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı
GBÖ: Gingko Biloba Özleri
GÖ: Gürültü Uygulanmadan Önceki BERA Eşikleri
GS-1: Gürültü Uygulanmasından 48 Saat Sonraki BERA Eşikleri
GS-2: Gürültü Uygulanmasından 2 Ay Sonraki BERA Eşikleri
HNE: 4-Hidroksinonenal
IM: İntramüsküler
IP: İntraperitoneal
IPL: Interpik Latans
I/R: İskemi/Reperfüzyon
KAP: Koklear Aksiyon Potansiyeli
KM: Koklear Mikrofonik
KN: Koklear Nükleus
KZ: Kulak Zarı
MDA: Malondialdehit
NF-kB: Nükleer Faktör-kB
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik Oksit Sentetaz
PBS: Fosfat Tamponlu Salin (Phosphate Buffered Saline)
SOD-PEG: Süperoksit Dismutaz-Polietilen Glikol
SOR: Serbest Oksijen Radikalleri

1. ÖZET

Bu çalışmanın amacı prenatal dönemde ekzojen deksametazona maruz kalınmasının, işitsel sistemi hassas hale getirip getirmediğini irdelemek ve tedavi amaçlı verilen antioksidan ajanların oluşacak olası hasarı önlemede faydaları olup olmadığını elektrofizyolojik ve mikroskopik yöntemlerle araştırmaktır.

12 adet Sprague-Dawley cinsi dişi rat hamile bırakıldıktan sonra yarısına hamileliklerinin üçüncü trimestrlarında deksametazon diğer yarısına da distile su verildi. Yavru ratların doğmasıyla esas denekler elde edildi ve tümü iki aylıkken dört saat boyunca 110 dB gürültüye maruz bırakıldı. Bu denekler ekzojen deksametazona maruz kalma ve antioksidan ajan verilme durumuna göre sekiz gruba ayrıldı. Grup 1: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su enjekte edilen grup. Grup 2: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su ve kendisine 200 mg/kg aminoguanidin enjekte edilen grup. Grup 3: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su ve kendisine 30 µmol/kg CAPE enjekte edilen grup. Grup 4: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su ve kendisine 100 mg/kg EGb-761 enjekte edilen grup. Grup 5: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon enjekte edilen grup. Grup 6: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon ve kendisine 200 mg/kg aminoguanidin enjekte edilen grup. Grup 7: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon ve kendisine 30 µmol/kg CAPE enjekte edilen grup. Grup 8: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon ve kendisine 100 mg/kg EGb-761 enjekte edilen grup.

Gürültü uygulanmadan bir hafta önce, gürültüye maruziyetten 48 saat ve iki ay sonrasında BERA ile işitme eşikleri saptandı. Bir ay sonrasında da immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik inceleme yapılabilmesi için tüm denekler dekapite edildi.

BERA tetkiki sonuçlarına göre gürültü öncesi ekzojen deksametazona maruz kalan ve kalmayan gruplar arasında anlamlı farklılık yok iken, gürültü sonrası yapılan değerlendirmelerde deksametazon verilen deneklerde BERA eşiklerinde saptanan yükselmelerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). İmmunohistokimyasal verilere göre istatistiksel olarak anlamlılık olmamakla birlikte her üç ajanın hassas hale gelmiş işitsel sistem üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği gözlemlendi. Elektron mikroskopik incelemelerde ise ekzojen deksametazon verilmesinin kokleayı gürültü gibi etkenlere karşı hassas hale getirdiği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Aminoguanidin, CAPE, EGb-761, Deksametazon, Prenatal Tedavi

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF EXOGEN STEROIDS ON AUDITORY SYSTEM IN PRENATAL TERM, AN EXPERIMENTAL ANIMAL STUDY

The aim of this study to investigate whether to be exposed to the exogen dexametasone in prenatal term cause the oversensitivity in the auditory system and to examine whether the antioxidant agents prevent the possible damages in inner ear by electrophysiologic and microscopic methods.

After 12 Sprague-Dowley female rats were impregnate, dexametasone was applied to half of the subjects and the distilled water was applied to remnant subjects. The real subjects were obtained with the born of the offsprings and all subjects were exposed to 110 dB noise for four hours on two months old. These subjects were divided into eight groups according to exposing to exogen dexametasone and applying manner of the antioxidant agents. Grup 1: 0.1 mg/kg/day distilled water injected to mothers. Grup 2: 0.1 mg/kg/day distilled water injected to mothers and 200 mg/kg aminoguanidine injected to itself. Grup 3: 0.1 mg/kg/day distilled water injected to mothers and 30 µmol/kg CAPE injected to itself. Grup 4: 0.1 mg/kg/day distilled water injected to mothers and 100 mg/kg EGb-761 injected to itself. Grup 5: 0.1 mg/kg/day dexametasone injected to mothers. Grup 6: 0.1 mg/kg/day dexametasone injected to mothers and 200 mg/kg aminoguanidine injected to itself. Grup 7: 0.1 mg/kg/day dexametasone injected to mothers and 30 µmol/kg CAPE injected to itself. Grup 8: 0.1 mg/kg/day dexametasone injected to mothers and 100 mg/kg EGb-761 injected to itself.

The hearing levels of all subjects were determined one week before noise, 48 hours after noise and two months after noise. After one month, all subjects were decapitated for immunohistochemical and electron microscopic evaluation. While there was no statistical significance between groups which exposed and not exposed to exogen dexametasone before noise application, after noise application the elevation of hearing levels of subjects which exposed to exogen dexametasone was statistically significant ($p < 0.05$). According to immunohistochemical datas, these antioxidant agents affirmative effects on oversensitive auditory system. According to electron microscopic evaluation, exogen dexametasone cause the oversensitivity in cochlea against outer effects like noise.

Key Words: Aminoguanidine, CAPE, EGb-761, Dexametasone, Prenatal Treatment

3. GİRİŞ

Fötal büyüme ve gelişme sırasında vücudun çeşitli dokularının hızlı hücre bölünmesinin farklılaşmaya neden olduğu 'kritik periyot' sözkonusudur. Besinsel ve hormonal çevredeki değişiklikler fötal genomun ifadesinde değişikliğe neden olarak fizyolojik süreçlerde kalıcı etkilere neden olabilirler. Bu olay 'fötal programlanma' olarak bilinir (1). Prenatal çevredeki bu etkiler sonucunda organizmanın gelişimi etkilenmekte ve ileriki yaşamda çeşitli bozukluklara yol açabilmektedir (2). Fötal programlanmanın bir şekilde değişikliğe uğraması immün parametreler, endokrin ve metabolik süreçler üzerinde farklılaşmaya yolaçmakta ve böylece hipertansiyon, diyabet, immüsupresyon ve kalp hastalıkları gibi erişkin yaşamda bazı hastalıklara eğilim artmaktadır (3).

Annenin beslenme durumu, anneye ait hastalıklar, prenatal stres, fötusa dışardan ilaç ve madde verilmesi gibi durumlarda fötal çevre etkilenmekte ve fötal programlanma etkilenebilmektedir. Glukokortikoidler fötal programlanmada ve çeşitli dokuların normal farklılaşmasında çok önemli rolü olan maddelerdir. Bu dokulardan en iyi bilineni akciğerdir. Bu nedenle preterm doğum olasılığı olan hamilelerin fötüslerinde akciğer maturasyonunu indüklemek ya da adrenogenital sendromun tedavisinde glukokortikoidler kullanılmaktadır. Bununla birlikte prenatal dönemde aşırı miktarda glukokortikoidlere maruz kalınması, fötal gelişimi ve maturasyonu olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Örneğin hamile hayvanların endojen veya ekzojen glukokortikoidlere maruziyeti sonucunda düşük doğum ağırlıklı bebek doğabilmekte, bazı organların ve sistemlerin gelişimleri etkilenebilmektedir (4). Bazı deneysel çalışmalarda fötusun yüksek glukokortikoid seviyelerine maruz kalmasının özellikle beyin ve kısmen de olsa hipotalamo-pitüiter-adrenal aksı etkilediği belirlenmiştir (5-7).

Sonuçta meydana gelebilecek nöroendokrin ve davranışsal fonksiyonlardaki değişikliklerden sorumlu tutulabilecek diğer bir olası mekanizmada oksidatif stresin neden olduğu hücresel olaylardır. Oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijen ürünleri sinyal transdüksiyonu, hücre gelişimi ve farklılaşması ve apoptotik hücre ölümünü etkilemektedir (8, 9). Son yapılan çalışmalarda prenatal dönemde fötusun yüksek seviyelerde glukokortikoidlere maruz kalmasının serebellar nöronlarda oksidatif stresi indüklediği ve apoptozise eğilimi arttırdığı gösterilmiştir (10).

Akustik stresin iç kulakta reaktif oksijen ürünlerinin oluşmasını arttırarak hücre ölümüne ve sonuçta sensörinöral işitme kaybına neden olduğunu destekleyen

çalışmalar mevcuttur (11). Gürültünün kokleada meydana getirdiği değişiklikler bir çok deneysel hayvan modellerinde ve epidemiyolojik çalışmalarda ortaya konmuştur. Gürültüye maruz kalma sonrasında koklear damarlarda vazokonstriksiyon meydana gelir ve koklear mikrosirkülasyon azalır (12). Blast travma sonucu oluşan işitme kaybının nedenlerinden biri de artmış serbest oksijen radikal reaksiyonlarıdır. Blast travma sonrası guinea piglerin işitme eşiğinin yükselmesine paralel olarak malondialdehit (MDA) düzeyinin de yükseldiği bildirilmiştir (13).

Günümüzde gürültünün oluşturduğu hasarı önlemede allopürinol, süperoksit dismutaz-polietilen glikol, lazaroid (21-aminosteroid) grubu ilaçlar, vitaminler, vazodilatörler ve ginkgo biloba gibi ajanlar kullanılmaktadır. Pineal bezden sirkadiyen ritimde salgılanan ve bir endojen hormon olan melatoninin direkt antioksidan ve güçlü radikal giderici etkisinin yanısıra bir antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz aktivitesini de artırdığı bilinmektedir (14, 15).

Prenatal dönemde yüksek seviyelerde glukokortikoidlere ve doğduktan sonra erken dönemde akustik travmaya maruz kalınması, iç kulakta reaktif oksijen ürünlerinin oluşmasına neden olabilmekte ve sonuçta kokleada apoptotik saçlı hücre ölümü ve sensörinöral işitme kaybı meydana gelebilmektedir.

Çalışmamızda, prenatal dönemde uygulanan ekzojen steroid tedavilerinin işitsel sistem üzerindeki etkileri ve kokleayı strese karşı hassas hale getirip getirmediği irdelendi. Bu amaçla hamile bırakılan ratlara hamileliklerinin son trimestirlerinde ekzojen olarak sentetik bir steroid olan deksametazon verildi. Doğan yavrularda stres oluşturmak amacıyla ses izolasyonlu bir ortamda gürültü uygulandı. Böylece prenatal dönemde sentetik steroidlere maruz kalınmasının işitsel sistemi hassas hale getirip getirmediği ve olası hasarları irdelendi. Tedavi amacıyla işitsel sistemde meydana gelebilecek hasarı önlemede faydalı olabileceği düşünülen CAPE, aminoguanidin ve EGb-761 gibi antioksidan ajanlar deneklere uygulandı. Çalışmamızda prenatal dönemde uygulanan ekzojen steroid tedavisinin ve sözü edilen üç antioksidan ajanın işitsel sistem üzerindeki etkileri elektrofizyolojik, immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemlerle karşılaştırıldı.

3.1 İşitme Sistemi

İşitme uzayda oluşan ses dalgalarının kulak tarafından toplanması ve beyindeki işitme merkezlerinde karakter ve anlam olarak yorumlanmasına kadar olan karmaşık süreçleri ifade etmekte ve işitme sistemi olarak bilinen geniş bir bölgeyi

ilgilendirmektedir. İşitme ve denge organı olan kulak, kafatasının yan ve alt duvarlarını oluşturan temporal kemik içinde yerleşmiştir.

3.1.1 Kulak

Anatomik ve fizyolojik olarak işitmenin periferik organı olan kulak, yapı ve fonksiyonları bakımından birbirinden farklı üç temel bölümden oluşur:

3.1.1.a Dış Kulak

Dış kulak, aurikula (kulak kepçesi) ve dış kulak yolundan oluşur. Başın her iki yanında bulunan aurikula düzensiz girinti ve çıkıntılardan oluşan, deri ve perikondrium ile kaplanmış, düzensiz elastik fibrokartilajinöz bir yapıdır. Dış ve iç olmak üzere iki yüzü vardır. İç yüz arkaya bakar ve konvektir, dış yüz ise öne bakar ve konkavdır (16). Dış kulak yolunun (DKY) ön kısmında bulunan çıkıntıya 'tragus' denir (17). İşitsel uyarılar için alıcı alanı artırıcı fonksiyonu olan kulak kepçesi, uzaydaki ses dalgalarının uzaklığının ve lokalizasyonunun belirlenmesine katkıda bulunur (18). DKY, kavum konkadan timpanik zara kadar olan bölümdür. Lateralde kartilaj meatus (dış kulak yolunun 1/3 dış kısmı) ve medialde kemik meatustan (dış kulak yolunun 2/3 iç kısmı) ibaret olan S şeklinde rezonatör bir kanaldır. Arka duvarının uzunluğu 25 mm olmasına karşılık, ön alt duvarının uzunluğu 31 mm' dir. Bu fark kulak zarının arkadan öne doğru oblik yerleşmesinden kaynaklanmaktadır. Kulak kepçesi ve DKY' nin sensoriyal inervasyonu V, VII, X kranial sinirler ve 2-3. servikal sinirden olur (19, 20).

3.1.1.b Kulak Zarı

Kulak zarı (KZ), DKY'nin sonunda orta kulak boşluğunu DKY'den ayıran elips şeklinde bir perdedir. Kalınlığı 0.1 mm, uzunluğu 10-11 mm ve genişliği 8-9 mm' dir. KZ, orta kulağın dış duvarının büyük bir kısmını yapar. KZ'nin timpanik kemikte yerleştiği yer olan sulkus timpanikusa 'timpanik halka' denir. Kulak zarı, anulus fibrosus ile timpanik halkaya ve santral bir yapışıklıkla da malleusun kısa koluna ve manibrium malleiye bağlıdır.

KZ, pars tensa ve pars flaksidadan oluşur. Pars tensa KZ'nin timpanik kemik içindeki parçasıdır. KZ'nin büyük bir kısmını oluşturur ve ses dalgaları ile titreşen kısımdır. Pars flaksida (Sharpnell zarı) ise timpanik kemiğin iki uzantısı arasındaki açıklık olan Rivinius çentiğini doldurur. Bu iki parça arasında gerginlik farkından başka histolojik farklarda sözkonusudur. Pars tensadaki fibröz doku, pars flaksidada yoktur. Pars tensa daha zengin bir kapiller ağ ve sinirler bulunur. Dışta skuamöz

epitel, ite mukozal ve ikisi arasında yerleşmiş olan fibröz tabaka olmak üzere üç tabakadan oluşmuştur (21).

3.1.1.c Orta kulak

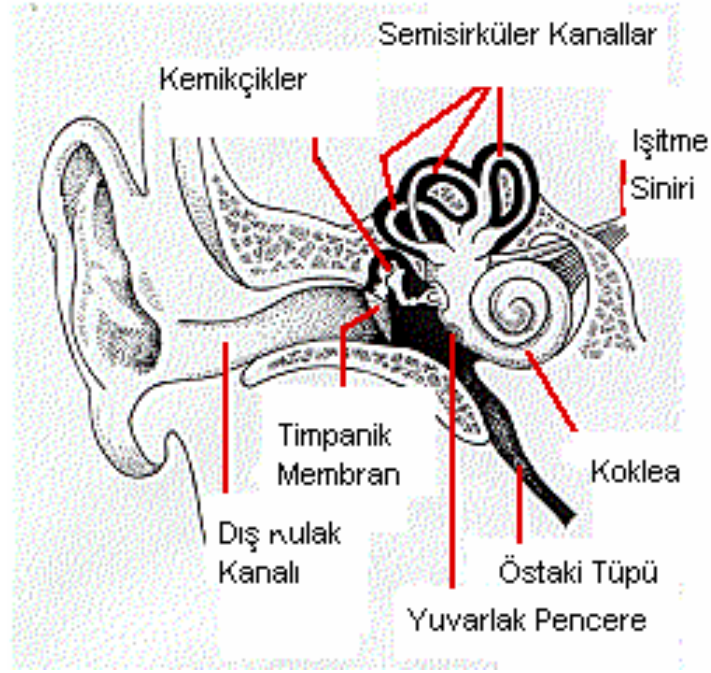
Orta kulak, kulak zarı ile kemik labirent arasında müköz membran ile kaplanmış kemik mesafedir. Vertikal ve ön arka çapı 15 mm'dir ve iç derinliği ise yukarı kısımlarda 6 mm, umbo çevresinde ise 2 mm kadardır. Orta kulak boşluğu içinde dış kulaktan iç kulağa ses dalgalarının iletimini sağlayan malleus, inkus ve stapez denilen üç adet kemikçik vardır. Bu kemikçikler orta kulak boşluğunda kulak zarı ile iç kulağın fonksiyonel girişi olan oval pencere arasında bir köprü oluştururlar. Bu kemikçik sistemi için ek desteği orta kulakta bulunan iki adet küçük kas sağlar. Bunlardan biri olan tensor timpani kası, malleusun manibriumuna yapışırken, stapez kası ise stapezin boynuna yapışır. Bu kaslar kemikçik sisteminin hareketini kısıtlayarak şiddetli seslere karşı iç kulak yapılarının korunmasında da rol oynarlar (22).

Orta kulak boşluğunun altı adet duvarı bulunur. Tavanı tegmen timpani oluşturur ve orta kulak boşluğunu orta kafa çukurundan ayırır. Tabanı ise hipotimpanik resesi meydana getirir ve alt ön kısımda arteria karotis internayla, alt arka kısımda ise juguler bulbusla yakın komşuluktadır (22).

Orta kulak boşluğunun arka duvarı aditus ad antrum vasıtasıyla mastoid antrum ve hava hücreleri ile devamlılık gösterir. Önde orta kulak boşluğu östaki tüpü aracılığıyla nazofarenks ile ilişkilidir. Orta kulak boşluğunun lateral duvarı kulak zarı ile epitimpanik resesin yan duvarı tarafından oluşturulmuştur. Medial duvarın en önemli yapılarından biri kokleanın bazal kıvrımı tarafından oluşturulan promontoryumdur. Orta kulak boşluğunun medial duvarındaki diğer önemli yapılar stapes tabanının oluşturduğu oval pencere ile koklear kapsülün orta kulak boşluğuna diğer açılım yeri olan yuvarlak penceredir (22).

Orta kulağın fonksiyonu timpanik membrana ulaşan ses dalgalarını koklear sıvıları titreştirecek biçime dönüştürmektir. Kokleadaki sıvıları titreştirmek için buraya direkt olarak gelen ses dalgaları çok etkisizdir. Orta kulak, hava ile koklea içi sıvı arasındaki akustik impedans farkını azaltma görevini görür. Bu mekanizmada başlıca kulak zarı ile stapez tabanı arasındaki oran farkı ve orta kulak

kemikçiklerinin manivela fonksiyonu sayesinde başarılıdır (23,24). Şekil 1’de dış ve orta kulak şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Dış ve Orta Kulak

3.1.1.d İç Kulak

İç kulak petröz kemikteki kemik labirent içinde yerleşmiş nöromembranöz bir yapıdır. Anatomik olarak labirent terimi posterosüperior yerleşimli semisirküler kanalları, anteroinferior yerleşimli koklea ve vestibülü ifade etmektedir. Her biri yaklaşık 1 mm çapında olan üç kemik semisirküler kanalı (lateral, süperior, inferior) perilenf denen sıvı doldurur. Vestibül, kokleanın skala vestibülisi ve skala timpanisini de perilenf doldurmaktadır. Skala timpanideki perilenf yuvarlak pencere yakınlarından başlayan akuaduktus koklearis denilen ve çoğunlukla ağısı bir fibröz doku ile dolu olan kanal aracılığıyla subaraknoid boşluktaki serebrospinal sıvı ile ilişkidir (21, 22, 24).

Vestibül yaklaşık olarak dört mm çapında oval şekilli bir kavitedir. Timpanik kavitenin medialinde lokalize olmuştur ve fenestra koklea ile fenestra vestibüli ile ilişkilidir (21, 22).

Otik kapsül içinde iç kulağın esas yapısı olan otik labirenti çevreleyen periotik labirent vardır. Otik labirent, otik sıvı olan endolenf içeren ve birbirleriyle devamlılık halinde olan epitel ile döşeli bir takım tüpler ve boşluklar sisteminden oluşmuştur. Otik labirent ayrı fonksiyonlara sahip birbirleriyle bağlantılı üç parçadan oluşmuştur: süperior parça yada vestibüler labirent, inferior parça yada koklea ve endolenfatik duktus ve endolenfatik kese (21, 22).

Vestibüler otik labirent sakkulus, utrikulus ve semisirküler duktuslardan oluşur (21, 22). Utriküler duktus, utrikulusun ön yüzünden ayrılır ve ön duvarın çevresinde arkaya doğru kıvrılır. Utriküler duktus, sakkulustan gelen benzeri bir kanal (sakkuler duktus) ile birleşerek endolenfatik duktusu oluştururlar. Endolenfatik duktus, vestibüler akuaduktus denilen bir kemik kanal içinde yerleşmiştir. Vestibüler akuaduktusun terminal parçasında endolenfatik genişler ve endolenfatik keseyi oluşturur. Bu da kemik akuaduktusun içinde yerleşmiştir. Endolenfatik duktusun distal eksternal parçası dereceli olarak düz hale gelir ve petröz kemiğin arka yüzünde, sigmoid sinüse çok yakın bir ilişkide durada sonlanır (21, 22).

Sakkulus, utrikulustan daha küçüktür, fakat benzer yapıdadır. Küçük bir duktus, sakkulusun duvarından ayrılarak vestibülün tabanında seyreder ve koklear duktusa girer. Bu, duktus reuniens olarak adlandırılır ve koklea ile labirentin diğer kısımları arasındaki tek bağlantı yeridir (21, 22).

İç kulağın işitme sistemi ile ilgili olan kısmı spiral şekilli, yaklaşık olarak 35 mm uzunluğunda, 5 mm yüksekliğinde, en geniş tabanında 9 mm çapında koni şeklinde, iki tam $\frac{3}{4}$ kıvrım yapmış olan kokleadır. Koklea skala vestibüli, skala media (duktus koklearis) ve skala timpani olarak üç kanala bölünmüştür (21, 22).

Koklea, koklear kıvrımları ayırmaya yarayan modiulus denilen bir yapı ile desteklenir. Sekizinci sinirin işitsel parçasının fibrilleri modiulus içinde ilerler ve kemik spiral lamina içindeki küçük kanallar boyunca ilerleyerek tüylü hücrelerde sonlanırlar. Bu nöronların hücre görevleri spiral lamina tabanında modiulus boyunca gruplanarak spiral ganglionu oluştururlar (21, 22).

Koklear duktus (skala media) üçgen şeklindedir (Şekil 2). Skala media ile skala timpani arasındaki sınırı kemik spiral laminanın radial fibröz uzanımı olan baziller membran yapar. Baziller membranın yüzeyinde işitmenin end organı olan korti organı bulunur. Duktus koklearis ve skala vestibüli arasındaki sınırı ise iki hücre tabakasından oluşmuş olan Reissner membranı yapar (21, 22).

Skala timpani, yuvarlak pencerenin açıldığı kör bir poş şeklinde sonlanmaktadır. Skala timpaninin sonu ile subaraknoid mesafe arasını bağlayan kemik pasaja 'koklear akuaduktus' adı verilir. Bu akuaduktus, spinal sıvı ile perilenf arasındaki değişime izin verir. Skala vestibüli ise direkt olarak vestibüle açılır. Skala vestibuli ile skala timpani arasındaki ilişkiyi sağlayan yapıya ise 'helikotrema' adı verilir (21, 22).

Korti organı destek hücreleri, tüylü hücreler ve tektoryal membran denilen jelatinöz bir yapıyı ihtiva eden kompleks bir yapıdır (Şekil 2a) (21, 22).

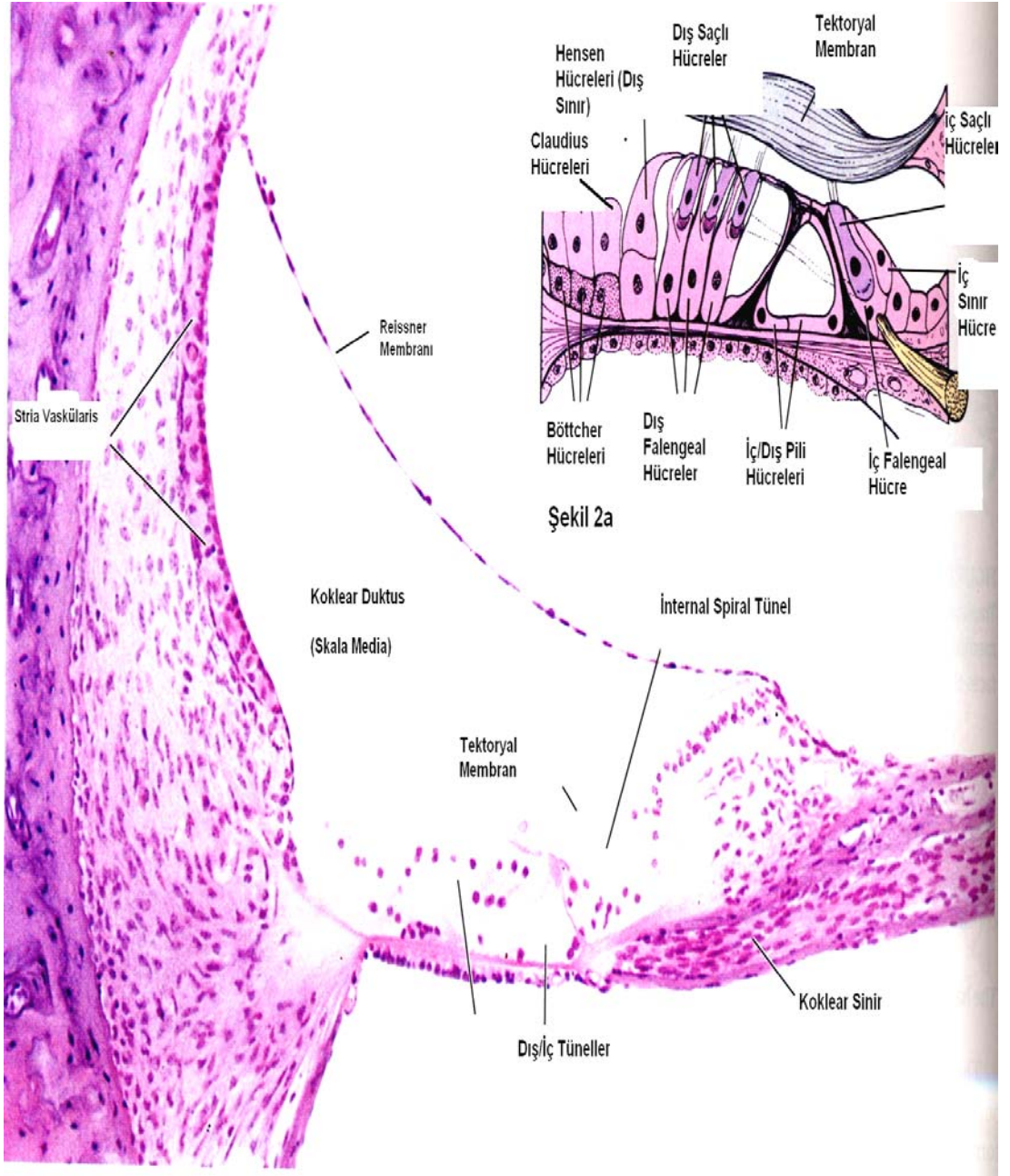
Tüylü hücreler, tek sıra iç tüylü hücreler ve 3-5 sıra dış tüylü hücreler şeklinde yerleşmişlerdir. Bunlar iç ve dış pillar hücreleri tonofibrilleri ile oluşturulan ters 'V' şeklinde ayrılmışlardır. Pillar hücreleri arasındaki mesafe korti tüneli olarak adlandırılır ve burada endolenften farklı bir sıvı olan kortilenf bulunur (21, 22).

Tüylü hücreler falangeal hücreler tarafından desteklenmektedir. Diğer destek hücreleri Hensen hücreleri, Claudius hücreleri ve sınır hücreleridir. Tektoryal membran santral olarak limbus tarafından desteklenmektedir. Limbus kemik spiral lamina üzerine yaslanan kalın bir hücre tabakasıdır ve bu aynı zamanda Reissner membranında tutunmasına yardımcı olur. Tektoryal membran serbest kenarında Hensen hücrelerine sıkıca tutunarak tüylü hücrelerin silyalarını ihtive eden tüylü hücreler ile tektoryal membran arasındaki bir mesafe oluşumunu sağlar (21, 22).

Tüylü hücreler birkaç nöron tarafından innerve edilirler. Tüylü hücrelerde iki tip sinir sonlanması vardır. Biri afferent, diğeri ise efferent fonksiyonundan sorumludur. Bazende tek nöron birkaç tüylü hücreyi innerve etmek üzere bölünebilir (21, 22).

İç kulak içindeki alıcı organlar esas olarak aynı yapılardan oluşmuştur. Fakat her biri özel mekanik stimuluslara cevap verecek tarzda organize olmuşlardır (22). Membranöz koklea, korti organını içerir. Utrikulus, semisirküler kanallar ve sakkulus ise durum ve hareket hissi reseptörlerini içermektedir. Duktus koklearis ve duktus ve

sakkus endolenfatikusun iç kulaktaki hidrolik basıncın düzenlenmesi ile ilgili oldukları düşünülmektedir (24).



Şekil 2. İç Kulak Yapılarının Şematik Görünümü

Nöronlar kemik spiral laminanın kanalcıklarında ilerleyerek laminanın tabanında spiral ganglion hücreleri ile buluşurlar. Daha sonra aksonlar modiulusun merkezindeki kanallar içinde ilerleyerek sekizinci sinirin işitsel parçasını oluştururlar. Bu fibrillerde iki koklear nukleus (dorsal ve ventral) bölgesinde ponsa girerler (21, 22).

Perilenfatik sıvı kimyasal ekstrasellüler sıvılarda olduğu gibi düşük potasyum ve yüksek sodyum konsantrasyonuna sahiptir. Endolenfatik sıvı ise tersine hücre içi sıvı niteliğinde elektrolit yoğunluğuna sahiptir ve yüksek potasyum, düşük sodyum içerir (25).

Lawrence (26) insanda toplam 78.3 mm^3 perilenf, 2.76 mm^3 endolenf olduğunu bildirmiş ve iç kulak sıvılarının fonksiyonlarını şöyle sıralamıştır:

- 1- İç kulaktaki hücrelerin kanla ilişkisini sağlayarak hücrelere besin temin etmek ve onların katabolik ürünlerini uzaklaştırmak,
- 2- Enerji değişimi için uygun ortam sağlamak,
- 3- Titreşimleri stapez tabanından enerji değişimi yapan elemanlara iletmek,
- 4- Basıncın sistem içinde dağılmasını sağlamak.

İç kulak sıvılarının kaynağı henüz kesin belli değildir. Ancak büyük olasılıkla perilenf, beyin omurilik sıvısı filtrasyonu ile, endolenf ise stria vaskülaris ve vestibüler labirentinde bulunan dark hücrelerinden salgılanma ile oluşur. Baziller membran üzerindeki kan damarları kortilenfin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Kortilenf ve perilenf yüksek sodyum içermeleri nedeniyle birbirlerine benzemekle beraber, hem kaynaklarının farklı oluşu hemde perilenfin tüy hücreleri için toksik oluşu bakımından birbirlerinden farklıdır (21, 22, 26).

3.1.1.e Afferent İşitme Yolları

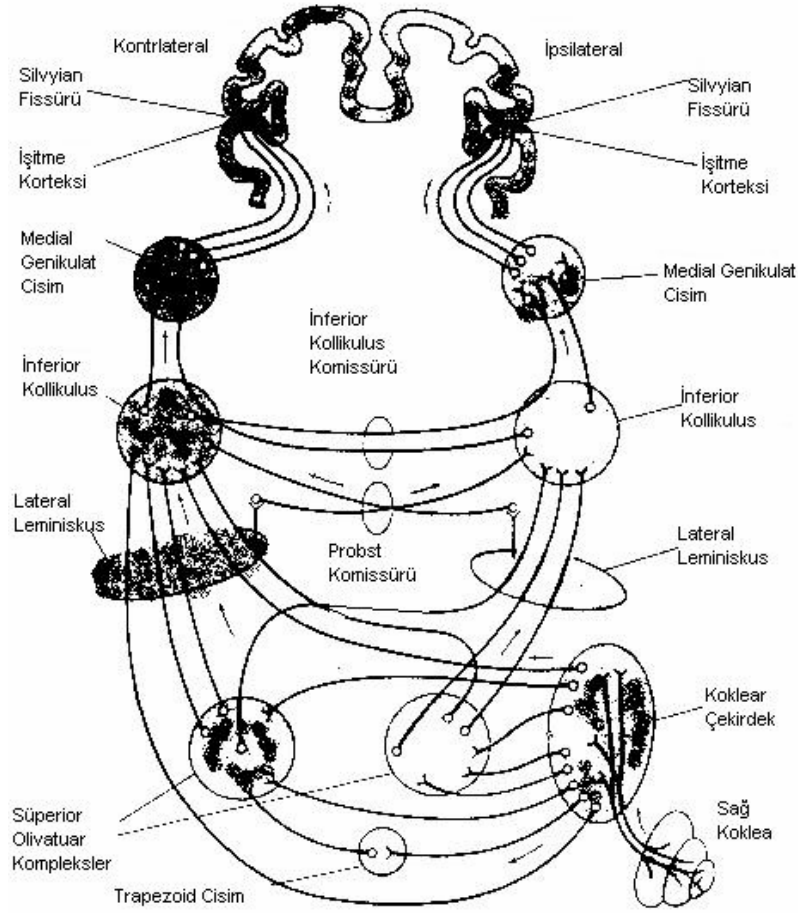
Afferent işitme yolları diğer alıcı sistemlerden daha karmaşıktır. Paralel yollar olduğu gibi afferent işitme yollarının çeşitli seviyelerinde iki taraf beyin sapı arasında bağlantılar vardır (23).

Koklear nukleus (KN) işitsel uyarıyı ilk alan yerdir ve bütün koklear sinir fibrilleri KN'de sonlanır. KN'nin üç ana bölümü işitme sinirinden benzer bilgileri alır. İşitsel sinir fibrilleri ventral KN'ye girerler ve diğer bölümleri innerve etmek için anterior ventral KN ve posterior ventral KN olarak ikiye ayrılırlar. Posterior ventral KN'ye ulaşan fibriller dorsal KN'ye kollateral fibriller gönderir. KN'den yukarı çıkış

üç farklı yoldan olur: 1- Dorsal akustik stria, 2- İntermediate akustik stria ve 3- Trapezoidal cisim. Fibrillerin bazıları süperior oliver kompleks nükleusunda sonlanır. Her üç yol beyin sapının diğer tarafına çaprazlaşır ve sonunda lateral lemniskusta sonlanır. Lateral lemniskustan ayrılan fibriller inferior kollikulusta sonlanır. Afferent işitme yollarının çoğu akustik stria ya da trapezoidal cisim seviyesinde çapraz yapar. İpsilateral tarafta KN'den ilerleyen ve çaprazlaşmayan fibriller vardır ve bunlarda ipsilateral inferior kollikulus, medial genikulat cisime ve işitsel kortekse uzanırlar. Lateral lemniskus fibrillerinin bazıları lateral lemniskus nükleusunda sonlanırlar (23).

Böylece inferior kollikulus, kontralateral ventral KN'den kaynaklanan (sekonder işitsel fibriller), süperior oliver kompleks ve lateral lemniskus (tersiyer fibriller) nükleusunda sonlanmış olan fibrilleri alır. İnter inferior kollikulus üç ana bölüm içerir: santral nükleus, eksternal nükleus ve korteks. Santral nükleusun çıkışı inferior kollikulusun brakiumu boyunca talamusun anterior parçasına uzanır. Oysa eksternal nükleus ve inferior kollikulus'un korteksi, assosiasyon kortekslerine uzanım gösteren ekstraleminiskal sistemin bir parçası olarak talamusun arka bölümüne gelir. Ventral medial genikulat cisim korteksin primer işitsel alanına gider (23).

Çıkan işitsel yolların iki tarafı arasında çeşitli seviyelerde bağlantılar vardır. Beyin sapının iki tarafı arasında var olan bağlantıların en periferik seviyesi KN'dir ve orta beyin seviyesinde iki inferior kollikulus arasında bağlantılar vardır (Probst kömürü). Aynı zamanda her iki kulaktan giriş alan süperior oliver kompleks, çıkan işitsel yolların iki tarafı arasındaki bağlantıları gösterir (23). Şekil 3'te afferent işitme yolları gösterilmiştir.



Şekil 3. Afferent İşitme Yolları

3.1.1.f Efferent İşitme Yolları

İki farklı efferent sistem vardır.

- 1- Süperior oliver kompleks nükleusundan kaynaklanan olivokoklear sistem
- 2- Yüksek merkezlerden kaynaklanan santrifugal sistem

Olivokoklear lifler çaprazlaşan ve çaprazlaşmayan parçalar içerir ve beyin sapından iç kulak yolunun derininde distal lokalizasyona kadar 8. kranial sinirin vestibüler parçasını takip eder ve koklear sinir ile birleşerek sonunda korti organına ulaşır. Bunun fibrilleri tüylü hücrelerde sonlanır. Efferent fibriller az sayıdadır ve 1800 civarında olduğuna inanılmaktadır ve çoğu dış tüylü hücrelerde sonlanır (23).

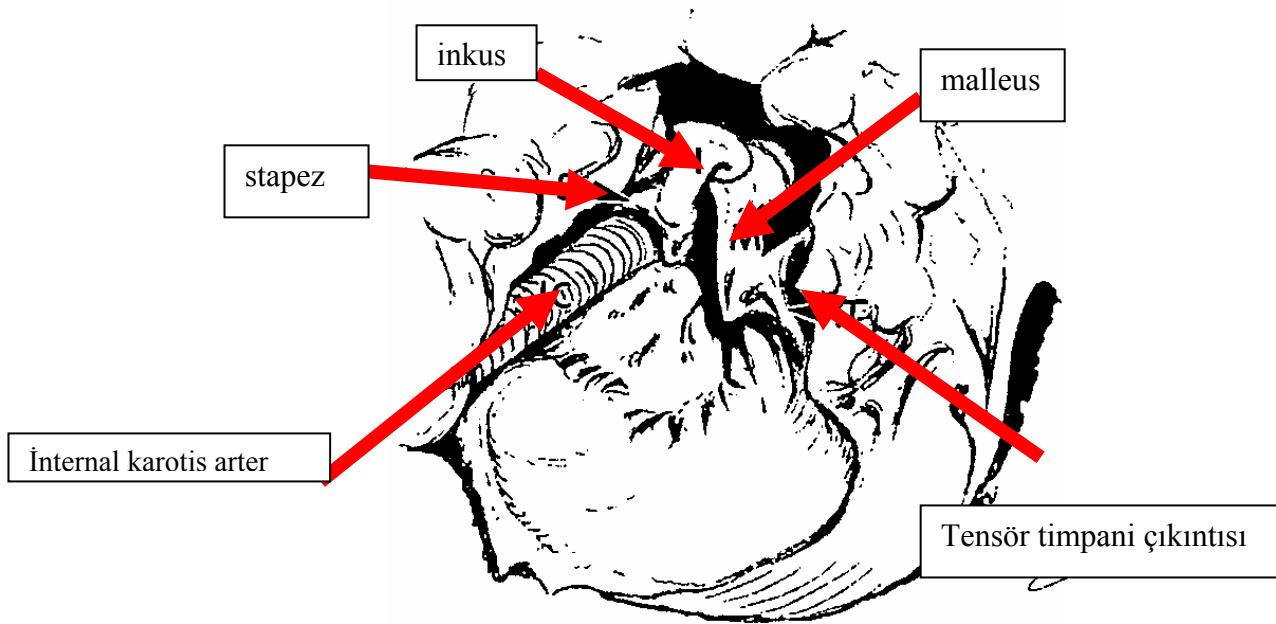
Santrifugal yollar KN veya daha yüksek merkezlere ulaşan efferent fibrillerin ses ile oluşan nöral aktivite üzerinde genellikle süpresif etkisi olduğu görülmektedir. Fakat bu sistemin gerçek fonksiyonu hakkında az şey bilinmektedir (23).

3.2 Rat Kulak Morfolojisi

Ratların kulakları, insan kulak anatomisine bir çok yönden benzediğinden araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılırlar. Rat kulakları da insandaki gibi dış, orta ve iç kulak bölümlerine ayrılır. Fakat temporal kemik bir takım farklılıklar gösterir (27, 28) (Şekil 4). Rat temporal kemiği mastoid benzeri çıkıntı, timpanik bulla (mastoid kavite), timpanik halka, petröz parça ve az gelişmiş skuamöz parçalardan meydana gelir (28).

Rat aurikulasındaki destek, koni şeklinde elastik, ince bir kartilajla sağlanır. Dış kulak yolunun kemik kısmı 2 mm uzunluğunda olup timpanik membrana doğru genişler (27).

Kemiricilerde tipik olarak hipotimpanum geniştir ve yumuşak duvarlı timpanik bullanın içinde yer alır. Timpanik bulla lateralde timpanik halka, posterolateralde mastoid benzeri çıkıntı ve süperiorda epitimpanik kavite ile komşu olan yarım küre şeklinde bir boşluktur. Bullanın lateral duvarında timpanik membran vardır. Kubbe şeklindeki epitimpanum arkaya uzanarak hipotimpanum ve mezotimpanumdan ayrılır. Timpanik kavitenin medial duvarında koklea yer alır (27, 28).



Şekil 4. Rat Orta Kulağının Şematik Görünümü

Ratların kulak zarları elips şeklindedir ve horizontal plan ile 20 derecelik açı oluşturur. Kısa eksenini ortalama 4 mm, uzun eksenini ise ortalama 6 mm uzunluğundadır. Kulak zarı 5 µ kalınlığındadır. Dış yüzü skuamöz epitel ile döşeli olup, zarın kenarlarında dış kulak yolunun epidermisi ile devam eder. Orta tabakayı oluşturan fibröz lamina propria, anulus fibrozusa doğru uzanarak timpanik olukta periosta yapışır. Zarın iç yüzeyinde skuamöz epitel döşer (27).

Ratlarda insana benzer biçimde malleus 3.5 mm uzunluğunda olup, timpanik membranın uzun eksenini boyunca yerleşerek laterale, hafif eğimli kenarına bütün uzunluğunca yapışıklık gösterir. Malleus ve inkus, sinkondroz yapıda eklem yaparlar ve inkus, küçük lentiküler kemik vasıtasıyla stapez ile eklem yapar (27, 28).

Rat ve insan kulak yapısı bir çok yönden benzerlik göstermesine karşılık, aralarında bazı farklılıklarda bulunur (27, 28):

- 1- Ratlarda kulak zarı ve timpanik halkanın boyutları temporal kemiğe oranla insandakinden daha büyüktür.
- 2- Mastoid havalı hücre sistemi daha basit olup dört büyük hücreden oluşur ve insandaki trabekülasyon yoktur.
- 3- Ratlar, bulla olarak isimlendirilen çok geniş ve muntazam bir orta kulak boşluğuna sahiptirler.
- 4- Rat kokleası, bullada daha belirgin olarak görülür.
- 5- Ratlarda koklea 3.25 tur yaparken, insanlarda tur sayısı 2.5-2.75'tir.

3.3 Gürültünün Koklea Üzerine Etkileri

Normalin üzerindeki akustik enerji, genellikle kokleada hasar oluşturur ve çoğunlukla saçlı hücreler zarar görür. Kokleada oluşacak hasarın miktarı gürültünün şiddeti, şekli, bireyin hassasiyeti ve süresine bağlı olarak değişir. Kulak maruz kalınan sesin şiddetine bağlı olarak iki farklı yolla hasar görür. Ses basınç seviyesi 140 deciBell'i (dB) aşarsa, bu akustik enerji hassas iç kulak dokularının elastik limitlerinde gerginlik oluşturur. Bu tip hasar 'akustik travma' olarak isimlendirilir. Ani oluşur ve genellikle kalıcı olan ani işitme kaybı ile sonuçlanır. İşitme kaybı tinnitus ve kulakta basınç hissi ile beraberdir. Sesin sonlanmasından birkaç saat veya gün içinde azalır. Korti organı baziller membrandan ayrılır, destek hücrelerinin sensöriyel epitel bölümlerinde yırtılmalar olur. Hasara uğrayan korti organı ve skala medianın sıvı bölümlerinin bütünlüğünü tekrar sağlamak için skuamöz epitel dokunun bir tabakası ile yer değiştirir. Stria vaskularis ve küçük kan damarlarındaki kan akımında azalma meydana gelir. Hem iç hem de dış saçlı hücrelerde

dejenerasyon oluşur (29). Sesin etkileme süresinin uzamasıyla işitme kaybının oluşması artar ve komşu yüksek ve düşük frekansları etkilemeye başlar. Yıllarca devam eden gürültüye maruz kalma sonucu kokleanın bazal kıvrımındaki duyuşal ve nöral yapılar bozulur ve bu yüksek frekanslarda keskin bir kayıpla sonuçlanır. Üst frekans kayıpları kısa sürede maksimuma ulaşırken alt frekanslarda daha yavaş ve uzun bir periyotta işitme kaybı oluşur (30).

Gürültü koklear damarlarda vazokonstrüksiyona neden olmaktadır. Bunun sonucundada koklear kan akımında azalma meydana gelmekte ve hipoksi oluşarak serbest oksijen (SOR) radikalleri ortaya çıkabilmektedir. Eğer hipoksi gürültüye maruziyet sonucu meydana gelmişse, SOR oluşumunu bloke eden yada süpüren ilaçlar hipoksik veya iskemik olaylar sonucu oluşun koklear hasarı önleyebilir. Seidman ve ark (31) ratları 60 saat boyunca geniş-band gürültüye (90 dB) maruz bırakmış ve antioksidan ajan olarak süperoksit dismutaz-polietilen glikol (SOD-PEG) ve allopurinol uygulamışlar. Sonuçta SOD-PEG ve allopurinolün gürültü nedeniyle oluşun koklear sensitiviteyi azalttığını gözlemlemişler. Bu durum kokleada gürültü nedeniyle oluşun hasarın, SOR aktivitesi ile ilişkili olabileceğine işaret etmektedir.

Yoğun gürültünün periferel işitme sistemi üzerine tektoryal membranın yırtılması ve korti organının baziller membrandan ayrılması gibi anatomik sonuçları olabilmektedir (32). Bu tip bir hasar, genellikle kısa süreli yoğun patlama tarzındaki gürültü sonucu meydana gelir. İç ve dış saçlı hücrelerde kayıplar ise kronik gürültü maruziyeti sonucu gözlemlenmektedir (33).

Gürültü travmasının iç kulakta reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuna yol açarak hücre hasarı ve işitme kaybına neden olduğu bilinmektedir (31, 34). Gürültü travması sonrasında oluşun reaktif oksijen ürünleri sonucunda meydana gelen hücre ölümü, gürültünün indüklediği kalıcı işitme kaybının gelişmesinde kritik faktördür (35, 36).

Gürültüye bağı işitme kaybı (GBİK), serbest oksijen radikallerinin neden olduğu bir tür metabolik hasardır ve oluşma mekanizması 2 major kategoriye ayrılmaktadır: direkt mekanik travma ve korti organında metabolik hasar oluşması. 140 dB'den daha şiddetli gürültü uygulanırsa, mekanik travmaya bağı GBİK meydana gelir. Örneğin patlamalar sonucu oluşun yüksek amplitüdü vibrasyon, iç kulağın elastik limitlerinin aşılmasına yol açmakta ve korti organının baziller membrandan ayrılması gibi koklear bölünmeler meydana gelebilmektedir (37). Fakat

iş yerlerindeki koklea hasarının nedenleri genelde mekanik kökenli değildir (38). Karlıdağ ve ark (39) sürekli olarak 100 dB gürültüye maruz kalanlarda eritrosit glutasyon peroksidaz seviyelerinin azaldığını ve malondialdehid seviyelerinde ise artma olduğunu ve sürekli 100 dB gürültüye maruz kalınmasının kokleanın antioksidan defans sistemini hasara uğrattığını rapor etmişlerdir. Kaygusuz ve ark (40) sürekli olarak 75-110 dB arası gürültüye maruz kalan hidroelektrik santrali işçilerinde sensörinöral işitme kaybı görüldüğünü ve bu kişilerde eritrosit glutasyon peroksidaz seviyelerinde artış ve malondialdehid düzeylerinde ise azalma olduğunu tespit etmişlerdi.

3.4 Steroidlerin Nöral Yapılar Üzerine Etkileri

İmmatür organizmaların gelişiminde sadece genetik faktörler tek başına belirleyici değildir. Aynı zamanda neonatal period ve maternal çevre de önemlidir (41, 42). Gelişmekte olan beyinde serotonerjik nöronlar ve glukokortikoidler arasında etkileşimler sözkonusudur (43). Ratlarda glukokortikoid ve mineralokortikoid reseptör ekspresyonunun 5-hidroksitriptamin tarafından regüle edildiği ve hamileliğin üçüncü trimestirinin monoaminerjik nöronların gelişimi için kritik bir zaman olduğu rapor edilmiştir (44, 45). Bir çok çalışmada fötusun kritik gelişim aşamasında glukokortikoidlere fazlaca maruz kalmasının, sinir sisteminde uzun süreli etkilere neden olabileceği gösterilmiştir (46).

1970'lerden beri kortikosteroidler preterm infantlarda mortaliteyi ve morbiditeyi azaltmada kullanılmaktadır (47). Standart uygulamalarda kortikosteroidler tek doz olarak verilmektedir. 1995'te US National Institutes of Health tarafından preterm doğum riski olan tüm gebelere tek doz kortikosteroid verilmesinin survey oranlarını olumlu etkilediği bildirilmiştir (48).

Preterm doğumlar Kuzey Amerika'da tüm doğumların %7-10'unu teşkil etmektedir ve neonatal ölümlerin %75'inden sorumludur. Bu vakalardaki neonatal morbiditenin nedenleri arasında respiratuar distres sendromu, intraventriküler hemoraji ve nekrotizan enterokolit sayılabilir. Prenatal glukokortikoid terapisi preterm doğumla ilgili olan bu komplikasyonların sıklığını azaltmaktadır (49).

Glukokortikoidler bir çok fötal dokunun farklılaşmasına katkıda bulunmaktadır. Bunlardan en iyi bilineni akciğerlerdir (50). Hamilelik sırasında fötal dolaşımdaki glukokortikoid seviyeleri, maternal kortizolu inert metabolitlere metabolize eden plasental 11-beta-hidroksisteroid dehidrogenaz aktivitesi nedeniyle, maternal dolaşımdaki seviyelerden daha azdır (51).

Hayvan çalışmalarında maternal kortikosteroidlerin miyelinizasyon ve fötal beyin bölgelerinin (hipokampus) büyümesinde geriliğe neden olduğu gösterilmiştir. Kortikosteroidler gelişmekte olan beyinde hipoksik iskemik hasarı dozaja ve zamana bağımlı olmak kaydıyla azaltmakta veya güçlendirmektedir (52).

Ratlarda gestasyonun son haftasında sentetik glukokortikoidlere (0.1 mg/kg deksametazon) maruz kalınması bazal plazma kortikosteron seviyelerinin yükselmesine neden olur. Deksametazon doğum ağırlılığının azalmasına neden olmakta fakat gestasyon süresini etkilememektedir (53). Hamile guinea piglerde gestasyonun 50 ve 51 ci günlerinde (gestasyonun %75'i) deksametazon verilmesi ile, bazal plazma kortizol düzeylerinde dramatik bir yükselme olduğu gözlemlenmiştir (54).

Ekzojen glukokortikoidlerin farmakolojik dozları fötal ve erişkin beyinlerinde nöronal hasarı indükleyebilir (55-57). Hipokampal nöronlar yüksek konsantrasyonda kortikosteroid reseptörü içerirler ve glukokortikoid hasarına en duyarlı bölgedir (58, 59).

Uno ve ark (60) hamile maymunlara son trimestırda ekzojen deksametazon vermek suretiyle nöral hasarı incelemişlerdi. Sonuçta hipokampal piramidal nöronların en fazla glukokortikoid reseptörü olduğundan en hassa bölge olduğunu belirlemişlerdir.

3.5 Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

Atomlarda elektronlar "yörünge" adı verilen uzaysal bölgede ve çift olarak bulunur. Moleküllerin çoğu çift elektronlu, az sayıdaki moleküller ise tek yani eksik elektronludur. Eksik elektronlu olan bu moleküller bulabilecekleri herhangi bir molekül ile reaksiyona girer ve bu molekülden ya bir elektron alır veya ona bir elektron verir. Başka moleküller ile çok kolay elektron alışverişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere 'oksidan moleküller', 'serbest radikaller' veya en doğru adları ile 'reaktif oksijen partikülleri' denilmektedir (61).

Oksijeni kullanan tüm canlılarda oksido-redüksiyon reaksiyonları sonucunda serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir (62, 63).

Serbest radikal biyolojisindeki başlıca sorun, oluşan bu radikallerin ne yaptığıdır. Süperoksit (O_2^-) radikali, hidroksil (HO.) radikali, hidrojenperoksit (H_2O_2) ve azotoksit (NO) gibi aktif oksijen radikallerinin pulmoner oksijen

toksisitesi, iskemi sonrası reperfüzyon hasarı, iltihabi durumlar, yaşlanma ve birçok kimyasalların toksisitesinin nedeni olabileceğine inanılmaktadır (64).

Son derece toksik reaktif maddeler olan serbest oksijen radikalleri (SOR) vücutta bir çok biyokimyasal olay sonucunda oluşup yine vücuttaki SOR gidericiler tarafından etkisizleştirilmektedir. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışının, doğal anti oksidanlarla etkisizleştirilmesi bir denge içinde yürütülür. Travma, doku zedelenmesi, iskemi ve/veya reperfüzyon sırasında oluşan aşırı miktardaki SOR' ların tampona edilememesi bir çok zarara neden olmaktadır (65).

Normal metabolizmada oksido-redüksiyon reaksiyonlarıyla serbest oksijen radikallerinin oluşumu bir bozukluk değildir. Ancak hiperoksi, inflamasyon, iskemi, radyasyon, antibiyotik ve antineoplastik ilaçların klinik uygulamalarında oksijen metabolizmasının artması sonucu SOR oluşumu artarak hücrel membranlar, enzimler, polisakkaritler ve nükleik asitler üzerinde toksik etki oluşturarak doku hasarına yol açarlar (63, 66, 67).

Hücre dışında oluşan SOR'leri hücre bileşenleri ile etkileşmeden önce plazma zarını geçmek zorundadır. Bu nedenle plazma zarı SOR için kritik bir hedeftir. Ayrıca bu radikaller için hem bir bariyer, hem de daha reaktif ve geçirgen radikal türlerinin kaynağıdır. Zarda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması "lipid peroksidasyonu" olarak adlandırılmaktadır. Lipid peroksidasyonunun, zar yapısı bütünlüğünün bozulması, oluşan SOR'lerinin çeşitli hücre bileşenleri üzerine etkisi ve SOR ürünlerinin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir (61).

Organizma fizyolojisinde bir çok reaksiyonda rol oynayan serbest radikalleri aşırı üretimi veya antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda oksidatif strese bağlı olarak doku hasarı oluşabilir. SOR özellikle hedef hücrel makromoleküller olan membran lipitleri, DNA, karbonhidratlar ve proteinler ile reaksiyona girerek hücre hasarı hatta ölümüne sebep olabilir (68, 69).

3.5.1 SOR ile Mücadele Aşamaları

1- SOR arttırıcı etkenlerden uzaklaşmak: Organizmada SOR düzeylerini arttırıcı etkenler olarak özellikle oksidatif stres yapıcı nedenlerin ve risk faktörlerinin iyi belirlenmesi ve bunlardan uzak durulması gerekir.

2- Tetikleyici biyokimyasal reaksiyonları kırmak: Bu reaksiyonlar sodyum aktif girişinin inhibisyonu, potasyum girişinin aktive edilmesi, intrasellüler

laktoasidozun inhibisyonu mekanizmasıyla, sitotoksik ve vazojenik antiödem girişimlerle veya fosfolipid resentezi hızlandırıcıları, kalsiyum kanal blokörleri, lipid peroksidasyon inhibitörleri, siklooksijenaz inhibitörleri, lökotrienlerin inhibisyonu, opiad antagonistleri, platelet aktive edici faktör inhibitörleri, hipotermi ve H2 reseptör antagonistleri kullanılarak engellenebilir.

3- SOR salgılayan hücrelerin inaktive edilmesi: Nötrofiller başta olmak üzere inflamatuvar hücrelerin lezyon yerine hücumunu ve aşırı birikimini inhibe etmektedir.

4- Artmış oksidanlara karşı antioksidan kullanmak: Antioksidan etki tipleri; süpürücü (scavenging) etki, yatıştırıcı (quencher) etki, tamir (repair) etkisi, zincir kırma (chain breaking) etkisi (61, 70).

Antioksidanları doğal antioksidanlar ve ilaçlar olarak iki grupta toplayabiliriz:

3.5.1.a Doğal Antioksidanlar

1- Enzimler: Superoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, hidroperoksidaz, sitokrom C oksidaz.

2- Mikromoleküller: E vitamini ve analogları, A vitamini, beta karoten, C vitamini, glutatyon, N asetil sistein, ürik asid, metiyonin, kaptopril, bilirubin, glukoz.

3- Makromoleküller: Serüloplazmin, transferrin, ferritin, hemoglobin, miyoglobin vb.

3.5.1.b İlaçlar

Rekombinant SOD, 21 aminosteroidler, sitokinler, tümör nekroz faktörü ve interlökin-1, ksantin oksidaz inhibitörleri, flavanoidler, barbitüratlar, trimetazidin, indapamid.

Oksidanlarla etkileşip onları tutma ve çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirmeye 'süpürücü (scavenging) etki' denir. Oksidanlarla etkileşime girip onlara bir hidrojen aktararak inaktif hale getiren moleküllerin etkinliğine "yatıştırıcı (quencher) etki" denir (61, 70).

3.6 Apoptozis

Apoptozis yada programlanmış hücre ölümü, protein sentez inhibisyonu yeteneği olan yeni proteinlerin oluşmasının söz konusu olduğu hücre ölümünün aktif bir formudur. Apoptozis hem koklea sensöryel hücrelerindeki oksidatif stresin neden olduğu hasarı ortadan kaldırmak için hem de normal iç kulak gelişimi için önemli bir süreçtir. İşitsel sensöryel hücrelerin oksidatif stres oluşturmaları şunlardır: trofik faktör kaybı, iskemi-reperfüzyon ve ototoksinler. Hem trofik faktörlerin kaybı hem de sisplatin gibi ototoksinlerin etkileri sonucunda reaktif oksijen ürünlerinin ve serbest radikallerin intrasellüler üretimi başlamaktadır. Reaktif oksijen ürünleri ve

serbest radikaller ile sensöryel hücrelerin membran fosfolipidleri arasındaki etkileşim sonucu aldehidik lipid peroksidasyon ürünleri ortaya çıkar. Bu aldehidlerden, 4-hidroksinonenal, hem işitsel nöronlarda hemde saçlı hücrelerde apoptozisin mediatörü olarak fonksiyon görür (71).

Toksinler, iskemi-reperfüzyon veya radyasyon gibi çeşitli nedenlere maruz kalan hücrelerde normal gelişim sırasında meydana gelmektedir. Apoptotik bir hücrenin hem morfolojik hemde biyokimyasal özellikleri vardır. Bu özellikler nükleer fragmentasyon, kromatin kondensasyonu, hücre büzülmesi, apoptotik madde formasyonu ve DNA proteolizisidir. Geriye kalan hücre artıkları, etraftaki hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilir. Apoptozisin tersine nekroz hücre ölümünün pasif bir formudur ve özellikleri hücresel şişme, organel hasarı, plazma membran yıkımı ve hücre muhtevasının çevreye saçılmasıdır (71).

Apoptozis morfogenezis sırasında istenen bir süreçtir ve omurgalılarda normal iç kulak gelişimi için elzemdir. Eğer bu süreç iç kulak gelişimini sekteye uğratan bir anti-pitotik molekül tarafından engellenirse, membranöz labirentte dismorfogenezis meydana gelebilir (72).

3.6.1 Apoptoziste Oksidatif Stres Hasarının Rolü

İç kulakta oksidatif stresin neden olduğu hasar spiral ganglion nöronları kadar koklear saçlı hücrelerde de apoptozisi indükleyebilir. Nörotrofin geriçekilmesi, ototoksinlere maruziyet ve hipoksi-iskemi gibi durumlarda oksidatif strese yol açarak apoptozise neden olurlar. Reaktif oksijen ürünleri ve serbest radikaller bazı metabolik yolların ürünü olarak ortaya çıkarlar ve hücresele proteinlerle etkileşerek hücrede hasar oluşturabilirler. Plazma membranı ile reaktif oksijen ürünlerinin etkileşimi sonucu 4-hidroksinonenal (HNE) gibi yüksek reaktiviteye sahip bir lipid peroksidasyon ürünü oluşur ve bu ürün sensöryel hücrelerde hasara ve ölüme yol açabilmektedir (73). HNE'nin ise saçlı hücrelerde ve spiral ganglion nöronlarında apoptozis yoluyla ölüme neden olduğu gösterilmiştir (71).

3.6.2 İskemi-Hipoksi ve Gürültünün İndüklediği Apoptozis

Literatürde, iç kulakta hipoksi ve gürültü travmasının meydana getirdiği kötü etkilerin irdelendiği bazı çalışmalar mevcuttur. Lamm ve Arnold (74) geniş band gürültüye maruziyet sırasında koklear kan akımında olduğu kadar parsiyel oksijen basıncında da azalma olduğunu bulmuşlardır. Pujol ve ark (75) ise hipoksi veya gürültünün korti organında meydana getirdiği akut hasarın oldukça benzer olduğunu göstermiştir. Gürültüye maruziyet, oksidatif stres ile alakalıdır (76). Gürültüye maruz

kalındıktan sonra koklea lateral duvarında tiyol tripeptid glutasyon seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca tiyol tripeptid glutasyon antioksidan enzim sisteminin, gürültülü ortamlarda aktive olduğu da ileri sürülmüştür (77).

3.7 İşitsel Uyarılmış Potansiyeller (Auditory Evoked Potentials, AEP)

İşitsel uyarılmış potansiyeller, odiyolojik testlerin bir parçasıdır ve işitme sisteminin aktivasyonu ile ortaya çıkan elektriksel potansiyel cevapların izlenmesi ve kaydedilmesi işlemidir. Beyinsapı uyarılmış cevap odyometrisi (Brainstem Evoked Response Audiometry, BERA) en yaygın olarak kullanılan uyarılmış işitsel potansiyeldir (78).

Ruth ve Lambert (78) 1991'de cevap içindeki primer komponentlere göre yaptığı sınıflandırma şu şekildedir: erken (ilk 10-15 msn), orta (10-80 msn) ve geç (80-750 msn) (Tablo 1).

Tablo 1. İşitsel Uyarılmış Potansiyellerin Ruth ve Lambert'e Göre Sınıflandırılması

Erken Latensi Komponentleri

1- EcochG

2- BERA

Orta Latensi Komponentleri

1- Auditory Middle Latency Response

2- 40-Hz Response

Geç Latensi Komponentleri

1- Late Latency Response

2- P-300 Response

Erken komponentler, klik stimulusu takiben 10-15 msn'de ortaya çıkarlar. Bunlar beyin sapı işitsel yollarının aktivasyonu sonucu oluşurlar (78, 79).

Orta latensi komponentleri, klik stimulusu takiben 10-80 msn içinde görülürler. Bunların talamus ve işitsel korteksin aktivasyonu sonucunda oluştuğu düşünülmektedir, fakat kısmen refleks kas potansiyellerini de yansıtabilirler. Bunlar işitme fonksiyonunu

değerlendirmede kullanılabilir fakat nörolojik lezyonları değerlendirmede yetersizdirler (78, 79).

Geç latensi komponentleri, kilik stimulusu takiben 80 msn'den sonra ortaya çıkarlar. Bunlar işitme fonksiyonunu değerlendirmede kullanılabilir. P-300 komponenti ise kognitve kavrama fonksiyonunu değerlendirmede kullanılır. P-300 komponenti eğer sinyal kişi ile ilgiliyse ortaya çıkar (78, 79).

Erken komponentler primer olarak geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Çünkü erken komponentler stabildir ve subjektif olaylardan etkilenmeleri çok azdır. Bununla birlikte orta ve geç komponentler işitme sisteminin daha yüksek seviyelerinin durumu hakkında bilgi sağlar ve bu nedenle AEP'in önemli bir parçasıdır (78).

Bütün AEPs'ler, ECochG hariç baş çevresinde çeşitli lokalizasyonlara yerleştirilmiş yüzeyel elektrotlardan kaydedilir. Bu yüzeyel elektrotlara ulaşan elektriksel potansiyeller sıklıkla çok küçük amplitüdüldürler. Örneğin beyin sapı yollarından kaynaklanan potansiyeller birkaç yüz nanovolttur. Bu küçük elektriksel potansiyeller amplitüdü birkaç yüz ya da bin kez daha büyük olabilen elektriksel seslerin geri yansımından oluşur (78).

3.7.1 Beyinsapı Uyarılmış Cevap Odyometri (Brainstem Evoked Response Audiometry, BERA)

BERA'nın ilk tanımlanmasından bu yana 20 yıl geçmiştir ve tahmini olarak kökeni Jewet'in yaptığı bir çalışmaya dayanmaktadır (80). BERA, kulaktan gelen uygun işitsel stimulusu takiben ilk 10-15 msn içinde gözlenen, sekizinci kranial sinir ve beyin sapının afferent işitsel yollarının nöroelektrik aktivitesinin kaydedilmesi işlemidir. Kafa üzerindeki kaydedici elektrotlar ile beyin sapındaki cevabın gerçek kaynağı relatif olarak uzak bir mesafede olduğundan 'uzak alan potansiyelleri' olarak da isimlendirilirler ve bu potansiyeller kulak ve işitsel sinir sistemi bozukluklarının tanısında ve intraoperatif nörofizyolojik izlemede önemli rol oynamaktadırlar (78, 79).

BERA komponentlerinin dalga piklerini tanımlamak için bir takım yöntemler vardır. Ancak en çok kabul gören yöntem 1971 yılında Jewett ve Williston (81) tarafından önerilen biçimdir. Bu isimlendirmede oluşan dalga pikleri I'den VII'ye kadar Romen rakamlarıyla belirtilir.

BERA baş çevresine yerleştirilen üç elektrot ile kaydedilir. Genellikle bir elektrot başın tepesine (verteks yada yüksek alın), diğer iki elektrot mastoit üzerine, kulak memesi üzerine ya da kulak kanalına yerleştirilebilir. Ek olarak toprak elektrot genellikle altına yerleştirilir. Aynı anda iki kanaldan kayıt (bir tanesi sitimulusun ipsilateralinde

diğeri ise kontralateralinde) yapılması yararlıdır. Çünkü cevabın bazı özellikleri kanalın birinde ya da diğerinde daha belirgin olabilir. Eğer mümkünse cevap filtreleri yaklaşık olarak 30-3000 Hz olmalıdır. Daha dar bandpas filtreleri test ortamında aşırı derecede artefakt olduğunda kullanılabilir. Özellikle eşik tayini yapılacağında, BERA'nın yavaş komponentlerini korumak, V. dalga ve takip eden negatif dalgaları daha iyi belirleyebilmek için bandpas filtresinin düşük frekansı nadiren 50 Hz'in üzerine çıkarılmalıdır. 10-12 msn analiz zamanı genellikle nörodiagnostik uygulama için yeterlidir. Fakat 20-25 msn'ye daha yakın bir analiz zamanı infantlarda eşik tayini için gereklidir (78).

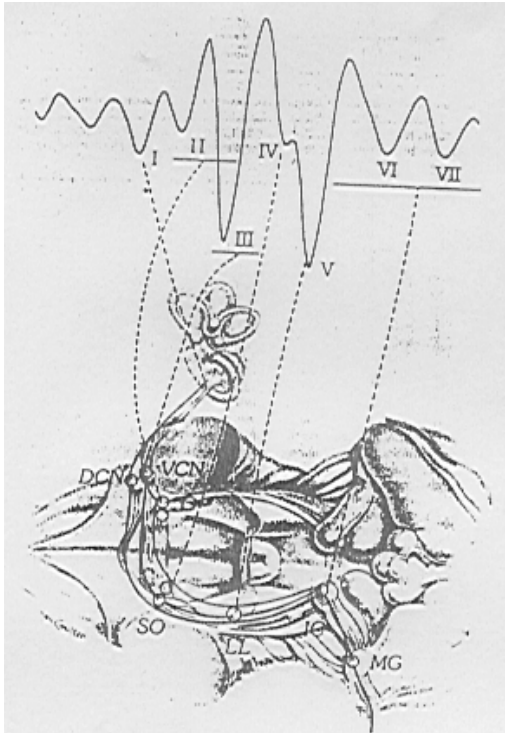
3.7.1.a BERA Temel Sistemi

BERA sisteminin iki temel komponenti vardır: 1- Uyarı (stimulus) kaynağı, 2- Kayıt cihazı. Uyarı, klik, tone pip veya tone burst gibi isimlerle anılan çok kısa süreli bir akustik impulstur. BERA'da en sık klik uyarı kullanılır. Bu işitsel uyarı, işitme sistemimde senkronize deşarjı yol açar. Uyarı kaynağında üretilen uyarı, bir iletim sisteminden geçer ve kulaklık aracılığı ile deneğin test edilen kulağına verilir. Elektrot, denek ile kayıt sistemi arasına konulan metalik iletken bir ara yüzeydir. Bipolar kayıtlarda deneğin kafa derisinde, kullanılan tekniğe göre seçilen belirli yerlere üç elektrot yerleştirilir: aktif, referans ve toprak. Verilen uyarının oluşturduğu çok küçük elektriksel cevaplar, bu elektrotlar aracılığı ile alınıp bir preamplifikatör ve bir amplifikatörden oluşan amplifikasyon sistemine iletilir. Bu sistemde potansiyeller büyütülerek averajlama için gerekli olan seviyeye getirilir ve daha sonra averajlama işlemini yapan bilgisayara iletilir. Bu bilgisayarı, her birinde çeşitli hesaplamalar yapabilen bir seri hafıza birimi olarak algılayabiliriz. Bilgisayar, kulağı her uyarı verilişinde bir sonraki analiz işlemini başlatır. Yani zamana bağlı olarak çalışır. Diğer bir deyişle cevaplar belli zaman aralıkları ile aynı hafıza birimlerine giderler. Bu sayede zaman bağılı olmayan EEG, nonfizyolojik sinyaller ve kas hareketleri gibi aktiviteler uyarılmış potansiyellerden ayıklanır. Bu averajlanmaya rağmen elektrofizyolojik sinyallere karışabilecek büyük voltajların temizlenmesi amacı ile bilgisayarların içine bir otomatik artefakt engelleyici sistem de yerleştirilmiştir. BERA sistemi denekten algıladığı dalga latensileri ve pik amplitüdüleri gibi veri parametrelerini averajlama sırasında monitöre yansıtabilir (82).

3.7.1.b BERA Karakteristikleri

Normal popülasyonda BERA, işitsel uyarıyı takiben ilk 10-15 msn'de görülen 5-7 verteks pozitif pik ile karakterizedir ve bunlar Romen rakamlarıyla gösterilirler. Dalga I, II, III, IV ve V tutarlı dalgalarıdır ve bütün normal kişilerde ortaya çıkar. Dalga VI ve VII

değişkendir ve stimule edilen kulakların sadece %43-84'ünde ortaya çıkarlar. Bu pikler işitme yolları boyunca çeşitli yerlerde lokalize olmuş diploe sinirlerden senkronize nöral boşalmaları yansıtır (78). Hayvan çalışmaları ile insanlarda yapılan çalışmalarda BERA komponentlerinden I. dalganın işitme sinirinden, II. dalganın koklear nükleustan, III. dalganın süperior oliver kompleksten, IV. dalganın lateral leminiskus ve onun çekirdeğinden ve V. dalganın ise inferior kollikulustan kaynaklandığı görülmüştür. Dalga VI ve VII hayvanlarda yoktur. Dalga VI'nın medial genikulat nükleusundan kaynaklandığı ve dalga VII'nin de işitsel radyasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir (83, 84). Şekil 5'te işitsel beyin sapı potansiyellerinin sinirsel kökenleri gösterilmektedir.



Şekil 5. İşitsel Beyin Sapı Potansiyellerinin Sinirsel Kökenleri

IC: inferior kollikulus, MG: medial genikulat, LL: lateral leminiskus, SO: süperior oliver kompleks, DCN: dorsal koklear nükleus, VCN: ventral koklear nükleus

Dalga IV ve V BERA'nın en belirgin komponentleridir. Dalga V'i genellikle belirgin bir negativite takip eder. Belirgin negativite bazen dalga V'den ziyade dalga IV'ü takip edebilir. Normal kişilerin 1/4'ünde CZ-A1 derivasyonunda ayrı ayrı IV, V gibi görülmez kombine dalga IV/V kompleksi olarak ortaya çıkabilir. Dalga V'in çıkan kolunda küçük dalga IV veya dalga IV'ün inen kolunda küçük dalga V şeklinde varyasyonlar da olabilir (79).

Akustik sinir ve beyin sapı lezyonları gibi patolojik durumların yanı sıra elektrot yerleşimi, uyaran polaritesi, uyaranın hızı, filtreleme özellikleri ve uyaran özellikleri gibi teknik faktörler beyin sapı cevaplarının morfolojisini, amplitüdünü ve latensisini etkilerler (85, 86). Fakat BERA, uyku durumu, genel anestezi gibi patolojik olmayan bazı durumlara oldukça dirençlidir. BERA'nın hipotermiden etkilendiği bilinmektedir. Markand ve ark (87), hipotermimin I., III. ve V. dalga latensilerini artırdığını, geç dalgalardaki latensi artışının daha fazla olması nedeni ile I-III, III-V ve I-V interpike latensilerinin de (IPL) aynı zamanda uzadığını bildirmişlerdir. Markand ve Hett, I.,III. ve V. dalga latensilerinin ve I-V IPL'nin ısının her 1 derece düşüşte kabaca %7 oranında arttığını ve 26 derece civarında bu latensilerin ikiye katlandığını, 20 derece altında BERA komponentlerin kaybolduğunu tekrar ısıtma ile değişikliklerin geri döndüğünü bildirmişlerdir (87, 88).

İnsanlarda ve laboratuvar hayvanlarında anestezi etkilerinin araştırıldığı bir çok çalışmada da, BERA komponentlerinin latensilerinin ve amplitüdülerinin barbitürat ve diğer anestezi ajanlarına karşı oldukça dirençli olduğu gösterilmiştir (89, 90).

3.7.1.c BERA'nın Klinik Uygulamaları

BERA otoneurolojik hastalıkların tanısı ve konvansiyonel odiyolojinin yapılamadığı hastalarda işitme eşiği tayini için yapılır (78).

İşitme Eşiğinin Ölçülmesi: İşitme eşiği tayininde genellikle V. dalga kayboluncaya kadar azalan ses şiddeti ile izlenir. Klik uyaran ile oluşturulmuş BERA eşiği 1000-4000 Hz frekanslarında normal odiyolojik testten elde edilen 10-20 dB daha kötüdür (78). Bununla birlikte klik uyaran ile elde edilen BERA, bazı özel frekanslarda odiyometrik konfigürasyon yada sensitivite konusunda az bilgi sağlar. Bundan başka orta kulaktaki iletim patolojileri BERA eşiklerini etkiler (78).

Nörodiagnostik Uygulamalar: BERA, sekizinci kranial sinir ve beyin sapı yollarının lezyonlarının değerlendirilmesinde oldukça duyarlı bir yöntemdir. Bu test yönteminde aşağıdaki cevap karakteristikleri değerlendirilmeli ve beklenen değerler ile karşılaştırılmalıdır (78, 91).

- 1- Dalgalar arası latensi (I-V, I-III, III-V)
- 2- Kulaklar arası latensi
- 3- Absolü latensiler
- 4- Dalga komponentlerinin varlığı ya da yokluğu
- 5- Amplitüd oranı (V/I)
- 6- Dalga morfolojileri

BERA anormallik kriterleri şunlardır (78, 79):

- 1- Dalgaların olmayışı
- 2- I, II, III'den sonraki dalgaların olmayışı
- 3- I-III, III-V ve I-V İPL'lerinde anormal uzama
- 4- V/I ampütüd oranının anormal küçülmesi
- 5- I-III, III-V ve I-V İPL'lerinde anormal artmış interaural farklılıklar

Bu bulgular arasında en değerlisi dalgalar arası latensi ölçümleri ve dalga V'in kulaklar arası latensi farklılığıdır. Dalgalar arası latensiler bir merkezden diğer merkeze ilerleyen nöral bilgi için gerekli zamanı yansıtır. Bu nöral akışı bozacak herhangi bir bozukluk IPL'lerde uzamaya sebep olur (78).

Dalga IV ya da V'in dalga I amplitüdüne oranı amplitüd anormalliklerini belirlemede kullanılır. V/I amplitüd oranı, stimulus şiddeti ve odiyogramın şekline göre değişebilir. Bundan dolayı bu parametreler klik ile oluşan işitme eşiğinin normal olduğu durumlarda kullanılabilir (79).

BERA akustik tümör, serebellopontin köşenin diğer tümörleri gibi sekizinci sinirin cerrahi olarak manipule edildiği ameliyatlarda işitme fonksiyonunu intraoperatif olarak izlemek amacıyla sekizinci sinirin açıkta olan intrakraniyal parçasından direkt olarak kaydedilebilir (83).

3.8 Deksametazon

Deksametazon plasentadan en iyi geçen sentetik bir steroiddir. Tip iki glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak 11-betahidroksisteroiddehidrogenaz-2 enzimi için zayıf substrat olduklarından inaktivasyondan kurtulur ve diğer kortikosteroidlere (hidrokortizon ve prednizolon) kıyasla daha az yıkılır (92). Maternal deksametazon, glukokortikoid reseptörlerine kortizolden daha fazla afinite gösterir ve hücre çekirdeğindeki reseptörlere bağlanarak tüm vital organ sistemlerinin maturasyonu için gerekli enzim sistemlerini uyarır (93). Farelerde

glukokortikoidlerin gama-aminobutirik asit inhibitör nöron modulasyonu yaparak nöral aktiviteyi baskıladığı gösterilmiştir (94). Sentetik glukokortikoidler neonatal enfeksiyon riskinde artışa ve adrenal supresyon gibi yan etkilere neden olabilmektedir. Ayrıca fötal hormonların diurnal ritminde olumsuz etkileyebilmektedir (95). Deksametazon respiratuar distres sendromu, periventriküler hemoraji ve nekrotizan enterokolit gibi hastalıkların tedavisinde antenatal dönemde uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (96).

3.9 Tedavi Gruplarına Uygulanan Ajanlar

3.9.1 Aminoguanidin

Nitrik oksit (NO) hücrelerde nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi tarafından sentezlenir. NOS'ın bilinen 3 izoformu vardır: nöral NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS). nNOS ve eNOS kokleada yaygın olarak bulunmakta olup kalsiyum bağımlıdır ve saçlı hücre fizyolojisinde rol alırlar (97). iNOS ise kalsiyum bağımlı değildir ve normal şartlarda kokleada bulunmaz (98). Normal fizyolojik şartlarda süperoksit radikalleri tercih edilerek SOD ile reaksiyona girer. NO, SOD'dan daha hızlı olarak süperoksit radikalleri ile reaksiyona giren tek endojen moleküldür. iNOS tarafından yüksek düzeylerde üretilen NO, süperoksitlerle reaksiyona girerek, proton verdiği daha reaktif olan hidroksil radikallerine dönüşen peroksinitrit oluşumuna yol açar. Bu reaksiyonlar sonucunda lipid peroksidasyonu, DNA ve protein oksidasyonu ve hücre ölümü gerçekleşir (99).

Aminoguanidin (AG), iNOS (inducible NOS) inhibitörüdür ve yapısal olarak L-arjinine (NO substratı) benzer. NO sentezini inhibe eder ve peroksinitritide etkiler. Ayrıca antioksidan özellikleride vardır. I/R (iskemi/reperfüzyon) sonrası iNOS aktivitesinde artma olması, peroksinitrit oluşmasına neden olmaktadır (100). I/R sırasında NO biyosentezi inhibe olursa, peroksinitrit oluşumu azalacaktır (101).

iNOS, I/R sırasında indüklenir ve bol miktarda NO üretimine neden olur. NO'nun aşırı üretimi, dokular için zararlı olan peroksinitritin oluşmasına yol açar. Peroksinitrit hem nitritleyici hemde güçlü oksidan bir ajandır. Ayrıca peroksinitröz asit ve hidroksi radikalleri gibi yüksek reaktif ürünlere yıkılabilir. AG'nin antioksidan özelliklerinden dolayı serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonunu önlenebilmektedir (102).

İskemiye takiben reperfüzyon fazında süperoksit üretilmekte ve hızla NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna neden olmaktadır (103). Bu sırada peroksinitrit, peroksinitröz asit ve hidroksi radikalleri gibi yüksek reaktif ürünlere

yıkılmaktadır. Yani NO biyosentezi yoluyla peroksinitrit türevlerinin oluşmasının önlenmesi, reperfüzyon hasarını azaltabilecektir (104).

Yapılan çalışmalarda AG'nin süperoksit ve hidroksil radikallere karşı serbest radikal süpürücü olduğu lipid peroksidasyonu üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (105).

3.9.2 Kafeik Asit Feniletıl Ester (Caffeic acide phenylethyl ester, CAPE)

CAPE fenolik bir antioksidandır ve antiinflamatuvar komponenti olan bir propolistir (arı balı reçinesi) (106). CAPE ayrıca transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-kB'inde (NF-kB) spesifik bir inhibitördür ve bunun antiinflamatuvar etkinliğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. CAPE, NF-kB ile DNA arasındaki etkileşimi inhibe etmektedir (107). Ek olarak CAPE bazı hücre tiplerinde apoptozisi de indüklemektedir (108).

Araşidonik ve linoelik asitin 5-lipoksigenaz tarafından katalize edilmesini inhibe etmektedir. 10 µM konsantrasyonda reaktif oksijen ürünlerinin üretimini bloke eder (109). Başka bir çalışmada CAPE'nin antiinflamatuvar, sitostatik, antiviral, antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin de olduğu gösterilmiştir (110).

CAPE'nin 10 µM konsantrasyonda verilmesinin insan nötrofillerinde reaktif oksijen ürünlerinin üretimini ve ksantin/ksantin oksidaz sistemini bloke ettiğini gösteren bir çalışmada mevcuttur (111).

3.9.3 EGb-761

Ginkgo biloba ağacının kurutulmuş yaprakları işlenerek EGb 761 elde edilir. Bu ürün iki major grup madde içerir: flavo glikozidler ve terpen laktonlar (112).

Ginkgo biloba ağacı yapraklarından elde edilen özütlerden üretilen farmakolojik ajanlar yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Alerjik deri reaksiyonları, baş ağrısı veya bir takım gastrointestinal yakınmalar dışında hemen hiç yan etkileri yoktur (113).

Yapılan in vitro çalışmalarda kültüre edilmiş nöronlarda EGb 761'in hipoksi, hidrojen peroksit, glutamat, verapamil, nitrik oksit ve siyanür ile indüklenen hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir (114).

Örneğin EGb-761'in oral yoldan uygulanmasının geçici global iskemi oluşturulan gerbillerin hipokampuslarında nöral ölümü azalttığı, kalpte iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu ve ratlarda orta serebral arterde oklüzyon yapılarak oluşturulan fokal iskemi sonrası nöronal ölümü azalttığı bildirilmiştir (115).

Oral uygulanan EGb 761'in rat beyinlerinde iskeminin indüklediği mitokondrial oksidatif fosforilasyon komplekslerini düzenleyerek iskeminin yol açacağı hasarı önlediği saptanmıştır (116). Yani ginkgo biloba özütleri anti-eksitotoksisite, serbest radikal oluşumunun azaltılması ve reaktif oksijen ürünlerinin süpürülmesi gibi birden çok mekanizma ile nöroproteksiyonu sağlamaktadır (117).

Ginkgo biloba özlerinin (GBÖ) vazomodulan, platelet aktive edici faktör antagonizması, antioksidan, anti-apoptotik ve nöroprotektif etkileri vardır. Ayrıca servikal sendrom ve periferel arter dolaşım bozuklukları nedeniyle meydana gelen işitme kayıplarının destek tedavisinde kullanılırlar (118).

GBÖ'nin anti-apoptotik ve nöroprotektif aktiviteleri, toksik serbest radikalleri süpürülmesi vasıtasıyla olmaktadır (119).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1 Denekler

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarı'ndan 200-300 gr ağırlığında, 16 adet dişi ve dört adet erkek Sprague-Dawley cinsi rat temin edilmek suretiyle yapıldı. Kullanılan sarf malzemeleri Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) birimi tarafından sağlandı. Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan izin alınarak gerçekleştirildi.

Ratların bakımı Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (FÜTDAM) özel yemlere ve suya istedikleri kadar ulaşabilecekleri, 30x40x20 cm boyutlarında, üzeri çelik tel parmaklıkla örtülü plastik kafesler içinde yapıldı. Ratlar her kafese en fazla dörder adet dağılımları yapılarak barındırıldı.



Şekil 6. Deneklerin Bakımının Yapıldığı Kafes

4.2 Esas Deneklerin Elde Edilmesi

Esas deneklerin elde edilmesi için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarı'ndan temin edilen 16 dişi ve dört erkek rat kendi aralarında çiftleştirilmeye bırakıldı. Ratların hamile kalıp kalmadıkları günlük servikal sürüntülerle izlendi ve böylece hamileliklerinin ilk günü belirlendi. Fakat bütün dişi ratların hamile kalmaları sağlanamadı. Hamile kalması başarılan 12 adet dişi rat her

grupta altışar adet olmak üzere iki gruba ayrıldı. Bir gruptaki 6 hamile rata, hamileliklerinin üçüncü trimestrinin başlangıcından (yaklaşık 14. gün) hamileliklerinin son gününe (yaklaşık 21. gün) kadar 0.1 mg/kg/gün deksametazon intraperitoneal (IP) yoldan verildi. Diğer gruptaki 6 hamile rata ise yine hamileliklerinin 3 cü trimestrin başlangıcından hamileliğinin son gününe kadar 0.1 mg/kg/gün distile su IP yoldan verildi. Böylece ileride kullanılacak esas deneklerin yarısı prenatal dönemde ekzojen steroidlere maruz kalmışken, diğer yarısı ise ekzojen steroidlere maruz kalmamış oldu. Her bir hamile ratın beş ile sekiz yavru doğurması sonucu toplam 68 adet yavru rat elde edildi. Bu 68 yavru rattan 20 tanesi çeşitli nedenlerle öldü. Ölen 20 rattan 18 tanesi steroid verilen gruba, 2 tanesi ise steroid verilmeyen gruba mensuptu. Kalan 48 adet yavru rat ise denek olarak kullanıldı. Bu yavru denekler üzerinde çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için iki ay beklendi.

4.3 Deneklerin Gruplara Ayrılması

Yavru deneklerin büyümeleri için iki ay beklendikten sonra, ilk önce denekler her bir grupta 24 rat olmak üzere ekzojen steroidlere maruz kalanlar ve kalmayanlar olarak iki gruba ayrıldı. Bu süre sonunda deneklere işitme eşiklerinin belirlenmesi için BERA testi uygulandı. BERA ile deneklerin işitme eşiklerinin belirlenmesinden bir hafta sonra, bütün denekler ses izolasyonlu olan bir kafeste dört saat boyunca 110 dB gürültüye maruz bırakıldı. Çalışmada kullanılacak olan aminoguanidin, CAPE ve EGb-761 gibi antioksidan ajanlar gürültüden 30 dakika önce bir doz, gürültü uygulandıktan hemen sonra bir doz ve sonraki takip eden üç gün içinde de her gün birer doz olmak üzere toplam beş doz şeklinde uygulandı. Gürültü uygulanması ve antioksidan ajanların verilmesinden sonra denekler ekzojen steroid ve antioksidan ajanların verilip verilmemesi göz önüne alınarak her bir grupta altı rat olmak üzere aşağıdaki gibi gruplara ayrıldı:

Grup 1: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su enjekte edilen ve dört saat 110 dB gürültü verilen grup (n=6).

Grup 2: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su enjekte edilen, dört saat 110 dB gürültü verilen ve IP yoldan 200 mg/kg aminoguanidin enjekte edilen grup (n=6).

Grup 3: Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su enjekte edilen, dört saat 110 dB gürültü verilen ve IP yoldan 30 µmol/kg CAPE enjekte edilen grup (n=6).

Grup 4 : Annesine 0.1 mg/kg/gün distile su enjekte edilen, dört saat 110 dB gürültü verilen ve IP yoldan 100 mg/kg EGb-761 enjekte edilen grup (n=6).

Grup 5: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon enjekte edilen ve dört saat 110 dB gürültü verilen grup (n=6).

Grup 6: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon enjekte edilen, dört saat 110 dB gürültü verilen ve IP yoldan 200 mg/kg aminoguanidin enjekte edilen grup (n=6).

Grup 7: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon enjekte edilen, dört saat 110 dB gürültü verilen ve IP yoldan 30 µmol/kg CAPE enjekte edilen grup (n=6).

Grup 8: Annesine 0.1 mg/kg/gün deksametazon enjekte edilen, dört saat 110 dB gürültü verilen ve IP yoldan 100 mg/kg EGb-761 enjekte edilen grup (n=6).

4.4 Deneklere Gürültü Uygulanması

Deney hayvanlarına gürültü verilebilmesi için 1x 0.5x 0.5 m boyutlarında, üst kapağı açılıp kapanabilen, yan taraflarında havalandırma deliği olan, su ve yiyeceğe rahat ulaşılabilen bir kafes hazırlandı. Ses yansımalarını önlemek için kafesin içerisi strafor köpük ile kaplandı.



Şekil 7. Deneklere Gürültünün Uygulandığı Ses İzolasyonlu Kafes

Gürültü uygulaması için, Interacoustics Clinical Computer Audiometer Model AC40' ta (Interacoustics Co., Danimarka) üretilen geniş band (6.000-12.000 Hz) gürültü odometre çıkışından direkt bağlantı ile ses kayıt cihazına kayıt edildi.

Ses kayıt cihazından elde edilen sesin şiddeti CEL-254 (Lucas CEL Inst. Ltd. Hitchin, Herts, İngiltere) ses seviye ölçeri ve Bruel-Kjaer tip 1613 oktav filtre setiyle 6-12 kHz' de ölçülen değerlerin ortalaması ile tayin edildi. Ölçümler kafesin farklı noktalarından yapılarak gürültü düzeyi ortalama 110 dB±2 dB olacak şekilde standardize edilerek dört saat süresince sürekli olarak gürültü uygulandı.



Şekil 8. Gürültü Seviyesi Ölçüm Cihazı

4.5 Deneklere Antioksidan Ajanların Uygulanma Biçimi

Deneklere antioksidan ajanlar olarak aminoguanidin, CAPE ve EGb-761 (Tebokan Fort, Abdi İbrahim, Türkiye) isimli preparatlar beş doz şeklinde IP yoldan uygulandı. Uygulama biçimi şöyle idi: Aminoguanidin grup 2 ve grup 6'ya her bir doz 200 mg/kg , CAPE grup 3 ve grup 7'ye her bir doz 30 µmol/kg ve EGb-761 ise grup 4 ve grup 8'e her bir doz 100 mg/kg olacak şekilde gürültüden 30 dakika önce bir doz, gürültü uygulandıktan hemen sonra bir doz ve sonraki takip eden üç gün içinde de birer doz olmak üzere toplam beş doz verildi.



Şekil 9. Bir Deneğe IP Yoldan İlaç Verilişi

4.6 Deneklerin İşitme Eşiklerinin BERA Testi ile Tespiti

Tüm deneklere gürültüden bir hafta önce, 48 saat sonra ve iki ay sonra % 2' lik ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Türkiye) 5 mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) 60 mg/kg kombinasyonu IM yoldan verilerek anestezi sağlandı. 24-26^o C' de sabit tutulan ses izolasyonlu bir odada, Homoth BERA-System 4000 marka BERA cihazı ile tüm deneklerin işitme eşikleri tayin edildi. Yani gürültü uygulanmadan bir hafta önce, gürültü uygulandıktan 48 saat sonra ve gürültü uygulandıktan iki ay sonra olmak üzere her bir deneğin üç kez BERA ile işitme eşiği tayini yapılmış oldu.

110-40 dB SPL arasında 0.1 msn süreli rarefaksiyon kliği Beyerdynamic DT48 numaralı kulaklık vasıtasıyla deneklere verilerek BERA testi yapıldı. Çalışmada kullanılan uyarının özellikleri tablo 2'de verilmiştir.



Şekil 10. Bir Deneğe BERA Testi Uygulanırken

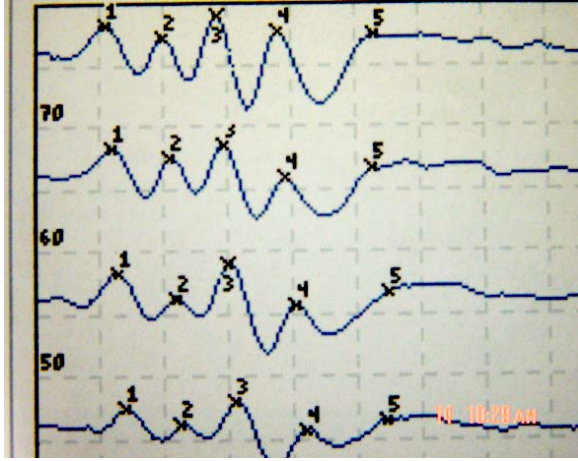
Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Uyarının Özellikleri

<u>Uyarının Parametresi</u>	<u>Kliğin Durumu</u>
Tipi	Monoaural klik
Süresi	0.1 msn
Hızı	10 / sn
Polaritesi	Rarefaksiyon

BERA kaydı elde etmek için 1024 uyarınla elde edilen cevaplar averajlandı. Elde edilen cevaplarda V. dalgalar işaretlendi. Çalışmamızda dalgalar pozitif ve negatif dalgalar halinde monitorize edildi. Tüm ölçümler sağ ve sol kulak için ayrı ayrı yapıldı ve her bir kayıt iki kez kaydedilerek dalga formlarından emin olunmaya çalışıldı.

Tablo 3. Çalışmada Kullanılan Kayıt Parametreleri

Frekans alt sınırı	200 Hz
Frekans üst sınırı	3000 Hz
Amplifikatör duyarlılığı	20 mikrovolt/div
Averajlanan uyaran sayısı	1024
Analiz süresi	10 msn
Gösterme duyarlılığı	200 nv

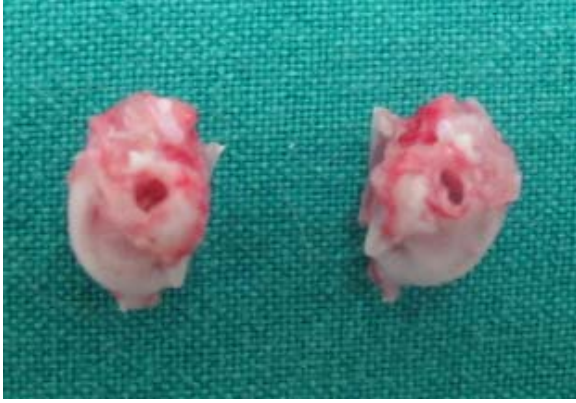


Şekil 11. Normal Bir BERA Trasesi

4.7 Histopatolojik Değerlendirme

Denekler dört aylık iken yani gürültü uygulamasından iki ay sonra BERA testi ile işitme eşiği tayini yapılmasının ardından yüksek dozda ketamin hidroklorid ve ksilazin hidroklorid verilerek anestezi sağlandı. Verilen anestezi sonrası, giyotin sistemi yardımıyla tek hamlede denekler dekapite edildi. Ardından her bir denek yüzüstü yatırıldı ve deneklerin baş kısımlarının arkasından öne doğru, buruna kadar insizyon yapılarak kafa cildi ikiye ayrıldı. Her iki yanda künt diseksiyon yapılarak, kafatası ortaya konuldu. Kafatası kemiği ortadan dikkatle kesilerek her iki tarafta

timpanik bullalar ortaya konuldu. Timpanik bullada kabarıklık yapan koklea, etraf kemik dokuya zarar verilmeksizin özenle diseke edildi ve en blok olarak çıkarıldı.



Şekil 12. Rat Timpanik Bullası ve Kokleası

Her bir hayvanın çıkarılan kokleaları %2 fosfat tamponlayıcı gluteraldehit içinde saklandı. Elde edilen spesmenlerin yarısı ışık mikroskopisi incelemesi yapılması için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'na ve diğer yarıysa elektron mikroskopisi incelemesi yapılması için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'na hızla transport edildi. Işık mikroskopu ile kokleadaki apoptotik bulgular ve elektron mikroskopu ile de iç kulak yapılarının durumu değerlendirildi.

4.7.1 Işık Mikroskopisi İncelemesi İçin Doku Preparasyonu

Diseke edilmiş koklea spesmenleri %10 EDTA solusyonunda üç hafta boyunca dekalsifikasyona tabi tutuldu. Takiben dokular %10 formaldehit solusyonunda 24 saat tespit edildi. Tespit işleminden sonra dokular 24 saat musluk suyunda yıkandı, dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon sağlandı. Dokular xylolde şeffaflaştırıldı ve parafin infiltrasyonu yapıldıktan sonra bloklandı. Parafin bloklardan polilizinli lam üzerine 5 µm'lik kesitler alındı.

4.7.2 Elektron Mikroskopisi İncelemesi İçin Doku Preparasyonu

Alınan doku örnekleri EDTA (10 cc gluteraldehit %25, 70cc fosfat tampon, 6 gr EDTA) ve gluteraldehit çözeltisi içinde dört hafta dekalsiyeye edildi. Örnekler yeterince dekalsifiye olduktan sonra %2'lik osmiyum tetroksit ile postfiksasyon yapıldı. Dereceli alkollerden geçirilerek dehidrate edildi ve rutin elektron mikroskobu doku takibi sonrasında araldite CY212 epoxy resin kit içine gömüldü. 60°C de 48 saat etüv içinde polimerize edildi. Elde edilen blokların hepsinden iki µm kalınlığında kesitler alındı. Korti organına ait kısım dilimlendi ve 70-90 nm kalınlığında kesitler bakır gridler üzerine alındı. Uranil asetat-kurşun sitrat ile kontrastlandıktan sonra Jeol JEM 1200 EX elektron mikroskobunda incelenip fotoğraflandı.

4.7.3 İmmunohistokimya

Kesitler ksilol ile deparafinize edildi. Alkol serilerinden geçirdikten sonra distile su ile yıkandı. Oda ısısında %0.1-1 H₂O₂ ile inkübasyon sonrası fosfat tamponlu salin (Phosphate Buferrred Saline, PBS) ile yıkandı ve avidin biyotin boyama yöntemine geçildi. Kesitler %10 normal bovin serum ile muamele edildi. Daha sonra caspase-3 goat polyclonal IgG primer antikoru 1:400 oranında normal bovine serum ile dilue edildi. Kesitler +4⁰ C'de bir gece boyunca kaspaz ile inkübe edildi. Negatif kontrol kesitlerine sadece PBS damlatıldı. Ertesi gün kesitler PBS ile yıkanıp sekonder antikor (biotinli bovin antigoat), takiben HRP (Horse Radish Peroxidase) ile inkübe edildi. PBS ile yıkandıktan sonra DAB kromojeni uygulandı. Distile su ile yıkanan kesitlere hemotoksilen ile zıt boyama yapıldı. Çeşme suyunda mavilik gidinceye kadar yıkanan kesitler distile su ile yıkanıp alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra kapatıldı. Işık mikroskobu altında preparatlar immün reaksiyonunun yaygınlığına göre az (+), orta (++) ve yoğun (+++) şiddette şekilde değerlendirildi.

4.8 İstatistiksel Analiz

Deneyisel çalışmalar sonucunda elde edilen BERA işitme eşikleri sonuçları kaydedildi. Gürültü uygulanmadan önceki BERA eşik sonuçları ile gürültü uygulandıktan 48 saat sonraki ve gürültü uygulandıktan iki ay sonra elde edilen BERA eşik sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Ayrıca gürültü uygulandıktan hemen sonraki ve gürültü uygulandıktan 2 ay sonraki BERA eşik sonuçları da istatistiksel anlamlılık bakımından mukayese edildi.

BERA ile belirlenen eşik sonuçlarının istatistiksel olarak karşılaştırılmasında gruplar arasındaki farklılıklar çift yönlü varyans analizi kullanılarak hesaplandı. Post-Hoc hesaplaması içinde Tukey'in *t-istatistik* analizi kullanıldı. P değeri <0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1 BERA Testi Sonuçları

Gürültü uygulanmadan bir hafta önce yapılan BERA testinde bütün gruplardaki deneklerin işitme eşiklerinin normal düzeylerde olduğu saptandı. Yani annelerine ekzojen deksametazon verilen ve verilmeyen bütün deneklerde 40 dB düzeyinde V. dalgalar elde edilmişti ve deneklerin işitme eşikleri bakımından istatistiksel olarak bir farklılık söz konusu değildi.

Gürültü uygulanmadan önce (GÖ) annesine distile su verilen ve gürültüye maruz kalan grup olan grup 1'deki altı deneğin işitme eşiklerinin, gürültü uygulamasından 48 saat sonraki (GS-1) eşiklerden ortalama 13 dB daha iyi olduğu tespit edildi ve bu değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Grup 1'deki altı deneğin GS-1'deki işitme eşiği değerleri, gürültü uygulanmasından iki ay sonra (GS-2) belirlenen işitme eşiği değerlerinden ortalama 10 dB daha kötüydü, fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi.

GÖ dönemde annesine ekzojen deksametazon verilen ve gürültüye maruz kalan grup olan grup 5'deki altı deneğin işitme eşiklerinin, GS-1 döneminde belirlenen eşiklerden ortalama 12 dB daha iyi olduğu tespit edildi ve bu eşikler arasındaki farklılık ta istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Yine grup 5'teki altı deneğin GS-1 ve GS-2 dönemlerinde belirlenen işitme eşiği değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

Ekzojen deksametazona maruz kalmamış, sadece gürültü uygulanması ile birlikte sırasıyla aminoguanidin, CAPE ve EGb-761 verilmiş gruplar olan grup 2, grup 3 ve grup 4'teki deneklerin GÖ işitme eşikleri, GS-1 dönemindeki işitme eşiklerine göre sırasıyla ortalama 5 dB, 3 dB ve 3 dB daha iyiydi. GS-1 dönemindeki işitme eşiklerinin ve GS-2 dönemindeki işitme eşiklerinden sırasıyla ortalama 2 dB, 0 dB ve 0 dB farklıydı. Bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$).

Ekzojen deksametazon ve gürültüye maruz kalmış ve bir antioksidan ajan olan aminoguanidin zerk edilmiş grup olan grup 6'daki deneklerin GÖ dönemindeki işitme eşiği değerleri, GS-1 dönemindeki eşik değerlerinden ortalama 15 dB daha iyiydi ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Buna karşın grup 6'daki deneklerin GS-1 ve GS-2 dönemlerinde ve GÖ ve GS-2 dönemlerindeki işitme eşiği değerleri arasında da anlamlı bir istatistiksel farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$).

Ekzojen deksametazon ve gürültüye maruz kalmış ve bir antioksidan ajan olan CAPE zerk edilmiş grup olan grup 7'deki deneklerin GÖ dönemindeki işitme eşiği değerleri, GS-1 dönemindeki eşik değerlerinden ortalama 22 dB daha iyiydi ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Buna karşın grup 6'daki deneklerin GS-1 ve GS-2 dönemlerinde ve GÖ ve GS-2 dönemlerindeki işitme eşiği değerleri arasında anlamlı bir istatistiksel farklılık ortaya çıkmamıştı ($p<0.05$).

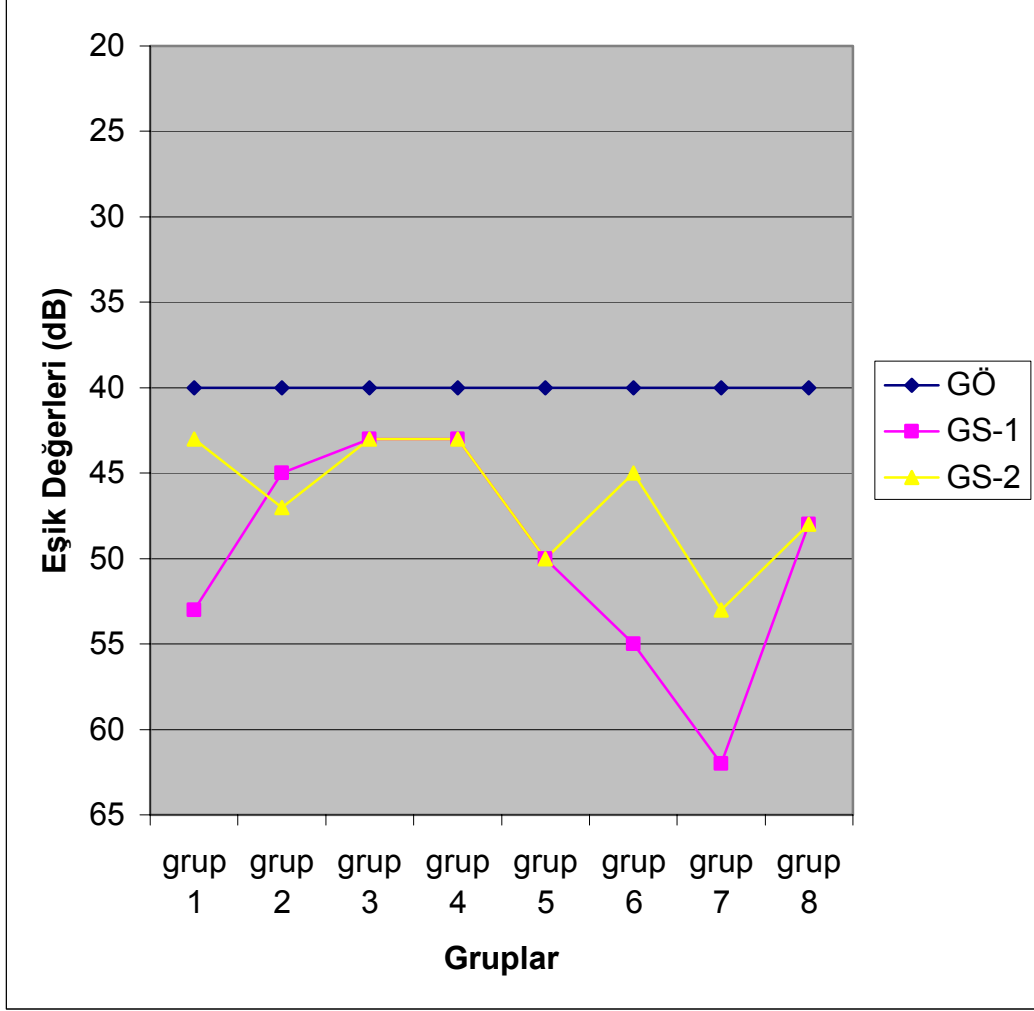
Ekzojen deksametazon ve gürültüye maruz kalmış ve diğer bir antioksidan ajan olan EGb-761 zerk edilmiş grup olan grup 8'deki deneklerin GÖ, GS-1 ve GS-2 dönemlerinde yapılan işitme eşiği değerleri bakımından anlamlı bir istatistiksel fark bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 4. Gürültü Uygulamasından 48 Saat Sonraki BERA Eşikleri (GS-1)

Grup	V. Dalganın Elde Edildiği Eşik Değeri (dB)					
Grup 1	60	60	40	50	50	60
Grup 2	50	60	40	40	40	40
Grup 3	50	40	40	40	40	50
Grup 4	50	40	40	50	40	40
Grup 5	40	60	60	40	50	50
Grup 6	80	60	60	50	40	40
Grup 7	50	40	80	80	60	60
Grup 8	50	50	40	60	40	50

Tablo 5. Gürültü Uygulamasından 2 Ay Sonraki BERA Eşikleri (GS-2)

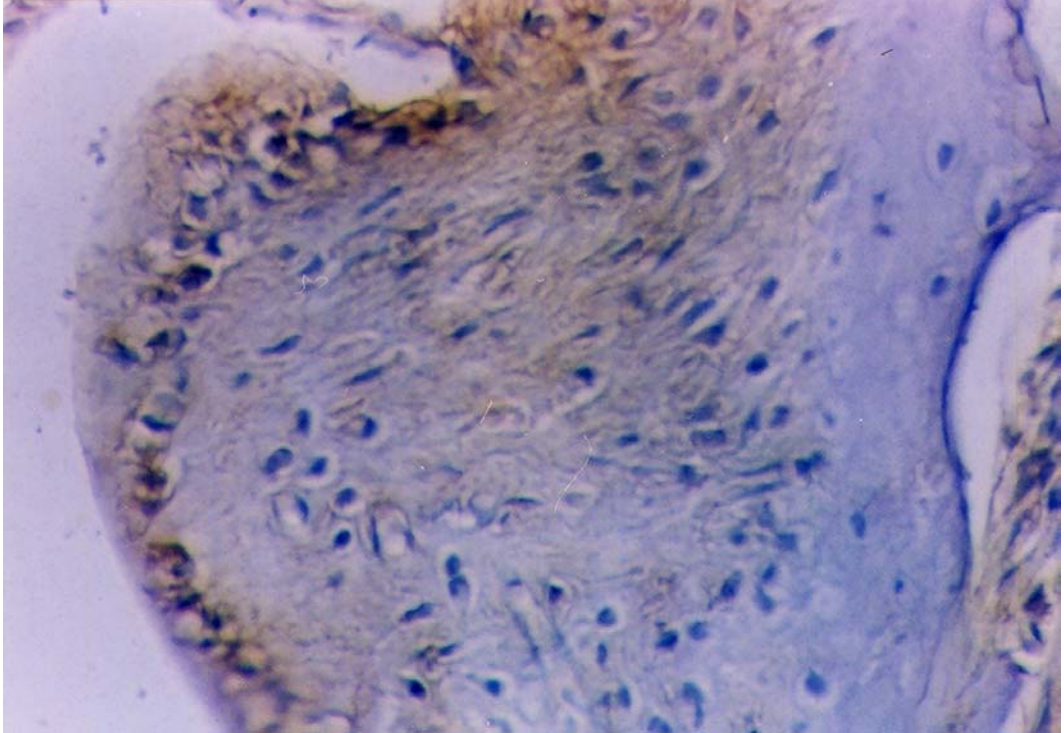
Grup	V. Dalganın Elde Edildiği Eşik Değeri (dB)					
Grup 1	40	50	40	40	50	40
Grup 2	40	40	40	60	50	50
Grup 3	40	40	40	50	40	50
Grup 4	50	40	50	40	40	40
Grup 5	40	60	70	40	50	40
Grup 6	40	50	40	60	40	40
Grup 7	40	50	40	80	60	50
Grup 8	60	50	40	40	60	40



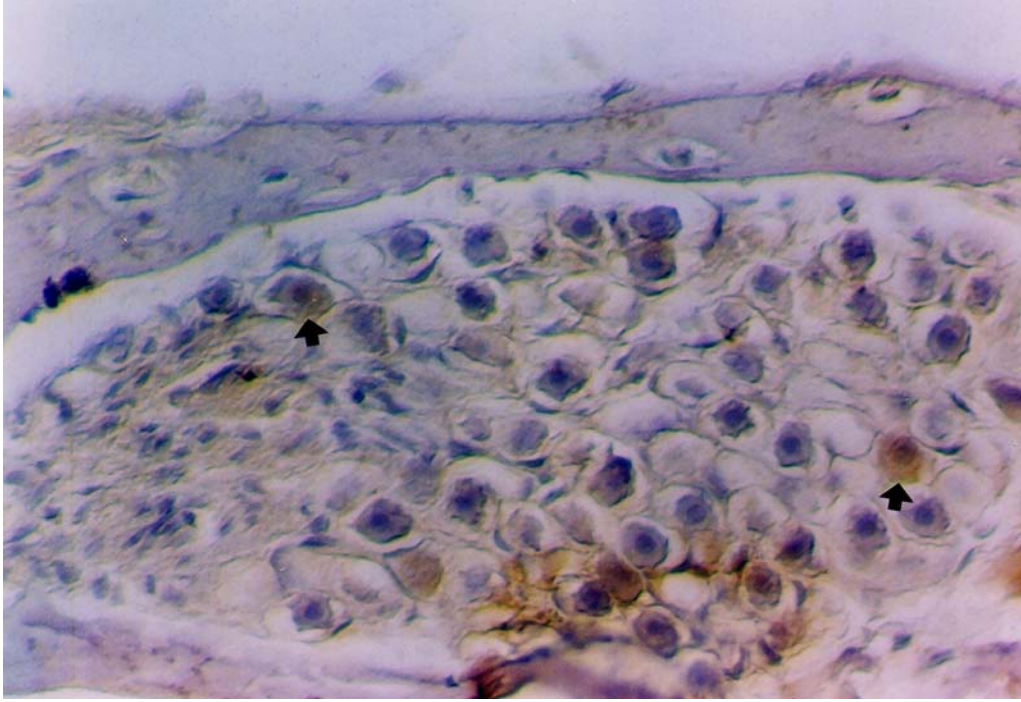
Şekil 13. Gürültü Uygulamasından Önceki, 48 Saat Sonraki ve 2 Ay Sonraki İşitme Eşiği Değerlerinin Grafikseldökümü

5.2 İmmunohistokimyasal Bulgular

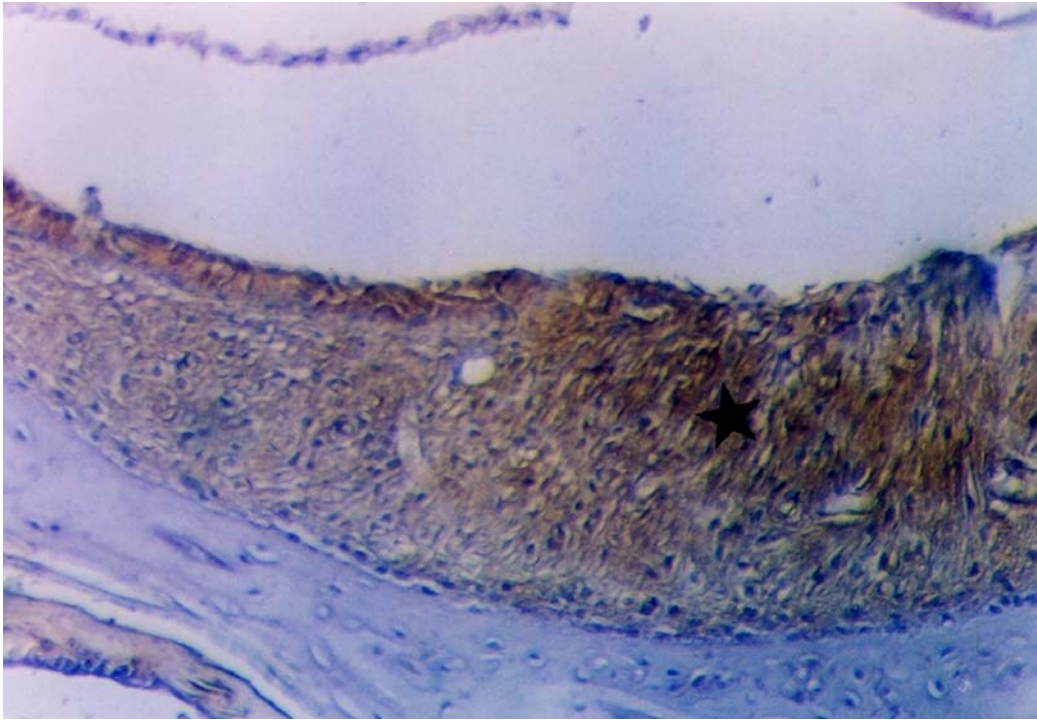
Grup 1: Annesine distile su enjekte edilen ve daha sonra gürültü uygulanan gruba ait korti organında immunreaktivite gözlenmezken (Şekil 14), bir kaç spiral ganglion hücrelerinde (Şekil 15) ve stria vaskulariste (Şekil 16) (++) şiddetinde kaspaz immün reaktivitesi gözlemlendi.



Şekil 14. Grup 1’de Korti Organında Kaspaz İmmun Reaktivitesinin Olmaması (HEx20)

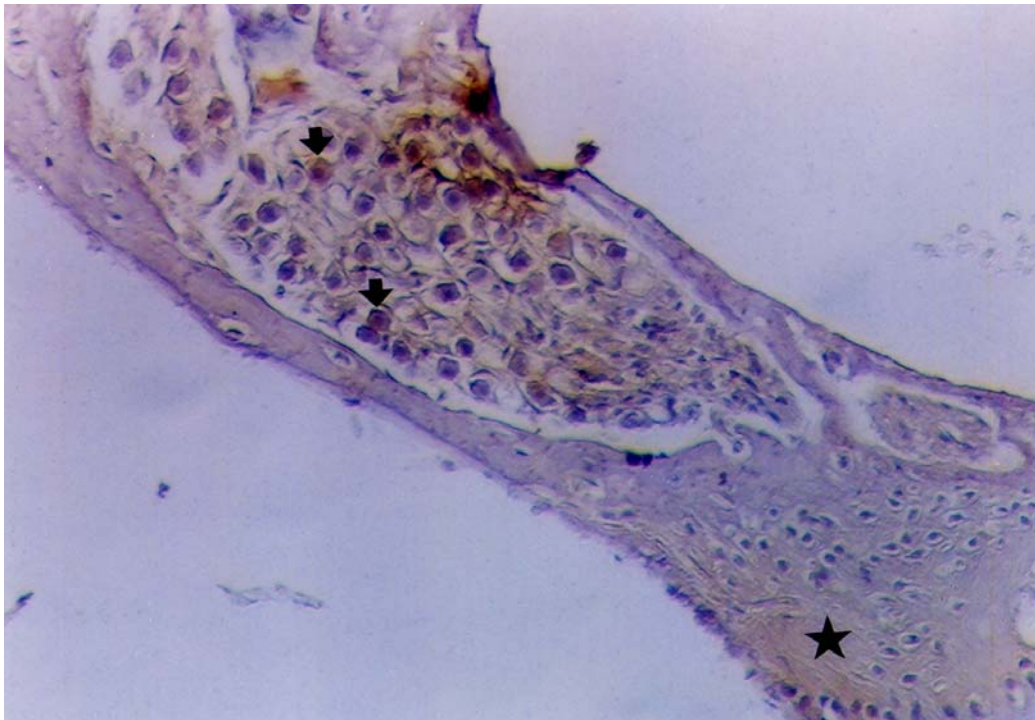


Şekil 15. Grup 1’de Spiral Ganglion Hücrelerindeki İmmun Reaktivite (oklar) Ayırt Edilmekte (HEx20)

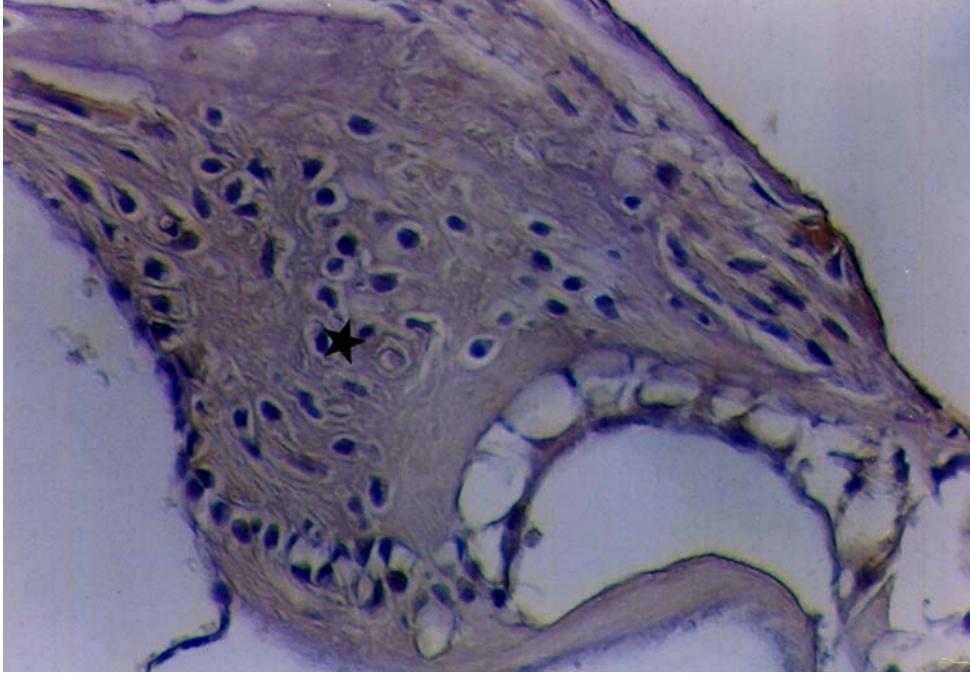


Şekil 16. Grup 1’de Stria Vaskülaristeki (++) Kaspaz İfadesi (*) (HEx10)

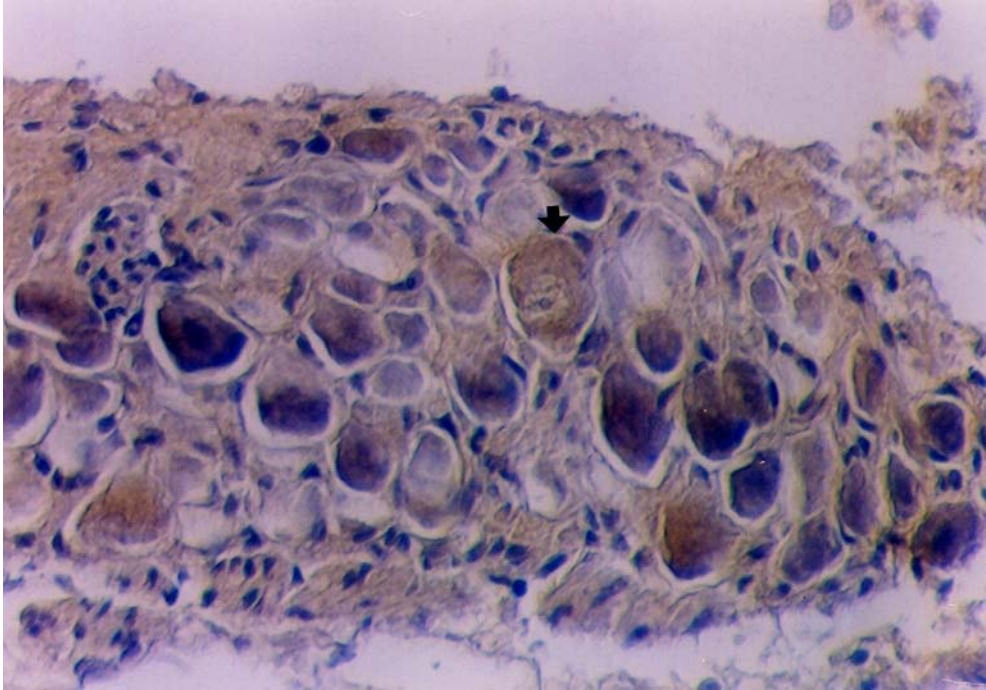
Grup 2, 3, 4: Annesine distile su injekte edilen ve daha sonra gürültü uygulanmasıyla birlikte koruyucu amaçlı 2, 3 ve 4 cü gruplara sırasıyla aminoguanidin, CAPE ve EGb-761 injekte edilmesinin apoptotik bir marker olan kaspaz ifadesinin grup 5'e göre daha az yaygınlıkta ve şiddette oluşmasına neden oldu. Bu gruplarda korti organı ve stria vaskulariste kaspaz immün reaktivitesinin olmadığı, spiral hücrelerinde ise (+) şiddetinde kaspaz ifadesinin olduğu saptandı (Şekil 17, 18, 19).



Şekil 17. Grup 2'de Korti Organında (*) Kaspaz İmmun Reaktivitesinin Yokluğu, Spiral Ganglion Hücrelerinde ise (+) Reaktivite (oklar) (HEx10)

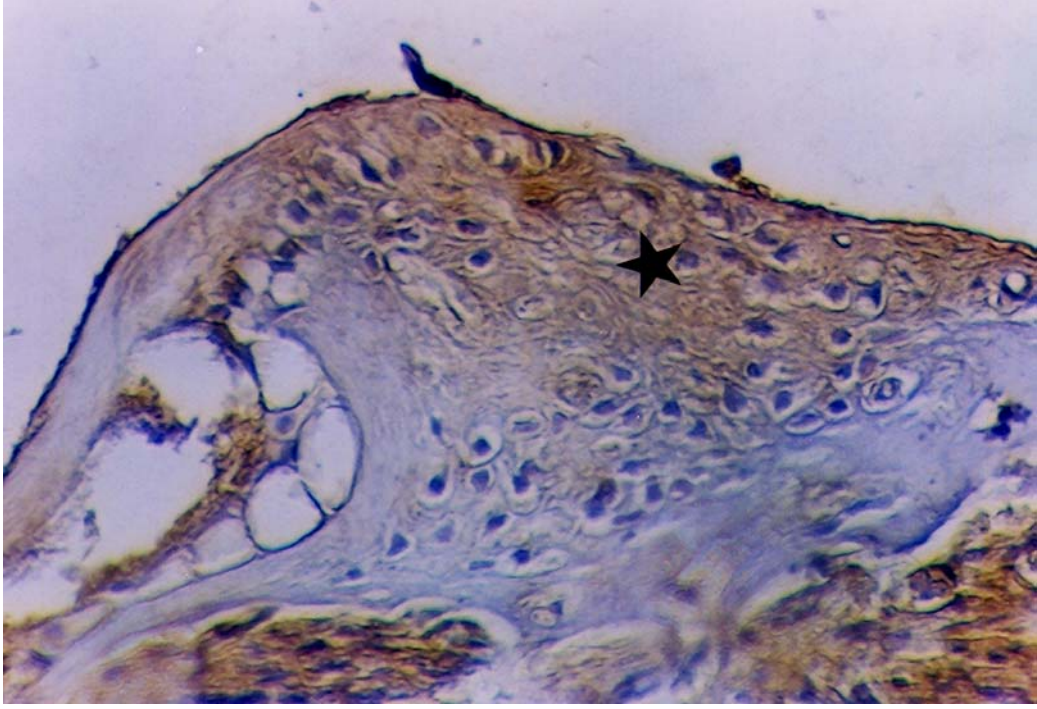


Şekil 18. Grup 3'de Korti Organında (*) Kaspaz Negatiflik (HEX20)

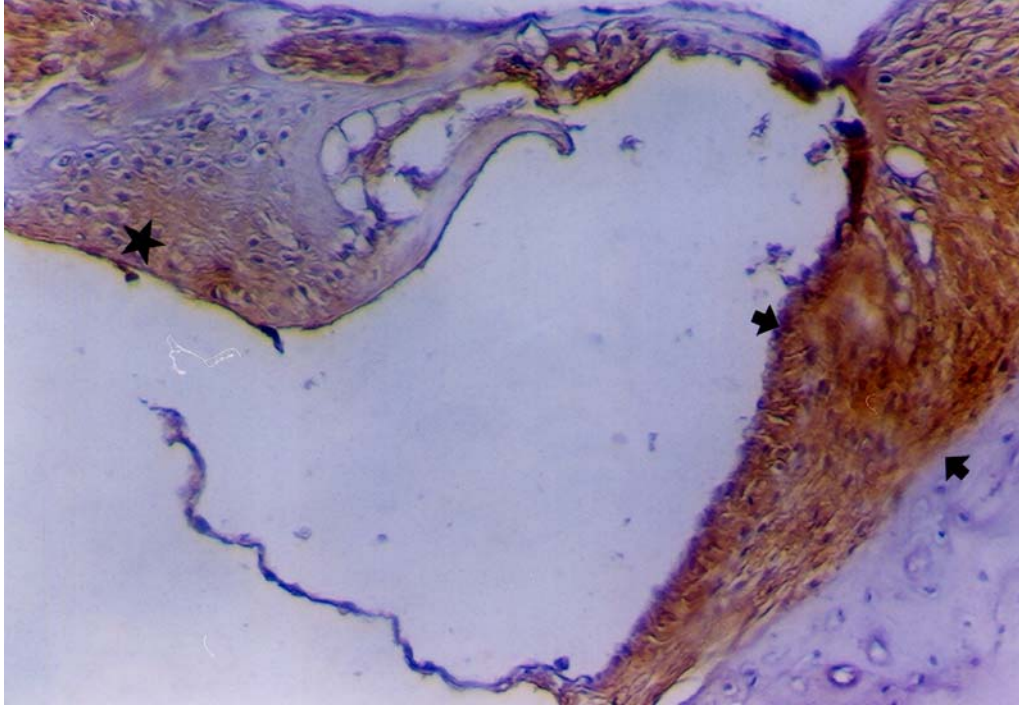


Şekil 19. Grup 4'de Spiral Ganglion Hücrelerindeki (+) Kaspaz İfadesi (ok) (HEX40)

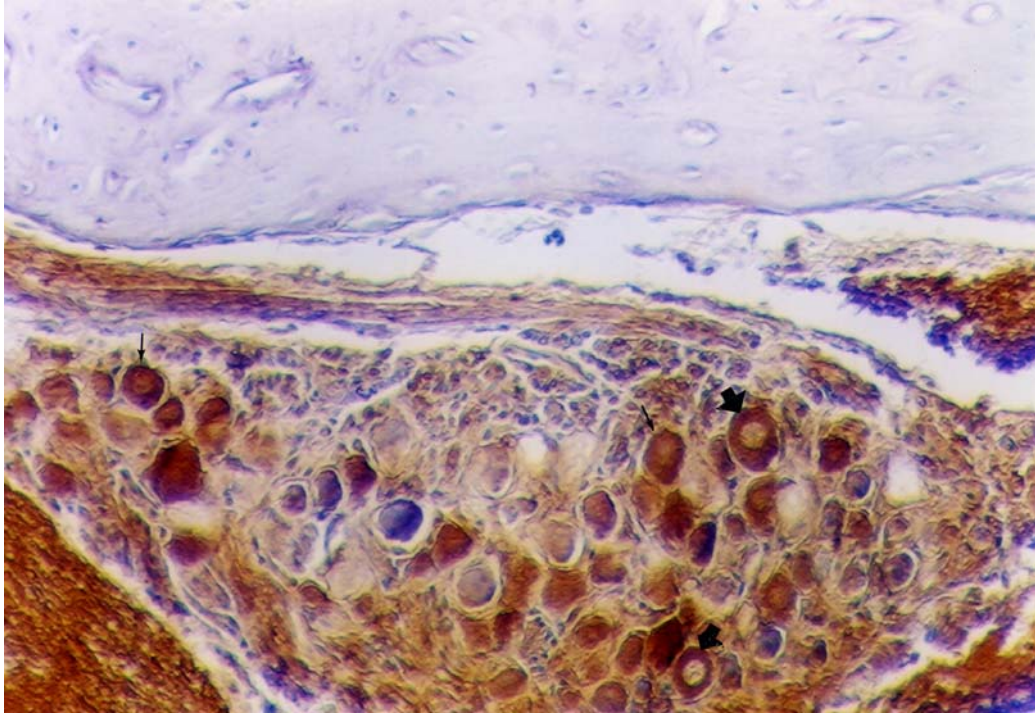
Grup 5: Annesine deksametazon injekte edilen ve daha sonra gürültü uygulanan grupta korti organında (+) (Şekil 20, 21), stria vaskularis ve spiral ganglion hücrelerinde ise (+++) şiddetinde (Şekil 21, 22) hem sitoplazmik hemde nüklear kaspaz immün reaktivitesi ayırt edildi.



Şekil 20. Grup 5’de Korti Organındaki (+) Kaspaz İmmun Reaktivitesi (*) (HEx20)

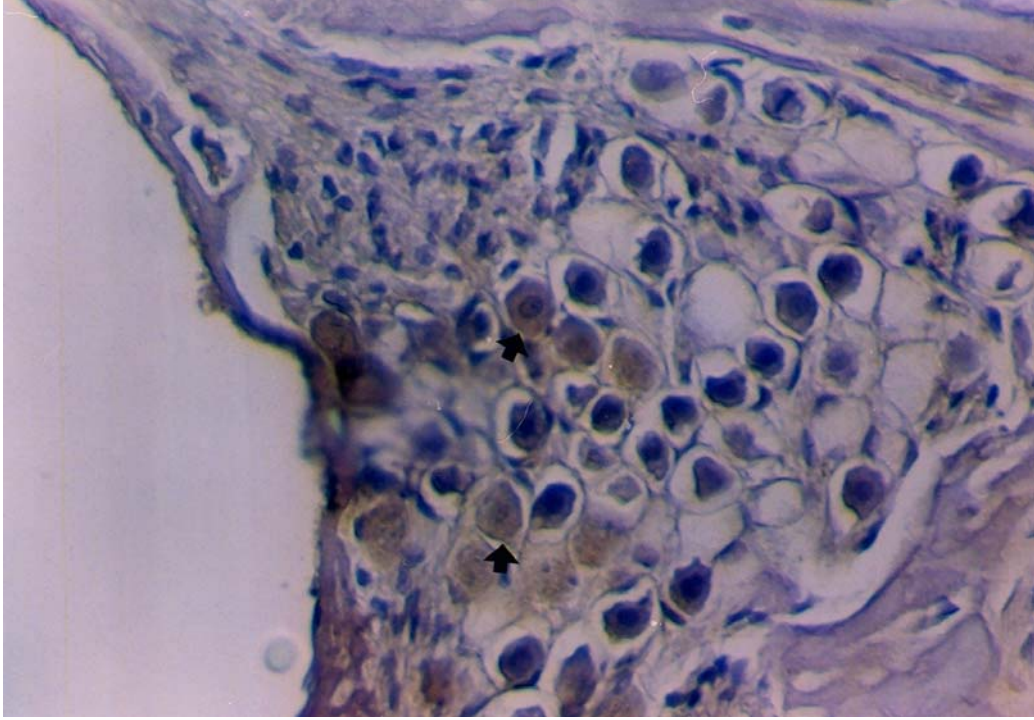


Şekil 21. Grup 5’de Stria Vaskülaristeki (ok) (+++), Korti organındaki (*) (+) Kaspaz İfadesi (HEx10)

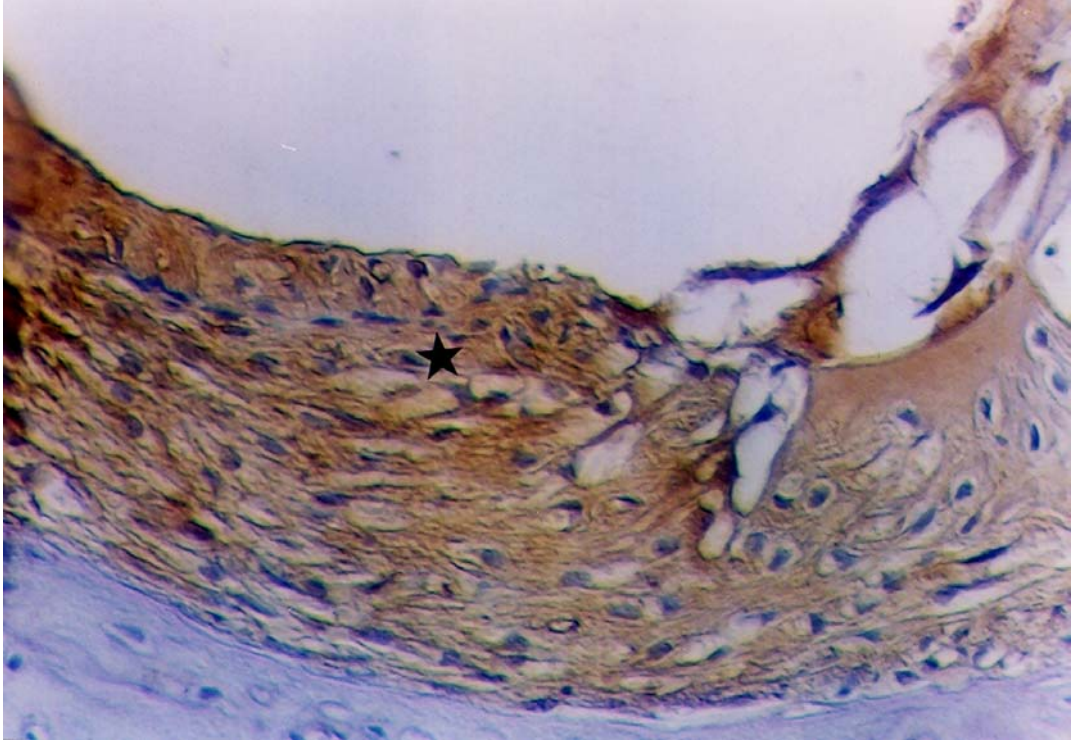


Şekil 22. Grup 5’de Spiral Ganglion Hücrelerinde Hem Sitoplazmik (kalın ok) Hemde Nüklear (ince ok) (+++) Kaspaz İmmun Reaktivitesi (HEx10)

Grup 6: Annesine deksametazon injekte edilen ve gürültü ile birlikte aminoguanidin uygulanan deneklerin korti organında kaspaz ekspresyonu gözlenmezken, spiral ganglion hücrelerinde ve stria vaskulariste (+) immün reaktivite saptandı (Şekil 23, 24).

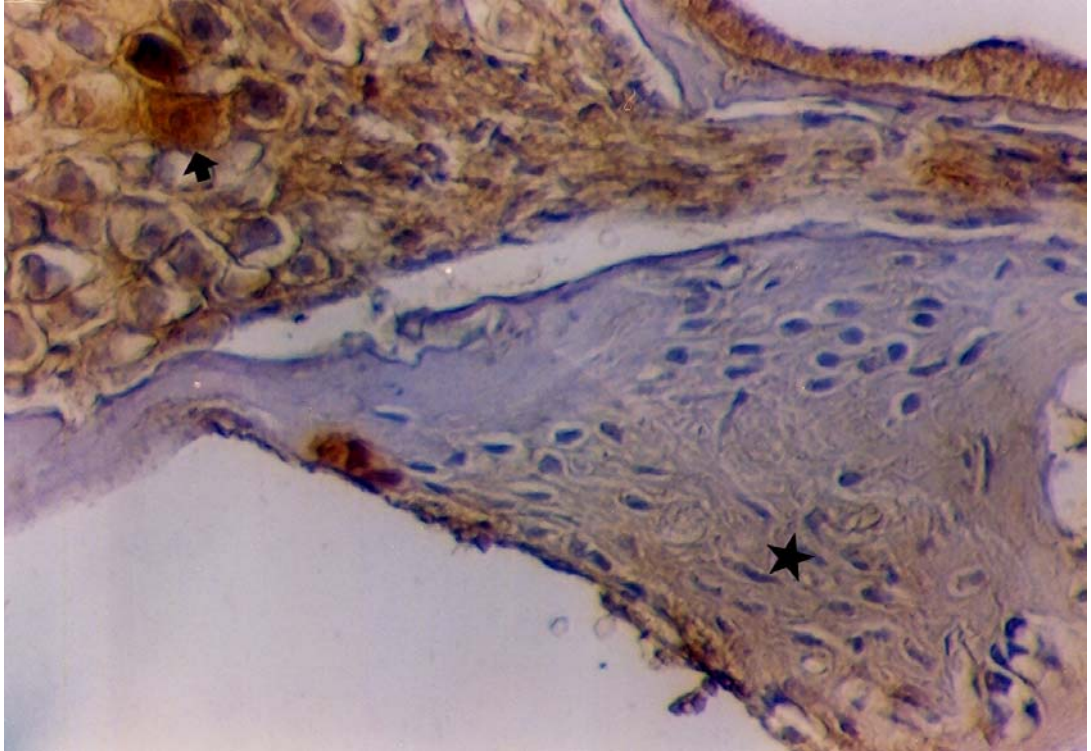


Şekil 23. Grup 6'da Spiral Ganglion Hücrelerindeki (+) İmmun Reaktivite (HEX20)

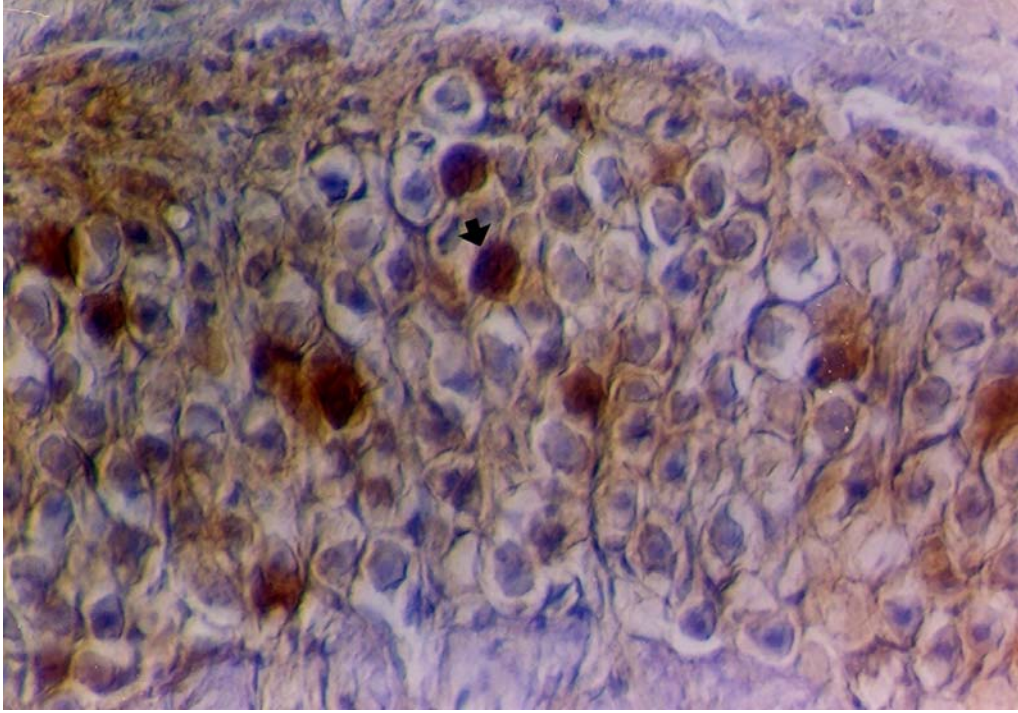


Şekil 24. Grup 6'da Stria Vaskularisteki (+) Kaspaz Reaksiyonu (*) (HEX20)

Grup 7, 8: Gürültü ve deksametazonun oluşturacağı hassaslaştırıcı etkilere karşı CAPE injekte edilen grup 7 ve EGb-761 injekte edilen grup 8 deneklerinde korti organında kaspaz ifadesi saptanmadı. Stria vaskularis ve spiral ganglion hücrelerinde ise grup 6'da olduğu gibi (+) şiddetinde kaspaz immün reaktivitesi gözlemlendi (Şekil 25, 26).



Şekil 25. Grup 7'de Korti Organında (+) Kaspaz İmmün Reaktivitesinin Yokluğu (*), Spiral Ganglion Hücrelerinde ise (+) Şiddetinde Kaspaz İfadesi (ok) Olduğu Ayırt Edilmekte (HEx20)



Şekil 26. Grup 8'de Spiral Ganglion Hücrelerindeki Kaspaz İmmun Reaksiyonu (ok)
(HEx20)

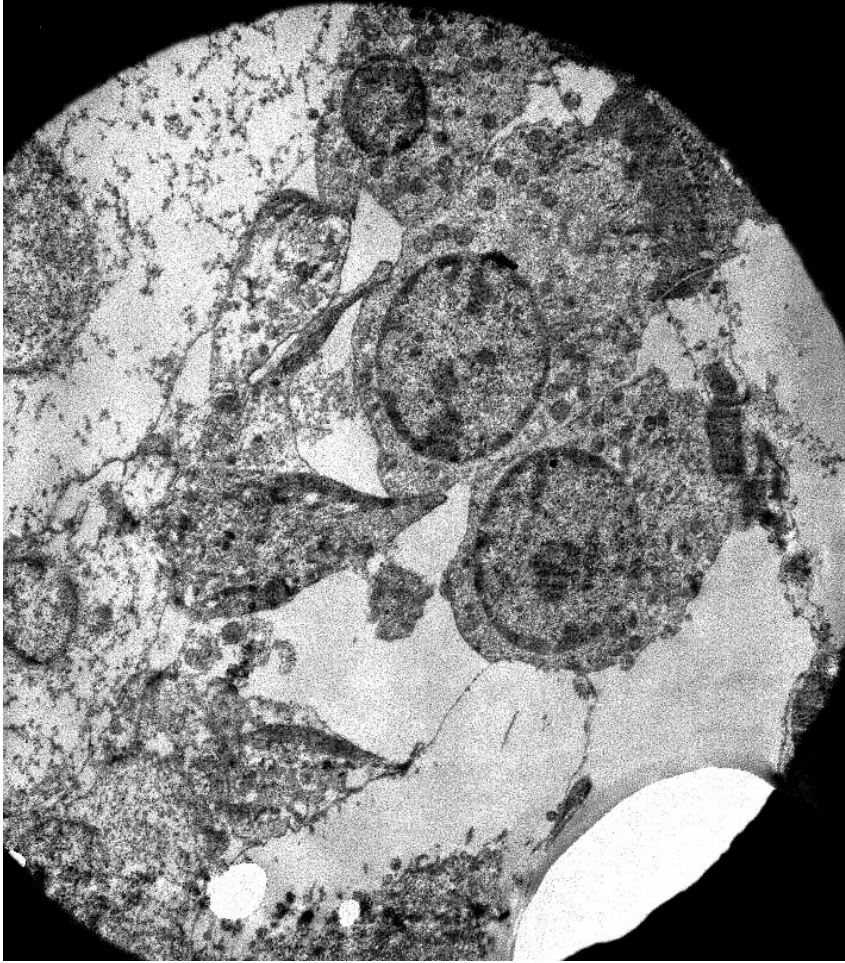
5.3 Elektron Mikroskopisi Bulguları

Grup 1: Saçlı hücrelerin ince yapısı incelendiğinde çekirdek normal görünümündedir. Sitoplazmada ise organellerin bir miktar dejenere olduğu ancak mitokondriyonların sağlıklı kaldığı izlenmektedir. Saçlı hücreler arasındaki bağlantı birimleri ise kopmuştur. Altlarındaki destek hücrelerin ise çekirdek ve sitoplazmaları sağlıklı görünümündedir. Saçlı hücre ile destek hücre bağlantısı ise zayıflamıştır. Apikal kutiküler plakaların (Apical Cuticular Plate, ACP) devamlılığında yer yer kesilme görülmektedir (Şekil 27).



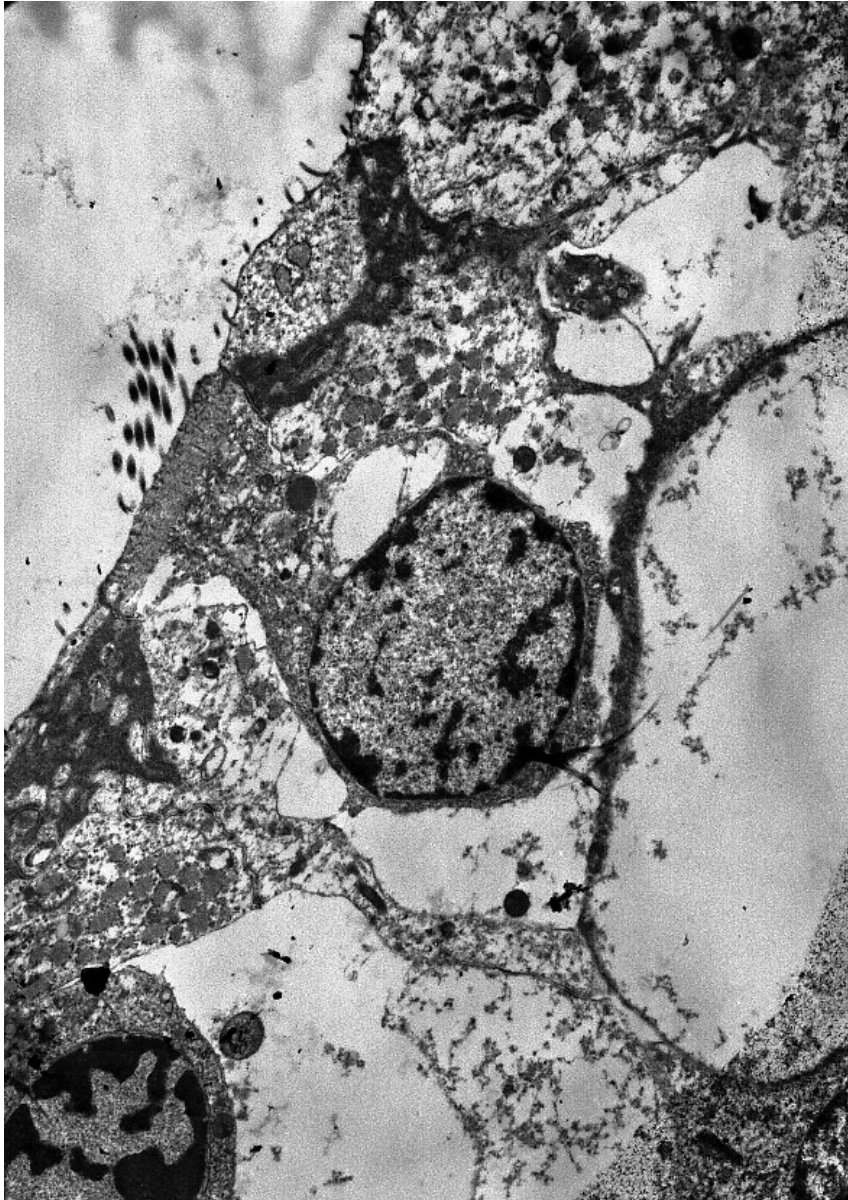
Şekil 27. Saçlı Hücreler Arasındaki Bağlantı Birimlerinin Kopması ve Sitoplazmada Organellerinde Bir Miktar Dejenerasyon (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 2: Saçlı hücrelerin çekirdek ve sitoplazmaları sağlıklı, bu hücreler arasındaki bağlantı kompleksleri sağlam olarak izlendi. Destek hücrelerin çekirdek ve sitoplazmaları normal görünümde ancak destek hücreler ile saçlı hücreler arasındaki bağlantılarda bir miktar ayrılma dikkati çekmektedir. ACP devamlılığında yer yer kesilme görülmektedir (Şekil 28).



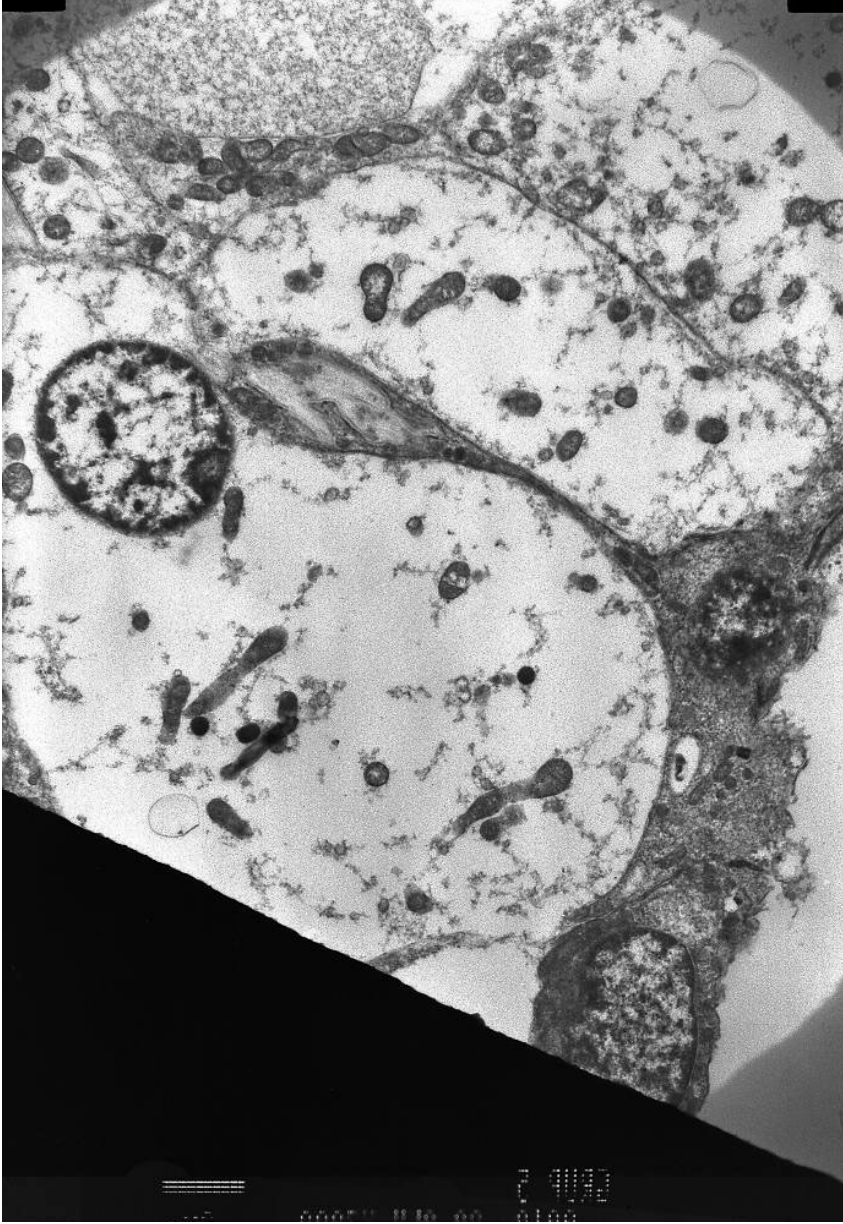
Şekil 28. Destek Hücreler ile Saçlı Hücreler Arasındaki Bağlantılarda Bir Miktar Ayrılma (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 3: Bazı saçlı hücrelerin çekirdekleri normal izlenirken komşuluğunda bulunan ve ara bağlantıları kopmuş diğer saçlı hücrelerin çekirdeklerinde apoptotik görüntüler dikkati çekmektedir. Ayrıca sitoplazmada geniş vakuoller izlenmektedir. Saçlı hücrelerin kendi aralarındaki bağlantılarda olduğu gibi destek hücreler arasındaki bağlantılarda da kopukluk izlenmektedir. Destek hücrelerde yoğun sitoliz dikkati çekmektedir (Şekil 29).



Şekil 29. Saçlı Hücrelerin Kendi Aralarındaki Bağlantılarda Kopukluk ve Destek Hücrelerde Yoğun Sitoliz (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 4: Saçlı hücre yapısı korunmuştur. Saçlı hücrelerin biribiri ve destek hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri sağlıklı olarak izlenmektedir. Destek hücrelerinde şişme ve sitoplazmasında ise az miktarda sitoliz izlenmektedir (Şekil 30).



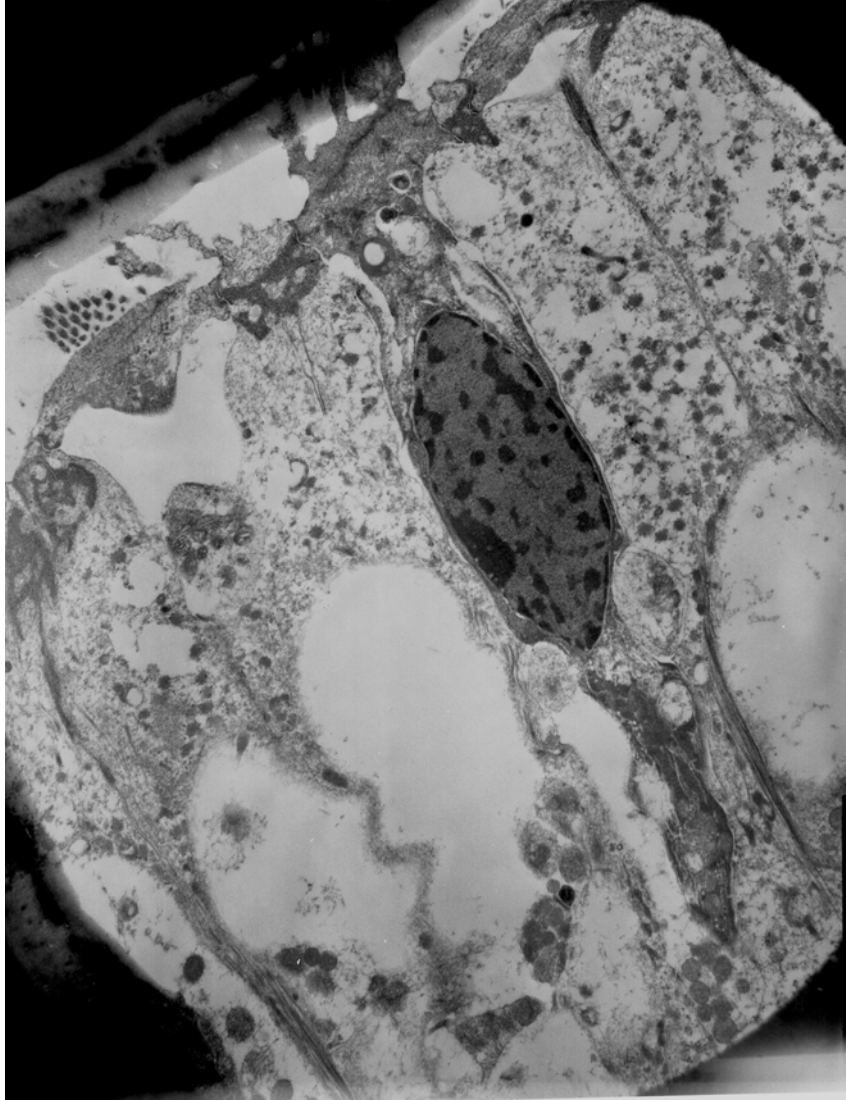
Şekil 30. Saçlı Hücrelerin Biribiri ve Destek Hücreleri Arasındaki Normal Bağlantı Kompleksleri (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 5: Saçlı hücrelerin bazılarında çekirdek normal ve sitoplazmada hafif dejenerasyon izlenirken bazı saçlı hücrelerde çekirdekte kromatin yoğunlaşması ile başlayan apoptoz dikkati çekmektedir. Saçlı hücreler arasındaki bağlantı komplekslerinde ayrılma belirgin olarak dikkati çekmektedir. Destek hücrelerinin saçlı hücrelerle bağlantı ve ilişkisi kopmuş olarak gözlenmektedir. Destek hücrelerinin sitoplazmasında organellerin tümüyle lizise uğradığı görülmektedir. ACP'de dejenerasyon ve devamlılığında bozulma belirgin olarak dikkati çekmektedir (Şekil 31).



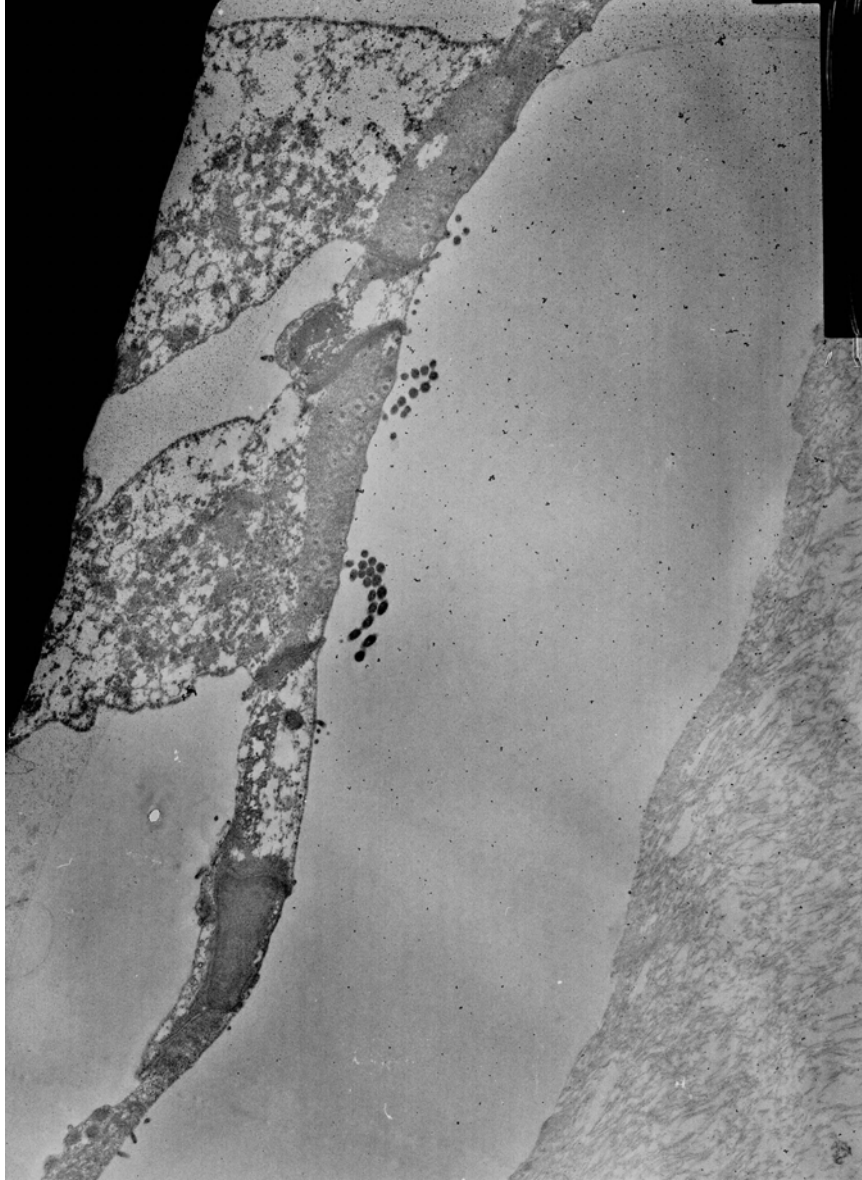
Şekil 31. Destek Hücrelerinin Saçlı Hücrelerle Bağlantı ve İlişkisinin Kopması ve Destek Hücrelerin Sitoplazmasında Organellerin Tümüyle Lizise Uğraması (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 6: Saçlı hücrelerin arasındaki bağlantı kompleksleri bütünlüğünü korumaktadır. ACP devamlılığında yer yer bozulma izlenmektedir. Destek hücrelerin saçlı hücrelerle arasındaki bağlantılarda kopukluk ve destek hücrelerdeki bozulma belirgindir (Şekil 32).



Şekil 32. Saçlı Hücreler Arasındaki Bağlantı Komplekslerindeki Devamlılık (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 7: Saçlı hücreler arası bağlantılarda kopma belirgin olarak dikkati çekmektedir. Saçlı hücrelerin çekirdek zarında erime ile birlikte çekirdekte karyoliz ve sitoplazmada sitoliz izlenmektedir (Şekil 33).



Şekil 33. Saçlı Hücreler Arası Bağlantılarda Kopma (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

Grup 8: ACP'de devamsızlık, saçlı hücreler arasındaki bağlantı komplekslerinde kopma izlenmektedir. Saçlı hücreler ile destek hücreler arasındaki bağlantı komplekslerinde de ayrılma ve destek hücrelerde dejenerasyon dikkati çekmektedir (Şekil 34).



Şekil 34. Saçlı Hücreler ile Destek Hücreler Arasındaki Bağlantı Komplekslerinde Ayrılma ve Destek Hücrelerde Dejenerasyon (uranil asetat+kurşun sitrat, orijinal büyütme x3000)

6.TARTIŞMA

Fötal çevrenin herhangi bir nedenle değişikliğe uğraması (prenatal stres, annenin beslenme durumu, ekzojen ilaç veya maddeye maruz kalınması gibi) gelişmekte olan organizmanın sonraki hayatını etkileyebilmektedir. Fakat fötusun canlılığının devamı için ortama dışarıdan müdahale gerektiren bazı durumlar sözkonusudur. Özellikle preterm doğum riski olan hamilelere ekzojen glukokortikoid verilmesinin neonatal respiratuar hastalıklar, intraventriküler hemoraji ve ölüm oranlarını azalttığı bilinmektedir (120-122). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda prenatal dönemde uygulanan glukokortikoid tedavisinin de doğumdan sonraki yaşamı etkileyen sakıncaları sözkonusu olabilmektedir. Prenatal glukokortikoid verilmesinin vücut boyutları, beyin gelişimi ve bazı erişkin hastalıkların kökeninde rol oynadığını öne süren çalışmalar mevcuttur (123-125).

Prenatal glukokortikoid tedavilerinin organizmanın strese karşı davranışsal ve endokrin entegrasyonundan sorumlu merkez olan hipotalamo-pitüiter-adrenal aks ve hipokampus üzerinde hassaslaştırıcı etkileri vardır (126).

Sentetik glukokortikoidlere prenatal dönemde maruz kalınmasının maymunlarda, insanlarda ve fötal rat beyinde nörotoksik etkileri olduğu ve erişkinlerde sistolik kan basıncının artması ile sonuçlandığı gösterilmiştir (127, 128).

Frank ve ark (129) hamile ratların fötuslarında akciğer maturasyonunu stimule etmek için 0.2 mg/kg tek doz deksametazon injeksiyonu yapmışlar ve sonra gestasyonel 19, 20 ve 21. günlerde histerostomi ile fötusları çıkardıktan sonra akciğerlerini incelemişler, akciğer ve vücut ağırlıklarının daha az olduğunu tespit etmişlerdir.

Ahlbom ve ark (126), hamile Sprague-Dawley cinsi ratlara hamileliklerinin son trimesterlerinde günlük olarak 0.1 mg/kg deksametazon vermişler ve normal zamanında dünyaya gelen yavru ratlardan elde ettikleri hücre kültürlerinde oksidatif stres oluşturmak için hidrojen peroksit (H_2O_2) ve metil civa (MeHg) ilave etmişlerdi. Sonuçta H_2O_2 ve MeHg ilave ettikleri ve deksametazon verdikleri ratların serebellar granuler hücrelerindeki apoptotik hücre sayısının kontrol grubundan fazla olduğunu tespit etmişlerdi. Çalışmamızda prenatal dönemde annesine deksametazon verilen ve oksidatif stres oluşturmak amacıyla 4 saat boyunca 110 dB gürültüye maruz bırakılan grup 5'teki deneklerin korti organı, stria vaskularis ve spiral ganglion hücrelerinde apoptotik bir işaretleyici olan kaspaz ifadesinin, deksametazona maruz kalmayan gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 19, 20, 21).

Normal şartlar altında prenatal glukokortikoid tedavisi hücreleri etkilemez. Fakat oksidatif stresi indükleyen etkenlerin varlığında apoptotik hücre ölümü artabilmektedir (126). Kulağın akustik travmaya hassasiyetinin sempatik inervasyon ablasyonu ile azaldığı gösterilmiştir. Yani sempatik sistemin stres sonucunda aktive olması ile işitme kaybını alevlenmektedir. Dekametazon verilen ratlarda stres hormonlarının yükselmesi sözkonusu olduğu için, iç kulak gürültü travmasına hassas hale gelmektedir (130). Bizim çalışmamızda prenatal dönemde ekzojen deksametazona maruz kalmış grup 5, 6, 7 ve 8'deki deneklerde gürültü uygulanmasından önce BERA ile belirlenen işitme eşikleri, gürültü uygulanmasından sonra belirlenen eşiklerden daha düşük olarak belirlendi ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu durum ekzojen steroide maruz kalınmasının, iç kulağı gürültü gibi stres oluşturan etkenlere karşı hassas hale getirdiği görüşünü desteklemektedir.

Kokleada çeşitli akustik uyarımların morfolojik hasarlara neden olduğu bilinmektedir. Şiddetli gürültü kokleada mekanik ve metabolik hasar olmak üzere iki mekanizma ile hasara yol açmaktadır. Kritik düzeyin altındaki gürültü biyokimyasal hasara ve kritik düzeyin üstündeki gürültü ise primer olarak mekanik hasara neden olmaktadır (131). Akustik overstimulasyon metabolik aktiviteyi arttırmakta ve enzimatik aktivitedeki azalma ile ilişkili enerji tüketimi artarak, kokleada disfonksiyon ve morfolojik hasar meydana gelmektedir. Bu, genellikle koklear fonksiyon için elzem olan endolenf ve intrasellüler iyon muhtevasının iyonik kompozisyonunda rol oynayan iyon değişimi enzim sistemleri ile ilgilidir (132).

Bir çok çalışmada gürültü sırasında yada sonrasında kokleada mikrosirkülasyonun azaldığı ve histolojik olarak vazokonstriksiyon, artmış vasküler permeabilite, eritrosit agregasyonu ve lokalize ödem olduğu gösterilmiştir (133, 134). Ayrıca intravital mikroskopik çalışmalarda koklear damarlarda kırmızı hücre hızında ve damar çaplarında azalma olduğu ortaya konulmuştur (134, 135). Uzamış hipoksi veya reperfüzyona cevap olarak iskemik periyot sonrasında SOR meydana gelir. Oksijen radikalleri tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu ve protein hasarı, hücre fonksiyonlarında bozulmaya ve hücrenin ölümüne neden olmaktadır (137). Serbest radikallerin yapımı ve aktivitesi koklear sensoriyal epitelde hasar oluşturarak işitme eşiği değişikliğine neden olmaktadır (137-140). Seidman ve ark (141) bir çalışmada anterior inferior serebellar arteri klemlemek suretiyle kokleada kan akımını azalttıktan sonra, kokleada hipoksi/iskemi nedeniyle oluşan

hasar sonucunda meydana gelen KAP eşik kaymalarının SOD-PEG ve allopurinol ile kısmen de olsa önlendiğini ortaya koymuşlardı.

Serbest radikal süpürücülerle gürültüye maruziyet sonucu oluşan işitsel sistem hasarının önlenebileceğine ilişkin bazı çalışmalarda rapor edilmiştir: Gürültüye maruziyeti takiben kokleada süperoksit anyon radikalleri, hidroksil radikalleri, malondialdehid (lipid peroksidasyon indikatörü) ve 8-isoprostan (SOR indikatörü) üretimi olmakta ve seviyeleri artmaktadır (34). Gürültüye maruziyet bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırır (142). Kokleada glutatyon seviyelerindeki azalma ya L-buthionine-[S,R]-sulfoxime (glutatyon sentezi inhibitörü) yada proteinden fakir diet, gürültünün neden olduğu koklear hasarı güçlendirir (143).

Rybalko ve ark (144), 20 dişi pigmente ratta maturasyon sırasında gürültünün neden olduğu işitme kaybına hassasiyet durumunu çalışmış. Üç, dört, beş ve altı haftalık genç ratlar bir saat boyunca 120 dB SPL geniş band gürültüye maruz bırakılmıştı. Eşikler ve orta latensi cevapları kaydedilmişti. Genç ratlardaki gürültü maruziyeti, adultlardakine benzer işitme eşiği paternleri göstermişti. Sonuçta ilk beş postnatal haftada ratların gürültüye daha hassas olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda sekizinci postnatal haftada gürültüye maruz bırakılan genç ratların gürültü travmasına daha hassas olduğu yapılan elektron mikroskopik incelemelerde saçlı hücreler arasındaki bağlantılarda kopmalar ve destek hücre sitoplazmalarında lizis gözlenmesi suretiyle ortaya konuldu (Şekil 30).

Hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalarda gelişmekte olan işitsel sistemin akustik travmaya, matur sistemlerden daha hassas olduğu gösterilmiştir (145). Rat modeli gelişmekte olan işitsel sistemin gürültüye hipersensitivitesinin araştırılması için uygun bir modeldir. Çünkü yenidoğan ratların kokleaları oldukça immatürdür (146). Ratlarda yapılan morfolojik çalışmalarda, ışık ve elektron mikroskopisinde, koklear yapılar ve sinaptik gelişme maturasyonunun yaşamın yaklaşık 16. gününde tamamlandığı gösterilmiştir (147). Postnatal 24. güne kadar ise koklear gelişmede minimal değişiklik olmaktadır (148). BERA ile elde edilen işitme eşikleri ise yaklaşık postnatal 24-36 günler arasında yetişkin düzeylerine gelmektedir (149). Çalışmamızdaki grup 8 deneklerinde gürültüye maruziyet sonrası herhangi bir istatistiksel farklılığın saptanamamış olması, bu deneklerde koklear gelişimin tamamlanıp, BERA sonuçlarının adult düzeylerine gelmesinden dolayı oluşmuş olabilir.

Lenoir ve ark (150) 16-100 günlük ratlara 30 dakika 120 dB gürültü uygulamışlar ve gürültü uygulandıktan yedi gün sonra 16-40 günlük ratlarda yüksek frekanslarda büyük eşik kaymaları olduğunu ve 60 veya 100 günlük ratlarda ise normal eşikler olduğunu tespit etmişlerdi. Freeman ve ark (151) 10 ve 15 günlük genç ratlara 102 dB geniş band gürültüyü 15 gün boyunca günde 12 saat uygulamışlar, fakat bu yavru ratlarda yüksek bir hassasiyet gözlemleyememişlerdi. Freeman, deneyinde genç hayvanlarda saçlı hücre hasarının yetişkin hayvanlara göre daha fazla olduğunu, buna karşın BERA ve otoakustik emisyon kayıtlarında adult hayvanlarda daha fazla değişiklik meydana geldiğini tespit etmişti (151).

Rybalko ve ark (144), 3-6 haftalık ratlarda gürültüye maruziyetten önceki işitme eşiklerini yetişkin ratlardakine benzer olduğunu tespit etmişlerdi. Tüm ratlarda gürültüye maruziyet benzer eşik kayması paternleri meydana getiriyordu. Genç ratlarda gürültüye maruziyeti takiben ilk iki hafta içinde eşiklerde düzelme başlamıştı. Çalışmamızda yer alan grup 6 ve 7'deki deneklerin işitme eşiklerinin iki ay sonra düzelme eğiliminde çıkmış olması, hem verilen antioksidan ajanların etkilerine hemde bu süre içinde spontan düzelmeye bağlanabilir.

Canlon ve ark (3) deksametazon verdikleri ratlardaki koklea saçlı hücre kaybının, oksidatif stresi indükleyen gürültü verilmediği sürece normal sınırlarda olduğunu göstermişlerdi. Çalışmamızda annesine distile su verilen ve gürültü uygulanan grup 1'deki deneklerde saçlı hücre bağlantılarında kopma, destek hücrelerde lizis ve ACP devamlılığında bozulma gibi patolojilerin, ekzojen steroid verilen ve gürültü uygulanan deneklere kıyasla belirgin olarak daha az gözlemlendi (Şekil 26, 30).

Gürültüye maruziyetten sonra saçlı hücre stereosilyalarında değişiklik olmaktadır. Gürültüden hemen sonra stereosilyalar yumuşak ve sarkık hale gelmekte ve stereosilyalar arasındaki bağlantılar kaybolmaktadır (152, 153). Puel ve ark (154) göre şiddetli gürültü, primer işitsel dendritlerde destrüksiyona yol açan iç saçlı hücrelerden glutamat salınımına neden olmaktadır. Puel ve ark (154) histolojik incelemelerde işitsel dendritler arasında yeniden bağlantıların oluşmasıyla işitmenin geri dönebildiğini göstermişlerdi. Genç ratlarda bu tamir mekanizmalarının ve iç kulakta otoproteksiyondan sorumlu detoksifikasyon enzimlerin henüz gelişmemiş olmasının söz konusu hipersensitiviteye neden olduğu söylenebilir. Bizim çalışmamızda özellikle ekzojen steroid ve gürültüye maruz kalan grup 5 denekleri üzerinde yapılan elektron mikroskopik incelemelerde saçlı hücre ve ACP

devamlılığında bozulma ve destek hücrelerde lizis gibi patolojilere rastlandı (Şekil 30).

Gao ve ark (155), orta ve yüksek şiddetteki gürültünün, saçlı hücrelerdeki stereosilyalarda patolojik değişiklikler meydana getirdiğini ve ortaya çıkan eşik kaymalarının stereosilya hasarı ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdi. Çalışmamızda saçlı hücre devamlılığında bozulma gibi patolojiler oluşmuş grup 5 deneklerinde eşik kaymalarının daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 30, Tablo 4 ve 5).

Chan ve ark (156), pigmente guinea piglere impuls gürültü (154 kPa veya 174 kPa: 198 dB veya 199 dB) verdikten sonra dış saçlı hücrelerin uzunluğunda ve katılığında azalma olduğunu gözlemlemişlerdi. İki hafta sonra hücre katılık ve hücre uzunluklarında düzelmeye başlamasının, hücre tamir mekanizmalarının aktivasyonu sonucu olduğu kanısına varmışlardı.

Chan ve ark (156) impuls gürültü verdikleri tüm guinea piglerde timpanik membranda yırtılma olduğunu fakat, koklear kanama veya sensöryel epitelin iç kulakta ayrılması gibi makroskopik bir hasar belirtisi olmadığını göstermişlerdi. Bununla birlikte 1.5-10 saat boyunca impuls gürültü verdikleri deneklerde dış saçlı hücre sağkalım sürelerinin daha kısa olduğunu ve hücre popülasyonunun %70'inin permeabilize yada vakuolize olduğunu gözlemlemişlerdi. Ayrıca gürültü sonrası erken dönemde (1.5-24 saat) hücre katılığında belirgin azalma olmasının nedeninin, gürültünün dış saçlı hücrelerin mekanik özelliklerini bozması sonucunda olduğunu ileri sürmüşlerdi. Ek olarak dış saçlı hücre uzunluklarının azalmasının nedenini ise, dış saçlı hücrelerin gürültüye daha hassas olmasına bağlamışlardı. Histolojik çalışmalarda dış saçlı hücrelerde bulunan kontraktıl proteinlerin hücre şeklini etkilediği ileri sürülmüştür (157).

Yüksek şiddette impuls nedeniyle işitme kaybı olmasının nedeninin, kokleadaki metabolik ve mekanik stres arasındaki etkileşimler sonucu olduğu ileri sürülmüştür (158). 'Kritik seviye' olarak adlandırılan 120-125 dB ses basıncının metabolik hasardan mekanik hasara kaymaya yol açtığı rapor edilmiştir (159). Bununla birlikte akustik aşırı uyarılmanın intrasellüler kalsiyum seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (160). Artmış kalsiyum seviyelerinin proteolitik enzimleri aktive ederek sitoskeletal değişikliklere veya hücre hasara neden olduğu bildirilmiştir (161).

Koklear hasarı önlemek için, koklear iskemi ve reperfüzyonda etkili olan SOR giderici ve membran stabilizatörü ilaçlar kullanılmıştır. Seidman ve ark (137),

gürültünün kokleada kan akımını azalttığı ve hipoksiye yol açmak için 90 dB şiddetinde 60 saat devamlı gürültü ile koklear hasar oluşturmaya çalışmış, allopürinol ve süperoksid dismutazın bu hasar üzerine etkisini araştırmıştı. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada ilaçların kısmen etkili olduğunu, fakat ilaç almayan gruba göre anlamlı bir koruyuculuk sağlamadığını belirtmişlerdi. Bu bulgularla gürültüye bağlı işitme kaybında SOR'un koklear hasar oluşumunda etkili olduğu ve bunun ilaçlarla kısmen önlenebileceği sonucuna varmışlardı. Çalışmamızda gürültüye maruz bırakılan ve CAPE ve aminoguanidin gibi antioksidan ajan verilen grup 6 ve 7 deneklerinde işitme eşiklerinde kısmi düzelmeler elde edildi (Tablo 4 ve 5).

Yapılan bir çalışmada, CAPE'nin akut uygulanması suretiyle, I/R'nin renal lipid oksidasyonunun ve doku hasarınının suprese edildiği gösterilmiştir (162). Irmak ve ark (163), ratlarda 20 dakika bilateral karotid arter okluzyonu yapmak suretiyle iskemi oluşturmuşlar ve okluzyonu serbest bırakarakta rat beyinde reperfüzyon meydana getirmişlerdi. Reperfüzyon öncesi ise IP yoldan 10 µM CAPE ve 25 µM alfa-tokoferol vermişlerdi. Hem CAPE'nin hemde alfa-tokoferolün akut uygulanması I/R'nun indüklediği lipid peroksidasyonunu suprese ettiğini, fakat CAPE'nin alfa-tokoferole göre daha avantajlı olduğu sonucuna ulaşmışlardı. Çalışmamızda deksametazona maruz bırakıldıktan sonra gürültü verilen ve CAPE ve EGb-761 injekte edilen deneklerde (grup 7, 8) korti organında apoptotik bulgulara rastlanmamış olması, bu ajanların hassas hale gelmiş kokleada koruyucu olduklarına işaret etmektedir. CAPE'nin tavşanlarda reperfüzyonun indüklediği spinal kord hasarını azalttığını gösteren çalışmalarda mevcuttur (164).

Szabo ve ark (65), serbest radikal temizleyicilerin etkileriyle ilgili yaptığı bir araştırmada 90 dakikalık retinal arter oklüzyonu sonrasında reperfüzyon oluşturmuşlar ve 4-24 saat sonra retinadaki iyon dağılımını inceleyerek ilaçların etkisini değerlendirmişlerdi. Bu çalışmada ginkgo biloba ekstresi, allopürinol ve süperoksid dismutaz kullanmışlardı. Ginkgo biloba ekstresi ve süperoksid dismutazın iskemi-reperfüzyona bağlı Na-Ca toplanması ve K kaybını (retinal dokuda) belirgin olarak azalttığı, buna karşılık allopürinolün anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı tespit etmişlerdi. Szabo ve ark (165) retinal I/R'a bağlı iyon değişikliği üzerine süperoksid dismutaz, ginkgo biloba ekstresi ve E vitamini etkisini değerlendiren çalışmalarında bu ilaçların kullanım süresine ve doza bağlı olarak etki gösterdiğini ortaya koymuşlardı.

SOR blokerleriyle ilgili yapılan bir çalışmada Bergmann (166), guinea piglere bir saat süresince 120 dB gürültü vermiş ve terapötik ajan olarakta allopürinol ve dipridamol kullanmıştı. Bu ilaçların koruyucu etkisi olmadığını gözlemlemiştir. Bizim çalışmamızda grup 4 ve 8 deneklerinde kullanılan EGb-761'in hassas hale gelmiş koklea üzerinde koruyucu bir etkisi olduğu konusunda olumlu bir veri elde edilemedi (Tablo 4 ve 5).

Antineoplastik ajan olarak kullanılan sisplatinin yüksek frekansları içeren nörosensörial işitme kaybına yol açtığı ve bu olayda reaktif oksijen ürünlerinin rolü olduğu bilinmektedir (167). Kelly ve ark (168) ratlarda yaptıkları çalışmalarında sisplatin ototoksitesinde nitrik oksit rolü olup olmadığını, iNOS inhibitörü olan aminoguanidin uygulamak suretiyle araştırmışlardır. Ratlara sisplatin vermeden 3 gün önce ve sonra BERA yapmışlar, koklear dokularda nitrik oksit ve bir lipid peroksidasyon markerı olan malondialdehit düzeylerini çalışmışlardır. Sadece sisplatin verilen ratlarda BERA eşiklerinde anlamlı kaymalar olduğunu ve aminoguanidin verdikleri ratlarda ise eşik kaymalarının olmadığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda gürültüye maruz bırakılan ve aminoguanidin verilen grup 6 deneklerinin BERA ile yapılan işitme eşikleri tespitlerinde, gürültü öncesine kıyasla istatistiksel olarak belirgin bir düzelme olduğu belirlendi (Tablo 4 ve 5).

Sonuç olarak bütün deney gruplarında yapılan BERA sonuçlarına göre, son trimestırda ekzojen deksametazona maruz kalan ve kalmayan deneklerin BERA ile saptanan işitme eşikleri normal olarak belirlendi. Grup 5, 6 ve 7'deki deneklerin gürültü uygulamasından sonraki işitme eşiklerinin ve gürültü uygulamasından önceki işitme eşiklerinden daha yüksek olarak belirlenmiş olması ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı çıkması, ekzojen uygulanan deksametazonun kokleayı gürültü travmasına hassas hale getirdiğine işaret etmektedir. Sırasıyla aminoguanidin ve CAPE verilen grup 5 ve 6 deneklerinin işitme eşiklerinde gürültü öncesine göre düzelme elde edildiği gözlenmişken, EGb-761 verilen grup 8 deneklerinin işitme eşiklerinde herhangi bir değişme olmadığı belirlendi (Tablo 4 ve 5).

Işık mikroskopisi ile yapılan değerlendirmelerde ekzojen deksametazona maruz kalan ve gürültü uygulanan grup 5 deneklerinde korti organı, spiral ganglion hücreleri ve stria vaskularis yapılarında apoptotik bir işaretleyici olan kaspaz ifadesinin belirgin olarak arttığı tespit edildi (Şekil 19, 20, 21). Antioksidan ajan uygulanan grup 6, 7 ve 8 deneklerinde korti organında kaspaz ifadesi ayırt edilemezken, antioksidan ajan verilmeyen grup 5 deneklerine kıyasla stria vaskularis

ve spiral ganglion hücrelerinde kaspaz immün reaktivitesinin daha az olduğu gözlemlendi (Şekil 22, 23, 24, 25). Bu veriler prenatal dönemde ekzojen deksametazona maruz kalınmasının işitsel sistemi gürültü gibi stres oluşturuca etkenlere hassas hale getirdiğini düşündürmektedir. BERA bulgularımıza göre aminoguanidin ve CAPE'nin, EGb-761'den daha faydalı olduğu belirlenmişken, ışık mikroskopuyla yapılan immunohistokimyasal değerlendirmelerde her 3 ajanında yararlı olabileceği kanaatine varıldı.

Elektron mikroskopisi ile yapılan değerlendirmelerimizde de ekzojen deksametazon verilmesinin kokleayı gürültü gibi stres oluşturuca etkenlere karşı daha hassas hale getirdiği gözlemlendi. Ekzojen deksametazon ve gürültüye maruz kalan grup 5 deneklerinde saçlı hücre ve APC devamlılığında bozulma, destek hücrelerde lizis gibi bulgulara daha yoğun olarak rastlandı (şekil 30). Aminoguanidin ve EGb-761'in CAPE'ye göre kokleada meydana gelen hasarı düzeltmede daha etkili oldukları belirlendi.

7. KAYNAKLAR

1. Lucas A. Programming by early nutrition in man. In: Bock G R, Whelan J, editors. *The childhood environment and adult disease*. Chichester: John Wiley. 1991; 38-55.
2. Barbazanges A, Piazza P V, La Moal M, Maccari S. Maternal Glucocorticoids Secretion Mediates Long-Term Effects of Prenatal Stress. *J Neurosci* 1996;16:3943-3949.
3. Canlon B, Erichsen S, Nemlander E, Chen M, Hossain A, Celsi G. Alterations in the intrauterine environment by glucocorticoids modifies the developmental programme of the auditory system. *Eur J Neurosci* 2003;17: 2035-2041.
4. Celsi G, Kistner A, Aizman R, Eklof A C, Ceccatelli S, de Santiago A, Jacobson S A. Prenatal dexametasone causes oligonephronia, sodium retention, and higher blood pressure in the offspring. *Pediatr Res* 1998;44:317-322.
5. Muneoka K, Mikuni M, Ogawa T, Kitera K, Kamei K, Takigawa M, & Takahashi K.. Prenatal dexametasone exposure alters brain monoamine metabolism and adrenocortical response in rat offspring. *Am J Physiol* 1997;273: 1669-1675.
6. Weinstock M, Polytrev T, Schorer-Apelhaum D, Men D, McCarty R. Effect of prenatal stress on plasma corticosterone catecholamines in response footshock in rats. *Physiol Behav* 1998;64: 439-444.
7. Henry C, Kabbaj M, Simon H, LeMoal M, Maccari S. Prenatal stress increases the hypothalamo-pituitary-adrenal axis response in young and adult rats. *J Neuroendocrinol* 1994;6: 341-345.
8. Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cell Physiol Biochem* 2001;11: 173-186.
9. Raha S, Robinson B H. Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis. *Am J Med Genet* 2001;106: 62-70.
10. Ahlbom E, Gogvadze V, Chen M, Celsi G, Ceccatelli S. Prenatal exposure to high levels of glucocorticoids increases the susceptibility of cerebellar granule cells to oxidative stress-induced cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:14726-14730.

11. Ohlemiller K K , Wright J S, Dugan L L. Early elevation of cochlear reactive oxygen species following noise exposure. *Audiol Neurootol* 1999; 4: 229-239.
12. Hawkins JE: The role of vasoconstriction in noise-induced hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1971;80:903-913 .
13. Liu-Z. Experimental study on the mechanism of free radical in blast trauma induced hearing loss. *Chung-Hua-Erh-Yen-Hou-Ko-Tsa-Chih* 1992;27:24-26.
14. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli. Melatonin: a peroxy scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994;5: 271-276.
15. Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormon melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol* 1996;134:412-420.
16. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2001; 29-30.
17. Esmer N. Klinik Odyoloji. Ankara, Özışık Matbaacılık Ltd. Şti., 1995; 17-18.
18. Abbas PJ: Physiology of the auditory system. In: Cumming CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE. Eds. *Otolaryngology- Head Neck Surgery*, St. Louis, Mosby Year Book, 1993; 2566-2603.
19. Duckerd LG. Anotomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In: Cumming CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE. Eds. *Otolaryngology- Head Neck Surgery*, St. Louis, Mosby Year Book, 1993; 2483-2497
20. Akyıldız AN. İşitme ve denge fizyolojisi. *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi*. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara.1998;75-129.

21. Austin D: Anatomy of the ear. In: Ballenger JJ. Ed. Disease of the Nose, Throat, Ear, Head Neck. Philadelphia, Lea-Febiger, 1991; 922- 947.
22. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ear. In Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WZ, eds. Otolaryngology. Philadelphia: Saunders, 1991: 23-58.
23. Moller AR. Auditory neurophysiology. J Clin Nuerophysiol 1994;11:284-305.
24. Gelfand SA. An introduction to psychological and physiological acoustics. Hearing New York: Marcel Dekker, 1981; 1-38.
25. Santi PA, Mancini P. Cochlear anatomy and central auditory pathways. In: Cummings SW, Frederickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE, eds. Otolaryngology Hean Neck Surgery. St. Louis: Mosby YEar Book, 1993: 2885-2900.
26. Lawrence M. Inner ear physiology. In Paparella MM, Shumrick DA, eds. Otolaryngology, Philadelphia: Saunders, 1980:216-240.
27. Hebel R, Stromberg M. Anatomy of the Laboratory Rat. The Williams and Wilkins Co. 1976, 145-152.
28. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. Otolaryngol Head Neck Surg 1997;117:438-447.
29. Clark WW. Hearing: The effects of noise. Otolaryngol Head Neck Surgery 1993; 106: 669-676.
30. Ohlemiller KK, Wright JS, Dugan LL. Early elevation of cochlear reactive oxygen species following noise exposure. Audiol Neurootol 1999;4:229-236.

31. Seidman M, Bhagylaksmi G, Shivapuja BG. The protective effects of allopurinol and superoxide dismutase on noise-induced cochlear damage. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;109:1052-1056.
32. Davis H. Acoustic trauma in the guinea pig. WADC technical report 48-53., Wright Patterson Air Force Base, Ohio, 1953.
33. Lim DJ, Melnick W. Acoustic damage of the cochlea, a scanning and transmission electron microscopic observation. *Arch Otolaryngol* 1971;94: 294-305.
34. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Iguchi H, Nakagawa T. Appearance of free radicals in the guinea pig inner ear after noise-induced acoustic trauma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1995;252:504-508.
35. Quirk WS, Shivapuja Bg, Schwimmer CL, Seidman MD. Lipid peroxidation inhibitor attenuates noise induced temporary threshold shifts. *Hear Res* 1994;74:217-220.
36. Fecther LD, Liu Y, pearce TA. Cochlear protection from carbon monoxide exposure by free radical blockers in the guinea pig. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997;142:47-55.
37. Lurie MH. The degeneration and absorption of the organ of Corti in animals. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1942; 51:712-717.
38. Bohne BA. Safe level for noise exposure? *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1976;85: 711-724.
39. Karlıdağ T, Yalçın Ş, Öztürk A, Üstündağ B, Gök Ü, Kaygusuz İ, Susaman N. The role of free oxygen radicals in noise induced hearing loss: effect of melatonin and methylprednisolone. *Auris Nasus Larynx* 2002;29:147-152.
40. Kaygusuz İ, Öztürk A, Üstündağ B, Yalçın Ş. Role of free radicals in noise related hearing impairment. *Hear Res* 2001;162:43-47.

41. Barbazanges APV, Piazza ML, Moal and S Massari. Maternal glucocorticoid secretion mediates long-term effects of prenatal stress. *J Neurosci* 1996;16:3943-49.
42. Maccari S, Piazza PV, Kabbaj A, Barbazanges H, Simon and Moal ML. Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. *J Neurosci* 1995;15:110-6.
43. Whitaker-Azmitia PM. The role of serotonin and serotonin receptors in development of the mammalian nervous system. In: *Receptors in the Developing Nervous System*, edited by I S Zagon and PJ McLaughlin. London Chapman&Hall, 1993, p.43-53.
44. Meaney MJD, O'Donnell V, Viau S, Bhatnagar A, Sarrieu J, Smythe N, Shanks and Walker CD. Corticosteroid receptors in the rat brain and pituitary during development and hypothalamic-pituitary-adrenal function. In: *Receptors in the Developing Nervous System*, edited by IS Zagon and PJ McLaughlin. London: Chapman&hall, 1993, p.163-201.
45. Peters MCS, Bealieu and Barden N. Differential regulation by dexamethasone of glucocorticoid receptor messenger RNA concentrations in neuronal cultures derived from rat hypothalamus and cerebral cortex. *Cell Mol Neurobiol* 1990;10:227-235.
46. Mathews SG. Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS. *Pediatr Res* 2000;47:291-300.
47. Crowley P. Antenatal corticosteroid therapy: A metaanalysis of the randomised trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:322-335.
48. Huang WL, Beazley JA, Quinlan A, Evans SF, Newnham JP, Dunlop SA. Effects of corticosteroids on brain growth in fetal sheep. *Obstet Gynecol* 1999;94:213-218.

49. NIH Consensus development conference 1995. Effect of corticosteroids for fetal maturation and perinatal outcomes. *Am j Obstet Gynecol* 1995;173:253-344.
50. Ballard P. Scientific rationale for the use of antenatal glucocorticoids to promote fetal development. *Pediatr Rev* 2000;5:83-90.
51. Benedictson R, Calder A, Edwards C, Seckl J. Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: a key regulator of fetal glucocorticoid exposure. *Clin Endocrinol* 1997;46:161-166.
52. Whitelaw A, Thoresen M. Antenatal steroids and the developing brain. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2000;83:154-157.
53. Levitt NS, Lindsay RS, Holmes MC, Seckl JR. Dexametasone in the last week of pregnancy attenuates hippocampal glucocorticoid receptor gene expression and elevates blood pressure in the adult offspring in the rat. *Neuroendocrinology* 1996;64:412-418.
54. Dean F, Yu C, Matthews SG. Maternal glucocorticoid treatment in late gestation programs hypothalamo-pituitary-adrenal function in guinea pig offspring. *Endocrine Society, San Diego, Abstract P: 2:397.*
55. Amaral DG, Campbell MJ. Transmitter systems in the primate dentate gyrus. *Human Neurobiol* 1986;5:169-180.
56. Ballard PL, Gluckman PD, Liggins GC, Kaplan SL, Grumbach MM. Steroid and growth hormone levels in premature betametasone therapy to prevent respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 1980;14:122-127.
57. Depp R, Boehm JJ, Nosek JA, Dooley SL, Hobart JM. Antenatal corticosteroids to prevent neonatal respiratory distress syndrome: risk: versus benefit considerations. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137:338-350.

58. Bohn MC, Lauder JM. The effects of neonatal hydrocortisone on rat cerebellar development. *Dev Neurosci* 1978;1:250-266.
59. McEwen BS, Wallach G. Corticosterone binding to hippocampus: nuclear and cytosol binding in vitro. *Brain Res* 1973;57:373-86.
60. Uno H, Lohmiller L, Thieme C, Kemnitz WJ, Engle MJ, Roecker EB, Farrel PM. Brain damage induced by prenatal exposure to dexametasone in fetal rhesus macaques. I. Hippocampus. *Dev Brain Res* 1990;53:157-167.
61. Slater TF: Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984;222:1-15.
62. Erden M. Serbest radikaller. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1992;12:201-207.
63. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Temel Tıp Bilimleri Dergisi* 1989;9:1-8.
64. Aydın A, Sayal A, Işimer A. Oksijen radikalleri ve biyolojik sistemlerdeki rolü. *GATA Bülteni* 1997;39:270-274.
65. Szabo EM, Droy-Lefaix MT, Doly M, Braquet P: Modification of ischemia/reperfusion-induced ion shifts (Na, K, Ca and Mg) by free radical scavengers in the rat retina. *Ophthalmic Res* 1993;25:1-9.
66. Brent JA, Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free Radical Biochemistry. *Clinical Toxicology* 1993;31:139-171.
67. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türk Derm* 1996;30:116-122.
68. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları Konya* 1995: 3-95.

69. Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuna CD. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res* 1995;18:1-11.
70. Özdemir G: Reaktif oksijen partikülleri: Eskişehir, Roche bilimsel eserler serisi, 1993.
71. Huang T, Cheng AG, Stupak H, Liu W, Kim A, Staecker H. Oxidative stress-induced apoptosis of cochlear sensory cells: otoprotective strategies. *Int J Dev Neurosci* 2000;18: 259-270.
72. Fekete DM, Hamburger SA, Waring MT, Riedl AE. Involvement of programmed cell death in morphogenesis of the vertebrate inner ear. *Development* 1997;124:2451-2461.
73. Kruman J, Bruce-Keller AJ, Bredesen D, Waeg G. Evidence that 4-hydroxynonenal mediates oxidative stress-induced apoptosis. *J Neurosci* 1997;17:5089-5100.
74. Lamm K, Arnold W. Noise-induced cochlear hypoxia is intensity dependent, correlates with hearing loss and precedes reduction of cochlear blood flow. *Audiol Neurootol* 1996;1: 148-160.
75. Pujol R, Rebillard G, Puel JL, Lenoir M, Eyhalin M. Glutamate neurotoxicity in the cochlea: a possible consequence of ischemic or anoxic conditions occurring in ageing. *Acta Otolaryngol* 1990;476:32-36.
76. Lautermann J, Crann SA, McLaren J. Glutathione-dependent antioxidant systems in the mammalian inner ear: effects of aging, ototoxic drugs and noise. *Hear res* 1997;114: 75-82.
77. Yamasoba T, Nuttall A, Harris C, Raphael Y, Miller JM. Influence of intense sound exposure on glutathione synthesis in the cochlea. *Brn Res* 1998;804:72-78.
78. Ruth RA, Lambert PR: Auditory evoked potentials. *Clinical Audiology* 1991;24:349-370.
79. Markand ON. Brainstem auditory evoked potentials. *J Clin Neurophysiology* 1994;11: 319-342.

80. Jewett DL. Volume conducted potentials in response to auditory stimuli as detected by averaging in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1970;28:609-618.
81. Jewett DL, Williston JS: Auditory evoked far fields averaged from the scalp of humans. *Brain* 1971;94:681-696.
82. Çelik O. Gürülyüye bağlı işitme kaybında konvansiyonel odyometri ve işitsel beyinsapı cevap odyometrisi. Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 1992.
83. Markand ON, Farloe MR, Stevens JC, Edwards MK. Brainstem auditory evoked potential abnormalities with unilateral brainstem lesions demonstrated by magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 1989;46:295-299.
84. Sohmer H, Feinmesser M, Szabo G. Sources of electrocochleographic responses as studied in patients with brain damage. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1974;37:663-669.
85. Hecox K, Galambos R. Brain stem auditory evoked responses in human infants and adults. *Arch Otolaryngol* 1974;99:3-13.
86. Galambos R, Hecox KE. Clinical applications of the auditory brainstem response. *Otol Clin of North Am* 1978;11:709-722.
87. Markand ON, Lee BI, Warren C, Stoelting RK, King RD, Brown JW, Mohammed Y. Effect of hypothermia on brainstem auditory evoked potentials in humans. *Ann Neurology* 1987;22:507-513.
88. Hett DA, Smith DC, Pilkington SN, Abbott TR. Effect of temperature and cardiopulmonary bypass on the auditory evoked response. *Br J Anaesth* 1995;75:293-296.
89. Smith DI, Mills JH. Anaesthesia effects: auditory brainstem response. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989;72:412-428.
90. Bobbin RP, May JG, Lemoine RL. Effect of pentobarbital and ketamine on brainstem auditory potentials: latency and amplitude intensity functions after intraperitoneal administration. *Arch Otolaryngol* 1979;105:467-470.

91. Buller N, Laurian N, Shvili I, Laurian L, Zohar Y. Delayed brainstem auditory evoked responses in diabetic patients. *J Laryngol* 1988;102:857-860.
92. Cosmi EV, Anceschi MM, Piazzè GJ, Marionni E. Prevention of fetal and neonatal lung immaturity. *Textbook of Perinatal Medicine*. 1st ed. Carnforth, The parthenon publishing Group Ltd. 1998:1382-1392.
93. Liggins GC, Howie RN. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the RDS in premature infants. *Pediatrics* 1974;50:515-522.
94. De Kloet ER, Reul JMHM, Sutanto W. Corticosteroids and brain. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1990;15:387-394.
95. Creasy RK, Gummer BA, Liggins GC. System for predicting spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 1980;55:692-700.
96. Crowley P, Chalmers I, Keirse MJNC. The effect corticosteroid administration before preterm delivery: on delivery of the evidence from controlled trials. *Br J Obstet Gynecol* 1990;97:11-25.
97. Fessenden JD, Coling E, Schacht J. Detection and characterization of nitric oxide synthetase in the mammalian cochlea. *Brain Res* 1994;668:9-15.
98. Gosepath K, Gath I, Maurer J, Pollock JS, Amedee R, Fostermann U, Mann U. Characterization of nitric oxide synthase isoforms expressed in different structures of the guinea pig cochlea. *Brain Res* 1997;747:26-33.
99. Kelly TC, Withworth CA, Husain K, Rybak LP. Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. *Hear Res* 2003;186:10-16.
100. Muijsers RBR, Folkerts G, Henricks PAJ, Sadeghi-Hasjhin G, Nijkamp FP. Peroxynitrite: A two-faced metabolite of nitric oxide. *Life Sci* 1997;60:1833-1845.
101. Ischiropoulos H, al-Mehdi AB, Fisher AB. Reactive species in ischemic rat lung injury; contribution of peroxynitrite. *Am J Physiol* 1995;269:158-164.

102. Courdet-Masuyer C, Dalloz F, Maupoil V, Rochette L. Antioxidant properties of aminoguanidine. *Fundam Clin Pharmacol* 1999;13:535-540.
103. Yu L, Gengaro PE, Niederberger M, Burke TJ, Schrier RW. Nitric oxide: a mediator in a rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1691-1695.
104. Schulz R, Warnbolt R. Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1995;30:432-439.
105. Sakaguchi M, Furusawa S, Yokota K, Sasaki K, Takayanagi M, Takayanagi Y. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on lipid peroxide formation in liver caused by endotoxin challenge. *Pharmacol Toxicol* 2000;86:162-168.
106. Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor- κ B attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide induced colitis in rats. *J Pharmacol Experiment Ther* 2001; 915-920.
107. Natarajan K, Singh S, Burke TR, Grunberger D, Aggrawal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- α B. *Immunology* 1996;93:9090-9095.
108. Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Solomon G, Preston GA, Barrett JC. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Res* 1995;55:3576-3583.
109. Sud'ina GF, Mirzeova OK, Puskareva MA, Korshunova GA, Sumbat NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoperoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993;329:21-24.
110. Pascal C, Gonzales R, Torricelli RG. Scavenging action of propolis extract agents oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 1994;41:9-13.
111. Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, Oltz EM, Efros L, Caldwell M, Estevez V, Nakanishi K. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 1988;44:230-232.

112. Ahlemeyer B, Krieglstein J. Neuroprotective effects of Gingko biloba extract. *Cell Mol Life Sci* 2003;60:1779-1792.
113. Morgenstern C, Biermann E. The efficiency of ginkgo special extract EGb 761 in patients with tinnitus. *Int J of Clin Pharmacol and Ther* 2002;40:188-197.
114. Klien J, Chattarjee SS, Löffelholz K. Phospholipid breakdown and choline release under hypoxic conditions: inhibition by bilobalide, constituent of ginkgo biloba. *Bra REs* 1997;755:347-350.
115. Clark WM, Rinker LG, Lessov NS, Lowery SL, Cipolla MJ. Efficiency of antioxidant therapies in transient focal ischemia in mice. *Stroke* 2001;32:1000-1004.
116. Janssens D, Delaive E, Remacle J, Michiels C. Protection by bilobalide of the ischemia-induced alterations of the mitochondrial respiratory activity. *Fundam Clin Pharmacol* 2000;14:193-201.
117. Chandrasekaran K, Mehrabian Z, Spinnewyn B, Chinopoulos C, Drieu K, Fiskum G. Neuroprotective effects of bilobalide, a component of ginkgo biloba extract in global brain ischemia and excitotoxicity-induced neuronal death. *Pharmacopsychiatry* 2003;36:589-594.
118. Diamond BJ, Shiflett SC, Feiwel N, Matheis RJ, Noskin O, Richards JA, Schoenberger NE. Ginkgo biloba extract: mechanisms and clinical indications. *Arch Phys Med Rehab* 2000;81:668-678.
119. Guidetti C, Parachini S, Lucchini S, Cambieri M, Marzatico F. Prevention of neuronal cell damage induced by oxidative stress in vitro: effect different Ginkgo biloba extracts. *J Pharm Pharmacol* 2001;53:387-392.
120. Liggins G C, Howie R N. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics* 1972;50:515-525.
121. Ment L, Ehrenkranz L A, Philip A G, Duncan C C, Makuch R W. Antenatal steroids, delivery mode, and intraventricular hemorrhage in preterm infants. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:795-800.

122. Crowley P. Antenatal corticosteroid therapy: a meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:322-335.
123. Huang W L, Beazley L D, Quinlivan J A, Evans S F, Newnham J P, Dunlop S A. Effects of corticosteroids on brain growth in fetal sheep. *Obstet Gynecol* 1999;94:203-208.
124. NIH Consensus development conference 1995. Effect of corticosteroids for fetal maturation and perinatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:253-344.
125. Welberg L A M, & Seckl J R. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *J Neuroendocrinol* 2001;13:113-128
126. Ahlbom E, Gogvadze V, Chen M, Celsi G, Ceccatelli S. Prenatal exposure to high levels of glucocorticoids increases the susceptibility of cerebellar granule cells to oxidative stress-induced cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:14726-4730.
127. Reinisch JM, Simon NG, Karow WG, Gandelman R. Prenatal exposure to prednisone in humans and animals retards intruterine growth. *Science* 1978;202:436-438.
128. Benedickson R, Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, Edwards. Glucocorticoid exposure in utero: new model for hypertension. *Lancet* 1993;341:339-341.
129. Frank L, Lewis PL, Sosenko S, Iliene R. Dexametasone stimulation of fetal rat lung antioxidant enzyme activity in parallel with surfactant stimulation. *Pediatrics* 1985;75:569-574.
130. Horner KC, Giraduet F, Lucciano M. Sympathectomy improves the ear's resistance to acoustic trauma-could stress render the ear more sensitive? *Eur J Neurosci* 2001;13:405-408.
131. Spöndlin H. Anatomical changes following various noise exposures. In: Henderson D, Hamernik RP, Dosanjh DS, Mills JH. Eds. 1976, *Effects of noise on hearing*. Raven Press, New York, p. 68-89.
132. Schuknecht HF. Acoustic trauma. In: Schuknecht HF Eds. *Pathology of the ear*. 2nd edn. Lea and Febiger, Philadelphia, PA, p.289-294.

133. Axelsson A, Vertes D, Miller J. Immediate noise effects on cochlear vasculature in the guinea pig. *Acta Otolaryngol* 1981;91:237-246.
134. Vertes D, Axelsson A, Lipscomb DM. Some vascular effects of noise exposure in the chinchilla cochlea. *Acta Otolaryngol* 1979;88:45-59.
135. Quirk WS, Avinash G, Nuttall AI, Miller JM. The influence of loud sound on red blood cell velocity and blood vessel diameter in the cochlea. *Hearing Res* 1992;63:102-107.
136. Sinclair AJ, Barnet AH, Lunce J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med* 1990;43:334-344.
137. Seidman MD, Shivapuja BG. The protective effects of allopurinol and superoxide dismutase on noise-induced cochlear damage. *Otolaryngol Head Neck Surgery* 1993;109:1052-1056.
138. Taylor MD, Palmer GC, Callahan AS. Protective action by methylprednisolon, allopurinol, indomethacin against stroke-induced damage to adenylate cyclase in gerbil cerebral cortex. *Stroke* 1983;15: 329-335.
139. 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* 1995;252:504-508.
140. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Konishi K, Iguchi H, Nakagawa T, et al. The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow. *Acta Otolaryngol Suppl* 1995;519: 87-92.
141. Seidman MD, Quirk WS, Nuttall AI, Schweitzer VG. The protective effects of allopurinol and superoxide dismutase polyethylene glycol on ischemic and reperfusion-induced cochlear damage. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;105:457-463.
142. Jacono AA, Hu BH, Kopke RD, Henderson D, Van de Water TR, Steinman HM. Changes in cochlear antioxidant enzyme activity after sound conditioning and noise exposure in the chinchilla. *Hear Res* 1998;117:31-38.

143. Yamasoba TI, Nuttal AL, Harris C, Raphael Y, Miller JM. Role of glutathione in protection against noise-induced hearing loss. *Brain Res* 1998;252:82-90.
144. Rybalko N, Syka J. Susceptibility to noise exposure during postnatal development in rats. *Hearing Res* 2001;155:32-40.
145. Johansson B, Wedenberg E, Westin B. Fetal heart rate response to acoustic stimulation in relation to fetal development and hearing impairment. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71:610-615
146. Price GR. Age as a factor in susceptibility to hearing loss: young versus adult ears. *J Acoust Soc Am* 1976; 60: 886-892.
147. Lenoir M, Shnerson A, Pujol R. Cochlear receptor development in the rat with emphasis on synaptogenesis. *Anat Embryol* 1980;160:253-262.
148. Roth B, Burns V. Postnatal development of the rat organ Corti. II. Hair cell receptors and their supporting elements. *Anat Embryol* 1992;185:571-581.
149. Iwasa H, Potsic WP. Maturational change of early, middle and late components of auditory evoked responses in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1982;90:95-102.
150. Lenoir M, Bock GR, Pujol R. Supra-normal susceptibility to acoustic trauma of the rat pup cochlea. *J Physiol* 1979;75:521-524.
151. Freeman S, Khvoles R, Cherny L, Sohmer H. The effect of long term noise exposure on the developed ear in the rat. 1999;4:207-218.
152. Syka J. Experimental models of sensorineural hearing loss-effects of noise and ototoxic drugs on hearing. *Progress in Sensory Physiology*, Vol.9, Springer-Verlag, Berlin 1989 p.97-170.
153. Lim DJ. Cochlear anatomy related to cochlear micromechanics: A review. *J Acoust Soc Am* 1980;67:1686-1695.

154. Puel JL, d'Adlin C, Ruel J, Ladrech S, Pujol R. Perspective in inner ear pharmacology and clinical applications. In: Prasher D, Canlon B Eds. Cochlear pharmacology and noise trauma. 1999: NrN london, p.1-8.
155. Gao W, Ding D, Zheng X, Ruan F, Liu Y. A comparison of changes in the stereosilia between temporary and permanent hearing losses in acoustic trauma. *Hear Res* 1992;62:27-41.
156. Chan E, Suneson A, Ulfendahl M. Acoustic trauma causes reversible stiffness changes in auditory sensory cells. *Neurosci* 1998;83:961-968.
157. Slepecky NB, Ulfendahl M. Actin-binding and microtubule-associated proteins in the organ of Corti. *Hear Res* 1992;57:201-215.
158. Luz GA, Hodge DC. The recovery from impulse noise induced TTS in monkeys and man: descriptive model. *J Acoust Soc Am* 1971;49:1770-1777.
159. Henderson D, Spongr V, Subramaniam M, Campo P. Anatomical effects of impact noise. *Hear Res* 1994;76:101-117.
160. Fridberger A, Ulfendahl M. Acute mechanical overstimulation of isolated outer hair cells causes changes in intracellular calcium levels without shape changes. *Acta Otolar* 1996; 116:17-24.
161. Orrenius S, McCabe M, Nicotera P. Ca dependent mechanisms of cytotoxicity and programmed cell death. *Toxicol Lett* 1992;64:357-364.
162. Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO, Yagmurca M, Ozyurt H, Karaman A, Akyol O. The effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with alpha-tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001;29:190-193.
163. Irmak MK, Fadilloğlu E, Söğüt S, Erdoğan H, Güleç M, Özer M, Yağmurca M, Gözükara E. Effect of caffeic acid phenethyl ester alpha-tocopherol on reperfusion injury in rat brain. *Cell Biochem Funct* 2003;21:283-289.

164. A. Ilhan, U. Koltuksuz, S. Ozen, E. Uz, H. Ciralik, O. Akyol. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 1999;16:458-463.
165. Szabo ME, Droy-Lefaix MT, Doly M: Modification of reperfusion-induced ionic imbalance by free radical scavengers in spontaneously hypertensive rat retina. *Free Radic Biol Med* 1992;13:609-620.
166. Bergman K: Experiments on the medicamental treatment of the noise induced cochlear damage: The effect on the RPM of the cochlea (Guinea pig) after noise. *Arch Otorhinolaryngol* 1976;212:171-177.
167. Rybak LP, Somani S. Ototoxicity: amelioration by protection agents. *Ann NY Acad Sci* 1999;884:143-151.
168. Kelly T, Craig A, Husain K, Rybak L. Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. *Hear Res* 2003;186:10-16.

8.ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2000 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2001 yılı Mayıs ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Kliniği'nde ihtisasıma başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim.