

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GİNKGO BİLOBA EKSTRESİNİN RATLARDA GÜRÜLTÜYE
BAĞLI OLUŞAN İŞİTME KAYBINI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN
ODYOLOJİK (DPOAE VE ABR), BİYOKİMYASAL (DNA
HASARI, TAS, TOS, OSI) PARAMETRELERLE İNCELENMESİ**

Uzm. Ody. Alev PEKTAŞ

**ODYOLOJİ VE KONUŞMA BOZUKLUKLARI PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2014**

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GİNKGO BİLOBA EKSTRESİNİN RATLARDA GÜRÜLTÜYE
BAĞLI OLUŞAN İŞİTME KAYBINI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN
ODYOLOJİK (DPOAE VE ABR), BİYOKİMYASAL (DNA
HASARI, TAS, TOS, OSI) PARAMETRELERLE İNCELENMESİ**

Uzm. Ody. Alev PEKTAŞ

**ODYOLOJİ VE KONUŞMA BOZUKLUKLARI PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bilgehan BUDAK**

**ANKARA
2014**

ONAY SAYFASI

Anabilim Dalı : Odyoloji
Program : Odyoloji ve Konuşma Bozuklukları
Tez Başlığı : Ginkgo Biloba Ekstresinin Ratlarda Gürültüye Bağlı Oluşan İşitme Kaybını İyileştirici Etkisinin Odyolojik (DPOAE ve ABR), Biyokimyasal (DNA Hasarı, TAS, TOS, OSI) Parametrelerle İncelenmesi
Öğrenci Adı-Soyadı : Alev PEKTAŞ
Savunma Sınavı Tarihi : 16/12/2014

Bu çalışma jürimiz tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Gonca SENNAROĞLU
(Hacettepe Üniversitesi)

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Bilgehan BUDAK
(Hacettepe Üniversitesi)


Üye: Prof. Dr. Aydan GENÇ
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: Doç. Dr. Suna YILMAZ
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: Doç. Dr. Bülent GÜNDÜZ
(Gazi Üniversitesi)

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Ersin FADILINOĞLU
Müdür

TEŞEKKÜR

Yaşamımın her aşamasında sonsuz emekleri olan, hayatım boyunca karşılaştığım tüm güzellikleri ve zorlukları benim için anlamlı kılan, desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen annem Gülbahar PEKTAŞ'a, babam Seyfettin PEKTAŞ'a ve biricik kardeşim Aylin PEKTAŞ'a sonsuz teşekkür ederim. Bütün başarılarımın manevi destekçisi olan ve tez çalışmamın başlangıç aşamasında kaybettiğimiz sevgili anneannem Gülbeyaz TAN'a büyük minnettarlıkla teşekkür ederim. Tez çalışmama ve mesleğimize gösterdiği saygı ve sahiplenme için sevgili eşim Anders Johan Patrik SJÖSTRAND'a çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimini hiç esirgmeden benimle paylaşan danışmanım Doç. Dr. Bilgehan BÖKE BUDAK'a, tez çalışmam sırasında verdikleri sonsuz destek için tez komite üyelerim Prof. Dr. Aydan GENÇ'e ve Doç. Dr. Bülent GÜNDÜZ'e, 2011 yılında başladığım doktora eğitimimin başından sonuna kadar eğitimime katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım; Prof. Dr. Gonca SENNAROĞLU'na, Doç. Dr. Esra ÖZCEBE'ye, Doç. Dr. Esra YÜCEL'e, Doç. Dr. Maviş Emel Kulak KAYIKÇI'ya, Doç. Dr. Meral Didem TÜRKYILMAZ'a, Prof. Dr. Songül AKSOY'a, Doç. Dr. Suna YILMAZ'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam ve tez yazımım sırasında sunduğu sınırsız yardımları için Opr. Dr. Remzi Doğan'a ve tez çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen meslektaşım Uzm. Ody. Özge GEDİK'e teşekkür ederim.

Bilimsel Araştırma Projesi Desteği ile tezimi destekleyen Bezmialem Vakıf Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

Alev PEKTAŞ

ÖZET

Alev PEKTAŞ, Ginkgo Biloba Ekstresinin Ratlarda Gürültüye Bağlı Oluşan İşitme Kaybını İyileştirici Etkisinin Odyolojik (DPOAE ve ABR), Biyokimyasal (DNA Hasarı, TAS, TOS, OSI) Parametrelerle İncelenmesi, Odyoloji ve Konuşma Bozuklukları Programı Doktora Tezi, Ankara

Gürültüye maruziyet sonrası kandaki düzeyleri artan reaktif oksijen radikalleri, kokleada kan akımını azaltmakta ve işitme kaybına neden olmaktadır. Çalışmadaki amacımız; klinik kullanımı olan, güçlü antioksidan etkiye sahip ve 1 saat süreyle uygulanan gürültü ile oluşturulmuş GBİK üzerinde önleyici etkisi ortaya konan Ginkgo Biloba ekstresinin (1) gürültüye bağlı işitme kaybını iyileştirmedeki etkisini incelemektir.

Çalışmamızda 32 Sprague Dawley dişi rat dört gruba ayrılmıştır. Çalışmanın başlangıcında ratların elektrofizyolojik ölçümleri yapılmıştır. Grup 1'e bazal ölçümlerden sonra sadece 8 saat boyunca 100 dB SPL' de geniş band gürültü uygulanmıştır. Grup 2 'ye birinci günden başlamak üzere 21 gün boyunca sadece EGb 761 ekstresi uygulanmıştır. Grup 3'e Bazal ölçümler yapıldıktan sonra 8 saat boyunca 100 dB SPL' de geniş band gürültü uygulanmış ve birinci günden başlamak üzere 21 gün boyunca günde EGb 761 ekstresi uygulanmıştır. Grup 4'e gürültü ve/ veya herhangi bir EGb 761 uygulaması yapılmamıştır.

Çalışmanın 21 gün süren odyolojik ölçümlerin yapıldığı işitsel takip aşaması bittikten sonra biyokimyasal parametreler çalışılmıştır.

Sonuçlarımız göstermiştir ki; EGb 761 uygulaması gürültüye bağlı düşüş gösteren işitme eşikleri üzerinde iyileştirici etkiye sahiptir. Gürültüye bağlı DNA hasarı oluşmaktadır. Gürültü TOS (*Total Oxidant Status*) değerlerini yükseltmektedir. EGb 761 uygulaması gürültüye bağlı artış gösteren kan TOS düzeylerini düşürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ginkgo Biloba, Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı, rat, DPOAE, ABR, Oksidatif Stress, DNA Hasarı

ABSTRACT

Alev PEKTAŞ, Studying of Curative Effects of Ginkgo Biloba Extract on Rats with Noise Induced Hearing Loss via Audiological (DPOAE And ABR) and Biochemical (DNA Damage, TAS, TOS, OSI) Parameters, Audiology and Speech Pathology Programme, PhD Thesis, Ankara After noise exposure reactive oxygen radicals reduce blood flow in cochlea and induce hearing loss. In this study our aim is research curative effect of EGb 761 extract that is used in clinically and preventive effect has already shown on NIHL which was produced by 1 hour noise exposure (1).

32 Sprague Dawley female rats which seperated 4 groups had been included in our study. At the begining of the study electrophysiological measurements had been measured from all of rats. During 8 hours at 100 dB SPL wide band noise was exposed to Group 1 after basal measurements without EGb 761 implementation. After basal measurements, from 1 st day to 21 st day, during 21 days EGb 761 extract had given to Group 2 which didnt exposed to noise. After basal measurements Group 3 was exposed to wide band noise during 8 hours at 100 dB SPL. In this day after measurements EGb 761 extract was started to given to the group which continued during 21 days. Group 4 had never exposed to noise and / or EGb 761 extract.

After finished 21 days audiologic part of our study which includes audiologic measurements biochemical parameters were studied.

Our results showed that; EGb 761 has therapeutic effect on NIHL. Noise exposure causes DNA damage. Noise causes values of TOS get higher. Higher TOS values are getting lower by using of EGb 761.

Key Words: Ginkgo Biloba, Noise Induced Hearing Loss, Rat, DPOAE, ABR, Oxidative Stress, DNA damage

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| KISALTMALAR | iix |
| TABLolar DİZİNİ | xi |
| GRAFİKLER DİZİNİ | xiii |
| RESİMLER DİZİNİ | xiii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. İç Kulak Anatomi Ve Fizyolojisi | 3 |
| 2.2. İşitmenin Otoregülasyonu | 5 |
| 2.3. Gürültü ve İşitme | 8 |
| 2.4. Ginkgo Biloba | 12 |
| 2.5. Deney Hayvanları | 14 |
| 2.5.1. Ratlarda İşitme Organı Anatomi ve Fizyolojisi | 18 |
| 2.6. Elektrofizyolojik Testler | 19 |
| 2.6.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) | 19 |
| 2.6.2. İşitsel Beyin Sapı Cevabı (ABR) | 21 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 23 |
| 3.1. Grupların Oluşturulması ve Çalışmanın Düzenlenmesi | 23 |
| 3.2. Biyokimyasal Analizler | 24 |
| 3.3. Elektrofizyolojik Testler | 25 |
| 3.3.1. DPOAE | 25 |
| 3.3.2. ABR | 26 |
| 3.4. İstatistiksel Değerlendirme | 27 |
| 4. BULGULAR | 28 |
| 4.1. Elektrofizyolojik Bulgular | 28 |
| 4.1.1. DPOAE Bulguları | 28 |

| | |
|-----------------------------|----|
| 4.1.2. ABR Bulguları | 33 |
| 4.2. Biyokimyasal Bulgular | 37 |
| 4.3. DNA Hasarı | 39 |
| 5. TARTIŞMA | 40 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 56 |
| 7. KAYNAKLAR | 58 |
| 8. EKLER | 64 |
| Ek-1 Etik Kurul Karar Metni | 64 |

KISALTMALAR

| | | |
|-----------------------------|---|--|
| ABR | : | Auditory Brainstem Response |
| AICA | : | Anterior Inferior Cerebellar Arter |
| AP-1 | : | Activator Protein-1 |
| BLB | : | Blood Labyrentine Barrier |
| CoBF | : | Cochlear Blood Flow |
| dB | : | Decibel |
| DNA | : | Deoksiribo Nükleik Asit |
| DPOAE | : | Distortion Product Otoacoustic Emmisions |
| DTH | : | Dış Tüy Hücreleri |
| EGb 761 | : | Ginkgo Biloba Ekstresi |
| EP2, EP4 | : | E-prostanoid receptors |
| GBİK | : | Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı |
| gr | : | Gram |
| HL | : | Hearing Level |
| Hz | : | Hertz |
| İTH | : | İç Tüy Hücreleri |
| kHz | : | Kilo Hertz |
| KLB | : | Kan Labirent Bariyeri |
| mm | : | Milimetre |
| mg/dL | : | Miligram / Desilitre |
| mg/ kg | : | Miligram / Kilogram |
| mg /ml | : | Miligram / Mililitre |
| NF-kB | : | Nükleer Faktör Kappa B |
| nHL | : | normal Hearing Level |
| NIHL | : | Noice İnduced Hearing Loss |
| NO | : | Nitric Oxid |
| O ₂ ⁻ | : | Süperoksit |
| OAE | : | Oto Akustik Emisyon |
| OH ⁻ | : | Hidroksil |
| OSI | : | Oxidative Stress Index |

| | | |
|------|---|------------------------------------|
| PAF | : | Platelet Aktive Edici Faktör |
| PBS | : | Phosphate-Buffered Saline |
| PGE2 | : | Prostaglandin E2 |
| RNS | : | Reactive Nitrogen Species |
| ROS | : | Reactive Oxygen Species |
| SNİK | : | Sensöri Nöral İşitme Kaybı |
| SOR | : | Serbest Oksijen Radikalleri |
| SPL | : | Sound PressureLevel |
| TAS | : | Total Antioxidant Status |
| TOS | : | Total Oxidant Status |
| VEGF | : | Vascular Endothelial Growth Factor |
| WFS1 | : | Wolfram Sendromu Tip 1 |

TABLOLAR

| | Sayfa |
|---|-------|
| 1. Ratların Fizyolojik Özellikleri | 16 |
| 2. Grup 1'e ait DPOAE eşikleri (ortalama \pm standart sapma) | 29 |
| 3. Grup 2'ye ait ait DPOAE eşikleri (ortalama \pm standart sapma) | 30 |
| 4. Grup 3'e ait ait DPOAE eşikleri (ort alama \pm standart sapma) | 31 |
| 5. Grup 4'e ait ait DPOAE eşikleri (ortalama \pm standart sapma) | 32 |
| 6. Gruplar arasında ABR Eşiklerinin Karşılaştırılması | 37 |
| 7. Biyokimyasal Parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması (ortalama \pm Standart sapma) | 38 |

GRAFİKLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| 1. Grup 1'e ait DPOAE bulguları | 28 |
| 2. Grup 2'ye ait DPOAE Bulguları | 30 |
| 3. Grup 3'e ait DPOAE Bulguları | 31 |
| 4. Grup 4'e ait DPOAE Bulguları | 32 |
| 5. Grup 1'e ait ABR Bulguları | 33 |
| 6. Grup 2'ye ait ABR Bulguları | 34 |
| 7. Grup 3'e ait ABR Bulguları | 35 |
| 8. Grup 4'e ait ABR Bulguları | 36 |
| 9. Gruplar Arasında DNA Hasarı Parametrelerinin Karşılaştırılması | 39 |

RESİMLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| 1. Stria Vaskülaris | 4 |
| 2. Kokleanın Kanlanması | 6 |
| 3. Labaratuvar Hayvanlarının İşitme Aralıkları | 18 |
| 4. Ratlara ait DPOAE cevabı | 20 |
| 5. ABR Grafikleri; Parthasarathy ve ark (2010) | 22 |
| 6. ABR grafikleri; Aydın ve ark (2012) | 22 |
| 7. Ratlarda DPOAE ölçümü | 26 |
| 8. Ratlarda ABR ölçümü | 27 |
| 9. Gürültüye bağlı oksidatif stres oluşumu ve tetiklediği DNA hasarı ile apoptosis | 45 |
| 10. Serbest radikaller, protein ve lipidleri, mitokondrinin çalışma mekanizmasını bozarak, DNA hasarına neden olabilir | 47 |
| 11. AP-1 ve NF-kB' nin hücre ROS'a bağlı apoptozisteki rolü | 49 |
| 12. Grup 3'teki I nolu ratın bazal DPOAE grafiği | 52 |
| 13. Grup 3'teki I nolu ratın gürültü sonrası 1. gün DPOAE grafiği | 52 |
| 14. Grup 3'teki I nolu ratın gürültüde maruziyetinin ardından 21 gün Egb 761 uygulaması sonrası 21. gün DPOAE grafiği | 53 |
| 15. Grup 3'teki I nolu ratın bazal ABR grafiği | 53 |
| 16. Grup 3'teki I nolu ratın gürültü sonrası 1. gün ABR grafiği | 54 |
| 17. Grup 3'teki I nolu ratın gürültüye maruziyetinin ardından 21 gün EGb 761 uygulaması sonrası 21. gün ABR grafiği | 54 |

1. GİRİŞ

Gürültüye bağlı işitme kaybı; rekreasyonel veya mesleki gürültü maruziyeti sonrasında ortaya çıkan ve önlenebilir işitme yetersizliğidir. Presbiakuzi'den (yaşa bağlı işitme kaybı) sonra ikinci en sık karşılaşılan sensörinöral tipte işitme problemidir. GBİK yüksek frekanslarda başlar ve kronik olarak yüksek şiddetlerde sese maruziyet sonrasında derece derece diğer frekanslara doğru yayılır. Kayıp genellikle simetrik olmasına karşın bir kulağa daha yakın mesafeden ulaşan gürültüler ve siren sesi gibi gürültüler asimetrik kayıplara da neden olabilir. Akustik travma ise kısa süreli ani sese maruziyet sonucu ortaya çıkar. Gürültü tüy hücre stereosiliaları üzerine yıkıcı bir güç uygular, bu güç hücresel düzeyde metabolik bir aşırı yüklenmeye neden olur, hücre zarar görür ve ölür. Hayvan deneyleri, gürültüye bağlı tüy hücre harabiyetine serbest oksijen radikallerinin neden olduğunu göstermektedir (2).

GBİK; başlangıçta kokleadaki dış tüy hücrelerinin hasarı ve kaybıyla ilgilidir. Son yıllarda aşırı akustik uyarana maruz kalmanın iç tüy hücrelerindeki koklear sinir uçlarında hızlı ve geri dönüşü olmayan kayba, geçici eşik değişikliği sonrasında işitme eşiklerinde iyileşme olsa ve tüy hücre kaybı olmasa bile spiral ganglion hücrelerinde dejenerasyona neden olabileceği gösterilmiştir (3). Gürültü maruziyeti sonrası iç kulakta spiral ligaman, tüy hücreleri ve spiral ganglion hücrelerinde hasar görülmektedir. Tüy hücrelerinin aşırı gürültüye maruziyet sonrası 2 hafta içerisinde kademeli olarak öldüğü, spiral ganglion hücrelerinde şişmelerin olduğu bilinmektedir (4). Bu hasarların oluşabilmesi için yüksek şiddette gürültüye uzun zaman aralığında maruz kalınmış olması gerekir. Düşük şiddette bir gürültüye gün boyu maruz kalınsa bile hücresel hasarlanmalar oluşmayacaktır (5).

GBİK olan hayvan modelleri üzerindeki çalışmalarda gürültü maruziyeti sonrası oluşan koklear harabiyet iki şekilde tanımlanır. Birincisi tüy hücre stereosiliaları, sensör ve destek hücrelerin gürültü nedeniyle doğrudan mekanik travmaya maruz kalmaları sonucu tüy hücre kaybıdır, diğeri ise farklı biyokimyasal yollar aracılığıyla oluşan metabolik hasarın tüy hücre ölümünü

apoptozis (fonksiyonunu kaybetmiş hücrelerin ölümü) ya da nekrozis (hücrenin kendine has dokusunu beslenme bozukluğu nedeniyle kaybederek çürümesi) ile ortaya çıkarmasıdır. Metabolik hasarla ilgili güncel teoriler kokleada yüksek miktardaki reaktif oksijen türevlerinin ve reaktif nitrojen türevlerinin yüksek sese maruziyetle artış gösterdiğini ve takiben, apoptozis sürecinde *caspase* (apoptozis sürecinde görevli bir antijen) yayılımı ile hücre ölümü gerçekleştiğini belirtmektedir (6). Gürültüye bağlı işitme kaybı patofizyolojisi sadece mekanik doku hasarını değil gecikmiş eksitotoksik doku harabiyetini içeren ikincil doku hasarını da barındırır. Gürültüye bağlı işitme kaybının moleküler mekanizması net olarak belirlenememiş olmasına rağmen oksidatif stres faktörünün kısmi katkısı belirlenmiştir. Günümüzde aşırı gürültü uyarını durumunda iç kulakta inflamatuvar cevapların ve pro-inflamatuvar sitokinlerdeki yeniden düzenlenmenin arttığı söylenmektedir (4).

EGb 761 ekstresi kulak hastalıkları için klinik anlamda en fazla test edilmiş bitkisel terapi kaynağıdır. Klinik çalışmalar EGb 761 ekstresinin iç kulak ve bağlantılı sinir yollarını içeren bozuklukların tedavisinde değerli bir yerinin olabileceğini göstermektedir (7). Ginkgo ekstresi serbest oksijen radikali toplama, siklonükleotid fosfodiasteraz inhibisyonu, membran stabilizasyon etkisi, kan akımını artırma ve bilişsel fonksiyonları geliştirme gibi çok farklı farmakolojik özelliklere sahiptir (8). EGb 761 ekstresi; antioksidan, anti inflamatuvar özelliklere sahip bir ekstredir (9).

Yukarda verilen tüm bu bilgiler ışığında, çalışmamızda; işitme üzerinde koruyucu etkisi farklı çalışmalarla ortaya konan EGb 761'in GBİK üzerinde iyileştirici etkisini hem odyolojik hem de biyokimyasal olarak araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmanın hipotezi;

“Ginkgo Biloba ratlarda iç kulakta gürültüye bağlı oluşan hücresel düzeydeki biyokimyasal metabolizmayı düzenleyerek GBİK üzerinde iyileştirici etkiye sahiptir”.

“Gürültü; ratlarda oksidatif stres mekanizması sonucunda hücresel düzeyde DNA hasarına yol açar”.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İç Kulak Anatomi Ve Fizyolojisi

İşitme sürecinde iç kulağın anatomik, fizyolojik, biyomekanik ve biyokimyasal özellikleri oldukça önemlidir.

Kokleada bulunan korti organında sensör hücreler, dış ve iç tüy hücreleri yer alır. Dış tüy hücreleri silindirik yapıda iç tüy hücreleri armut şeklindedir. Dış tüy hücrelerinin tepelerinde yer alan sterosilialar birbirlerine özel yapılar ile bağlanırlar. Dış tüy hücre sterosilialarının uzun olanları tektorial membranın içine gömülüyken iç tüy hücre sterosilialarında bu durum söz konusu değildir. Kokleanın apikal bölgesindeki dış tüy hücreleri bazal bölgesindekilerden daha uzundur. İç tüy hücreleri tüm koklea boyunca eşit büyüklüktedir ve eşit sayıda sterosilia içerir. İç tüy hücre sterosiliaları bazal bölgede apikal bölgedeki sterosilialardan daha kısadır (10,11,12). Sensör hücrelerin yanı sıra Destek hücreleri, Deiter's hücreleri, Hensen's hücreleri, iç sınır ve iç falangeal hücreler de bulunur. Dış tüy hücreleri dış falangeal Dieters' hücreleri içine gömülüyken iç tüy hücreleri destek için iç falangeal hücrelerin matriksine gömülüdür. Falangeal süreçler hassas kütiküler tabakanın sürekliliğini sağlamak için akustik travma sırasında tüy hücrelerini yapılandırır (11, 13).

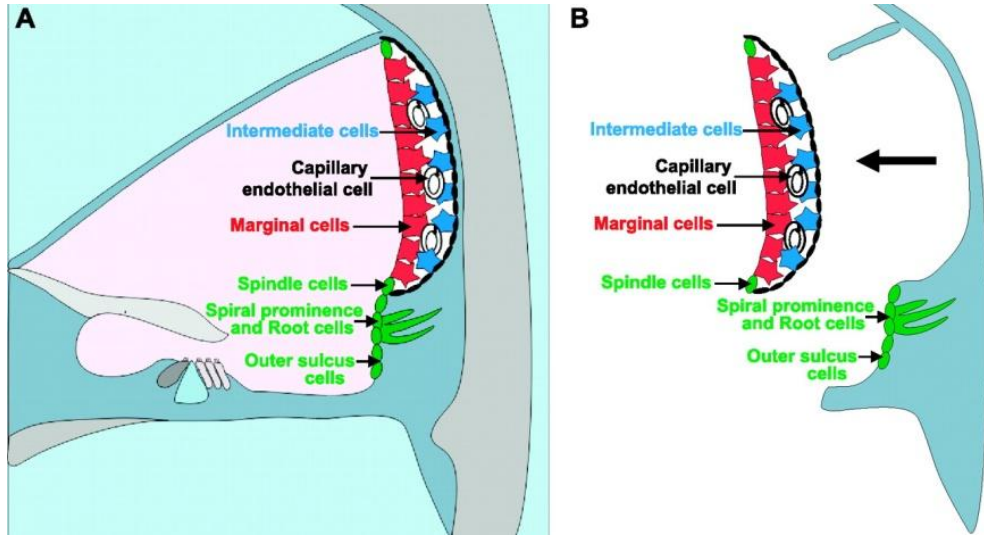
Tüy hücrelerinin uyarılması farklı mekanizmaların birlikte çalışması ile gerçekleşir. Tüy hücre siliaları tektorial membran içine gömülüdür. İlerleyen dalga basıllar membran boyunca devam ederken tüy hücrelerinin tektorial membranla hareketi göreceli olarak değişkenlik gösterir. Bu mekanizma ile basıllar membranın maksimum hareketli olduğu noktada bir makaslama hareketi açığa çıkar.

Basıllar membran skala vestibuli yönünde hareket ederse tüy hücrelerinde aktivasyon, skala timpani yönünde hareket ederse tüy hücrelerinde inhibisyon meydana gelir. Tüy hücrelerin aktivasyonu dört farklı elektriksel potansiyel oluşturur (10,11,12).

İç kulak, gelen akustik sinyalin spektral ve temporal akustik analizinden sorumludur. Spektral analiz, gelen sinyalin içerdiği farklı

frekansların tanımlanması ve çıkarılması sürecidir. Koklea, gelen bir sinyaldeki frekans komponentlerini ayırt etmek, amplitüdlerini belirlemek ve hatta temel temporal görüntüsünü tanımlamak üzere oluşmuş bir yapıdır. Bu süreç gelen akustik sinyalin işitsel işleme sürecinin ilk basamağıdır (10,11,12,13).

Koklear duvar boyunca perilenfatik ve endolenfatik boşluk arasında kan akımı açısından zengin ve mitokondri içeren stria vaskularis yer alır. Stria vaskularisin bu yapısı stria vaskulariste metabolik aktivitenin sürdürüldüğünü gösterir. Stria vaskulariste melanin içerikli hücreler de yer almaktadır. Basillar membranın yapıştığı spiral ligament stria vaskularisi destekler. Bazillar membran apekse doğru genişleyerek yerleşim gösteren konnektif doku içeren bazal bölgede apeksten daha stiff özellik gösteren bir yapıdır. Bu stiffness karakterindeki kademeli değişim sesin bazaldan apekse dalgalar halinde iletilmesinde önemlidir. Bu ilerleyen dalga hareketi sayesinde ses sensör hücrelerini harekete geçirmeden önce frekans ayrıştırma özelliğini basillar membrana sağlamaktadır (11,12).



Resim 1. Stria Vaskularis (14)

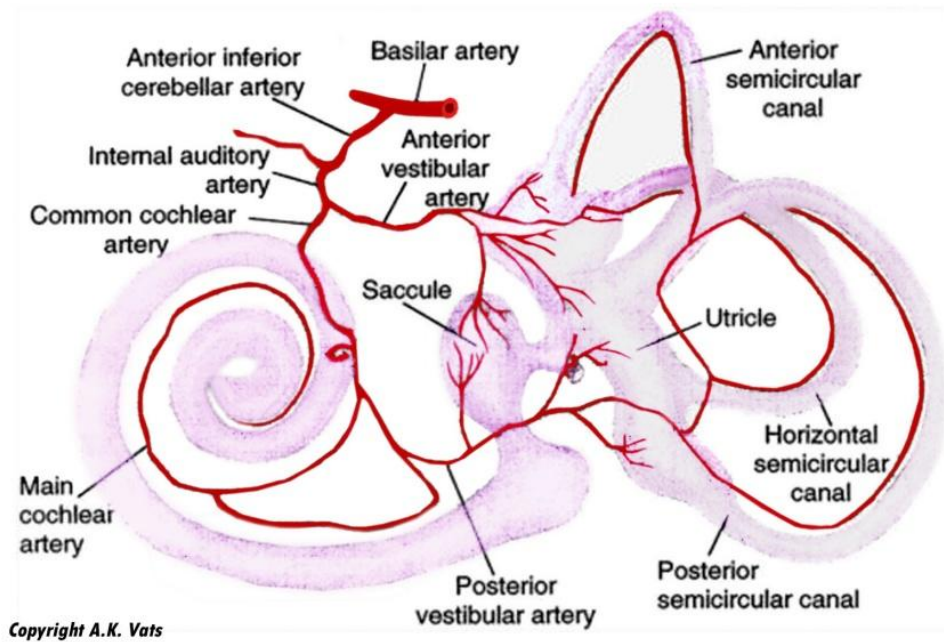
Tüy hücrelerin uyarılması işitsel işlemede önem arz eden bir çok farklı potansiyel açığa çıkarır. Uyarıcı ilişkili potansiyeller, dış tüy hücreleri tarafından uyarıcı takiben oluşturulan koklear mikrofoniği, endokoklear

potansiyel içerisinde oluşan doğrusal değişimlere bağlı oluşan sumasyon potansiyeli ve çok sayıda tüy hücresinin eş zamanlı uyarımı ile oluşan total sinir aksiyon potansiyeli olarak tanımlanır (13).

Dış tüy hücreleri silindirik yapıya sahipken iç tüy hücreleri armut şeklindedir. Tüy hücrelerinin çekirdekleri hücrenin basal ucuna yakın lokalize olmuşlardır. Periferal süreç afferent spiral gangliondan tüy hücrelerine uzanır, iç ve dış tüy hücrelerinin bazalinde sinaptik bağlantı yapar. Dış tüy hücrelerinin lateral duvarı boyunca lateral sisterna ve dış tüy hücrelerine radial rijidite sağlarken longitudinal hareket olanağı kazandıran çembersel filament halkaları uzanır. Lateral duvar membranında *prestin* olarak adlandırılan birbirleriyle bağlantılı proteinler yer alır. *Prestin*, dış tüy hücrelerine elektromotilite yeteneği sağlayan (dış tüy hücrelerinin aralarındaki voltaj değişimleri ile şekillerini değiştirebilmeleri) tek motor proteindir. Dış tüy hücrelerindeki stereosilyalar uzun stereosilya yönüne eğilince iletim kanallarından potasyum iyon akışı olur ve bu da dış tüy hücresinde aksiyel kontraksiyon açığa çıkarır. Hareketin tam tersi yönde olması hiperpolarizasyona yol açar ve hücrede aksiyel yönde uzama olur. Dış tüy hücrelerinin aksiyel hareketi asimetriktir. Uzama hareketi kasılma hareketinden daha az olur. Dış tüy hücresinin elektromotilite cevabı onlara frekans spesifik bölgede gelen sinyali yükselten bir koklear amplifikatör gibi davranma karakteri sağlar (10).

2.2. İşitmenin Otoregülasyonu

İç kulağın beslenmesi AICA (*anterior inferior cerebellar arter*)'nin bir dalı olan labirentin arter ile sağlanır (Bknz Resim 2). İç kulakta sıvı basıncının ya da sıvı hacminin artması koklear kan akışını azaltır. Perilenfatik basınç artınca endolenfatik basınç da dengenin sağlanması için artar. İç kulak basıncı göreceli olarak yükselince endolenfatik basınç koklear kan akımının azalmasıyla anoksiye karşı bir cevap olarak düşüşe geçer. Bu cevap koklear kan akımının otoregülasyonu ile ilişkilidir. Ancak artan basınç modiulus içindeki koklear kan akışını etkilememektedir (11, 15).



Resim 2. Kokleanın Kanlanması (16)

Koklea, retina, kalp ve böbreklerde olduğu gibi, kan akışını tek bir arterden aldığı için vaskülarizasyon açısından bir son organ olarak değerlendirilir. Bu şekildeki kanlanma özelliği organın herhangi bir dolaşım probleminde kolayca hasarlanabilmesine neden olmaktadır. Yetersiz koklear kan akımı aynı zamanda gürültüye bağlı işitme kaybına hassasiyeti artırır ve kokleanın doğal hasarlanma sürecini hızlandırır (17).

Gürültüye maruziyetin koklear kan akımını azalttığı bilinmektedir. Koklear iskemi, gürültüye bağlı işitme kaybı, yaşa bağlı işitme kaybı, ani sensörinöral işitme kaybı, çınlama ve meniere gibi bir çok problemle ilişkilidir (17).

Mekanik hasarın yanı sıra metabolik, vasküler ve kimyasal değişiklikler de geçici veya kalıcı işitme kaybına neden olur. Mikrovaskülarizasyon koklear fonksiyonlar açısından oldukça büyük öneme sahiptir. Koklear kan akımı (*Cochlear Blood Flow; CoBF*) işitsel fonksiyonları desteklediği gibi bir çok patolojik süreçte önemli bir role de sahiptir. Kokleaya olan normal kan akımı (kobaylarda kalp debisinin 1/10000 u kadar, insanlarda 1/1000000 u kadar) iç kulak potansiyellerinin sürdürülebilmesi ve endolenf üretimini güçlü tutmak

için ciddi anlamda önemlidir. Dahası tüy hücreleri iskemi nedeniyle kolayca hasara uğrayabilir. Koklear kan akışıyla ilgili problemler iç kulakta bir çok patofizyolojik süreci içerir. Gürültünün koklear kan akışını ve kırmızı kan hücrelerinin yoğunluğunu düşürdüğünü bildiren çalışmalar vardır (18).

Normal kan akımı ve kan labirent bariyeri (KLB (BLB; *Blood Labyrinthine Barrier*))

- endokoklear potansiyellerin güç kaybetmemesi için,
- iyon transportasyonu için,
- endolenfatik sıvı dengesinin sürdürülebilmesi için,
- toksik içeriklerin kokleaya geçişini engellemek için gereklidirler.

İç kulaktaki sıvı içeriğini koruyan, KLB'den geçişi yüksek oranda düzenlenmiş iyon transportu işitsel fonksiyonlar için gereklidir. Yetersiz kan akışı gürültüye bağlı kalıcı ve/veya geçici işitme kayıplarının mekanizmalarından birisi olarak sayılır. Mesela bir çok histolojik ve fizyolojik çalışmada gürültü sonrası kokleada lökosit infiltrasyonu ve adeziv düzenleyici molekülleri içeren dolaşımın azaldığını (kılcal damar kontraksiyonu ve koklear hipoksi) ve inflamasyonu düşündüren bulgular görülmüştür (18). Kokleadaki vasküler tonusun iki önemli düzenleyicisi, nitrik oksit (endojen vazodilatör) ve kılcal damarlara gelen sempatik nöral uyarandır (19).

Koklear dolaşımın bozulmasında etkili olduğu düşünülen parametreler;

- lateral duvardaki eksternal arterde konstrüksiyon
- kılcal damar lümenlerinde değişiklikler
- kırmızı kan hücrelerinde kümelenme
- kırmızı kan hücre hızında azalma
- kırmızı kan hücre yoğunluğunda değişim olarak belirtilmiştir (17).

Arpornchayanon ve ark. (2011) (20) gürültüye maruziyetin kırmızı kan hücresi yoğunluğunu stabil kontrol ölçümlere göre azalttığını göstermiştir. Endotel hücrelerinde gürültüye bağlı bozulmaya ek olarak gürültü vasküler endotel büyüme faktöründe ((VEBF) *vascular endothelial growth factor VEGF*; vasküler bozuklukların güçlü göstergesidir.) artışa neden olur. Dahası gürültüye maruziyet COX enzimlerinin azalmasını tetikler, bu da vasodilatör etkisi olan endojen PGE2 (*Prostaglandin E2*) reseptörünün kokleada

azalmasına neden olur. Kan akımını düzenleyici etkisi olan PGE2'nin ve EP2 ve EP4 (*E-prostanoid receptors*)'ün azalması gürültüye bağlı koklear iskeminin nedeni olabilir. Bunun yanı sıra gürültü nedeniyle bozulan KLB'yi oluşturan koklear endotelde yapısal ve moleküler değişiklikler oluşur. Gürültüye bağlı hasarı takiben KLB'ye yapısal destek oluşturan perisitlerin endotel hücreleriyle sıkı bağlantılarını kayb ettikleri görülmüştür (19).

Sürekli ya da kesikli gürültünün fizyolojik olmayan ya da potansiyel hasar düzeyinde koklear kılcak damarları konstrükte edici ve dolayısıyla koklear kan akışını azaltıcı etkisi çalışmalarla kanıtlanmıştır. Ayrıca gürültüye maruziyetin sonucunda ortaya çıkan *8-isoprostoglandin F (2 alpha)*'nin (oksidatif yaralanmalarda kanda konsantrasyonlarında artışı olmaktadır) iç kulakta kan akımını azalttığı bilinmektedir (20).

2.3. Gürültü ve İşitme

İç tüy hücreleri dış tüy hücrelerine kıyasla daha sert bir yapıya sahiptirler ve yaşlanma, ototoksik ilaç kullanımı ve gürültüye bağlı olarak dış tüy hücrelerinden daha az hasar görürler. Bu nedenle bu faktörlere bağlı oluşmuş hasarlanmalar sağırılığa değil işitme kaybına neden olurlar. Kulak kanalının amplifikasyon mekanizmasına bağlı olarak kulak 3-4 kHz bölgesindeki seslere daha hassastır. Bu nedenle en şiddetli uyarılar bu aralıktaki frekanslarda oluşurlar ve dış tüy hücreleri bu aralıktaki seslerde daha çok hasar görme riski taşırlar. Uzun süreli gürültüye maruziyet bu tüy hücrelerine zarar verir ve bu nedenle gürültüye bağlı işitme kayıplarının kendini ilk gösterdiği nokta 3-4 kHz bölgesidir (21). Akustik travmada işitme kayıpları en iyi işitilen frekanslarda ortaya çıkar. Bunlar 3-4 kHz'lerdir. Akustik travma dış kulak yolunun rezonatör etkisi, stapes refleksinin 2 kHz frekansa kadar olan sesler için geçerli olması, iç kulak bazal turunun mekanik travmaya daha kolay maruz kalması, orta kulağın alçak frekanslarda lineer özellik gösterip, yüksek frekanslarda lineer özelliğinin kaybolması gibi nedenlerden dolayı en çok 3-6 kHz arasında görülür (22).

Yüksek sese maruziyet geçici ve/veya kalıcı işitme eşik değişikliğine yol açabilir. Orta dereceli bir gürültüye kısa süreli maruziyet başlangıçta geçici eşik değişikliğine yol açacaktır. Geçici eşik değişikliği sonrasında gelişen işitme kaybı 24-48 saat içinde geriye dönebilir. Ancak geçici eşik değişiklikleri sinirde dejenerasyona neden olabilir ve yaşa bağlı işitme kaybının hızını artırabilir (23). Günlük hayatta maruz kalınan gürültünün harabiyet oluşturması için gereken şiddet ve maruziyet süreleri farklılık gösterir.

- Günlük konuşma yaklaşık 60 dB şiddetindedir ve hasar oluşturacak kadar yüksek değildir.
- Rölantide çalışan bir buldozerin sesi yaklaşık 85 dB civarındadır ve bu şiddette bir sese aralıksız 8 saat maruziyet kalıcı harabiyete neden olabilir.
- Kişisel müzik sistemleri ile kulaklık aracılığıyla en yüksek ses seviyesinde 100 dBA şiddetinde ses ortaya çıkar. Bu şiddette sese günlük 15 dakikalık maruziyet, kalıcı hasara neden olabilir.
- Silah patlaması gibi 140- 190 dB şiddetindeki sesler anında ani başlangıçlı hasara neden olabilir (5).

Kalıcı eşik değişikliğinin geri dönüşü yoktur. Gürültüye bağlı işitme kayıpları mesleki akustik travmalardan, silah patlaması gibi ani ve yüksek sesle oluşan ani işitme kayıplarından farklılıklar gösterir. Gürültüye maruziyet zamanla tüy hücrelerinin hasarlanmasına ve kaybına yol açar. Tüy hücreleri ve çevresel yapılar gelen akustik sinyallerle vibrasyon yaparlar ve bu mekanik vibrasyonu VIII. Kranial sinir fibrillerinde ateşlenme formu olan elektriksel sinyallere dönüştürürler. Şiddetli sese kronik maruziyet başlangıçta 3-6 kHz bölgesinden sorumlu dış tüy hücrelerinde harabiyete yol açar. Gürültüye maruziyet geçici eşik değişmesinin ardından devam ederse hem alçak hem yüksek frekanslı seslerin kortekse ulaştırılmasında sorunlar yaşanmasına neden olur. Gürültünün şiddeti ve maruziyet süresi arttıkça sensör organdaki hasar da artacaktır ve zamanla geri dönüşsüz hale gelecektir. Özellikle koklear kan akımı bozulabilir, tüy hücreleri giant cilialar içine diffüze olabilir ya da tamamen kaybolabilirler. Tüy hücreleri ve destek

hücrelerinin entegrasyonu bozulabilir. Ayrıca tüy hücrelerini uyaran sinir fibrilleri hasarlanabilir. Koklear sinir fibrillerinin dejenerasyonu merkezi sinir sisteminde dejenerasyon oluşur. Gürültüye maruziyet nadiren dış ve orta kulakta hasara yol açar. Bu nedenle gürültüye bağlı işitme kayıplarında genellikle normal timpanik membran ve orta kulak fonksiyonları görülür (23).

Mekanik hasarda en çok dış (DTH) ve iç tüy hücreleri (İTH) etkilenir. İşitme kaybının sebebi; stereosilya kaybı, birbirleriyle yapışmaları, kırılmaları, tektorial membrandan ayrılmalarıdır. Her ne kadar primer olarak DTH'leri etkilense de yüksek ses İTH'lerinde de hasara yol açar. Kokleada sese bağlı hasar oluşumunda bir diğer mekanizma ise metabolik hasardır. Yapılan çalışmalar sese maruziyet sonrası kokleada serbest oksijen radikalleri (SOR), lipid peroksidasyonu ve mikrodolaşım bozukluğu geliştiğini göstermiştir. SOR; süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-), peroksinitrat vb. radikallere verilen genel isimdir. Sese bağlı biyokimyasal hasar mekanizmalarından olan serbest radikal hasarı kesin ispatlanamamış olmakla birlikte yapılan çalışmalarda serbest radikal hasarını destekleyen önemli bulgular mevcuttur. Bu bulgular:

- (1) Yoğun gürültü sonrası stria vasküleriste süperoksitanyon radikalinin seviyesinde artma,
- (2) Gürültü sonrası kokleada hidroksil radikal seviyesinde artma,
- (3) Endojen antioksidan olan glutatyonda artma,
- (4) Bazı antioksidan uygulamaların gürültüye bağlı işitme kayıplarında önleyici etkilerinin olmasıdır (22).

GBİK üzerindeki önemli güncel çalışmalar işitme kaybını oluşturan hücre ölümlerinin kökeninde yatan moleküler ve biyokimyasal mekanizmayı açıklamaya çalışmaktadır. Bu mekanizmalardan en büyüğü artan metabolik aktivitenin hücrel redoks durumunda değişikliğe neden olması ve serbest radikal formlara geçmesidir. Serbest radikaller eşlenmemiş bir ya da daha fazla elektron içeren reaktif oksijen (ROS) ya da nitrojen (RNS) türevleridir. ROS/RNS'ler kısa ömürlü, stabil olmayan, yüksek reaktif atom kümeleridir. Bunlar hücrel yaşam döngüsünde çok önemlidirler ancak, fazlalıkları hücrel yağları, proteinleri ve DNA' yı hasara uğratar ve apoptotik yolları

yeniden regüle eder. Son kanıtlar gürültüye maruziyetin mitokondriyal aktiviteyi ve serbest radikal üretimini artırdığını koklear kan akışını azalttığını ve eksitotoksik nöral büyüme/şişmeye neden olduğunu ve korti organında hem nekrotik hem de apoptotik hücre ölümüne neden olduğunu göstermektedir (24).

Biyolojik ortamlardaki en önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türleridir. Bunlar çok kararsız, çok reaktif moleküllerdir. Yarı ömürleri çok kısadır. Birçok molekülle reaksiyona girerler. Bu yüzden hücrede yayılır ve üretildiği bölgedeki çok dar bir alanda büyük hasara yol açarlar. Ayrım göstermeksizin her türlü organik molekülü oksitleyebilirler. Oksidatif hasar durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondride hasar oluşmaktadır. Serbest radikallerin en önemli hedefleri lipitler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Serbest radikallerin genellikle karşılaştıkları ilk yapı hücre veya zarların lipit bileşenleridir. Sağlığa zararlı oksijen metabolitlerinden doğrudan nükleik asitler de etkilenerek baz hidroksilasyonu, DNA iplikçiklerinin çapraz bağlanması veya kırılmasına yol açabilir. Bu da hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanır. Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada Antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde hücre hasarlanmasına kadar giden birçok fizyopatolojik değişiklik ortaya çıkabilir (25).

Gürültüye bağlı iç kulak hasarının patofizyolojisine dair önerilen bir çok teori vardır. Koklear kan akışındaki azalmayla hipoksiye bağlı oksidatif stres ve kalıcı işitme kaybı uzun bir süredir ilişkilendirilmektedir. Bu konseptte iç kulak içindeki kan akışı gürültüyle baskılanır ve akabinde iç kulakta oksijen seviyesi düşer. Mitokondriyel eksitotoksitesisi, glutamat artışına ve glutatyon redüksiyonuna bağlı olarak ortaya çıkar ve hipoksiye bağlı iç kulak hasarı sürecinde rol alır. Gürültüye bağlı işitme kaybı ve reaktif oksijen türevleri arasındaki ilişki gürültüye maruz bırakılan farelerdeki ROS üretimi ve işitme kaybının anti-ROS ajanlarla tedavi edilmesi ile desteklenmiştir. Aynı

zamanda ROS son fazının başlattığı iç kulak hasarı apoptosis olarak bilinir (1).

Son çalışmalar uzun süre gürültüye maruziyetin geçici eşik kayması sonrasında koklear eşiklerde iyileşme olmasına ve dış tüy hücre kaybı olmamasına rağmen iç tüy hücrelerinde koklear sinir sonlanmalarında hızlı ve geri dönüşü olmayan kayıplara neden olduğu ve spiral gangliyon hücrelerinde yavaş bir dejenerasyon görüldüğünü belirtmektedir (3).

Kırılma noktasının üzerinde olan şiddetteki gürültüye maruziyet korti organını, afferent nöronları, stria vaskülarisi ve spiral ligamenti hasarlar. Gürültüye bağlı hasarlanma sonrası korti organ fonksiyonunun parsiyel restorasyonu ve düzeltilmesi, ölü ve hasarlanmış hücrelerin uzaklaştırılmasını gerektirir. Bu süreçte görev alan makrofajlar uzun zamandır bilinmektedir. Güncel çalışmalar; destek hücrelerinde özellikle Deiter's hücrelerinde ölü dış tüy hücrelerindeki debridleri temizlemek üzere makrofaj fonksiyonunu ortaya koymaktadırlar. Bu durumda dış tüy hücrelerinin ölümünün ardından retiküler laminanın bağlantısal uyumunu düzenlemek Deiter's hücrelerine kalmaktadır. Tüy hücrelerinin ölümünü hasarlanma şiddetlerine göre apoptosis ya da nekrozis takip etmektedir (26).

2.4. Ginkgo Biloba

Ginkgo Biloba ekstreleri Çin'de en az 5000 yıldır medikal amaçla kullanılmakta olan bir Antioksidan türevidir. Ekstrelerin Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kullanımı daha güncel yıllara rastlamaktadır. En önemli aktif kimyasal içeriği flavonoidler ve terpenoidler olarak iki gruba ayrılır. Ticari amaçla hazırlanmış içerikleri standardize edilmiş bir çok ekstre piyasada bulunmaktadır. Ginkgo Bilobanın etki mekanizmaları;

- 1) Vazoregülasyon etkisi,
- 2) Platelet aktive edici faktör antagonist etkisi (PAF, oksijen radikalleri üretiminde rol alır),
- 3) Hayvan çalışmalarında gösterilmiş, sinir hücresi metabolizmasında iyileştirici etkisi,

- 4) Serbest radikaller nedeniyle oluşan hücre membran hasarını önleme olarak belirtilebilir.

En sık karşılaşılan yan etkileri hafif derecede gastrointestinal sistemin çalışma performansında değişiklikler, mide bulantısı, baş ağrısı ve huzursuzluk olarak belirtilmektedir. Şiddetli yan etkileri nadiren belirtilmiştir (27).

Antioksidanların belirlenen ilk etkileri zar yapısında mevcut olan lipitlerin peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır. Antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidatif hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanların başlıca etki türleri;

- 1) Temizleyici Etki: Reaktif oksijen türlerinin enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi (Antioksidan enzimler)
- 2) Bastırıcı Etki: Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi (vitaminler, *flavonoidler*). Bu gruba giren maddeler reaktif oksijen türleri ile etkileşip onlara bir hidrojen vererek aktivite kaybetmelerine sebep olurlar.
- 3) Zincir Kırıcı Etki: ROS'lerini ve zincir reaksiyonlarını başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp, zincir reaksiyonlarını durdurup fonksiyonlarını önleyici etki gösterirler. Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşumu reaksiyonlarının engellenmesi (hemogloblin, mineraller).
- 4) Onarıcı Etki: Hedef moleküllerin hasar sonrası onarımı veya ortamdaki uzaklaştırılması (28).

Ginkgo Biloba (EGb 761) bazı kokleaovestibüler hastalıklarda oldukça etkilidir. EGb 761'den üretilen farmasötik içerikler kokleaovestibüler hastalıkların bitkisel terapisinde kullanılmaktadır. Otoloji alanında; EGb 761 çok faktörlü bozuklukların tedavisinde;

- 1) Kan damarları tonusu üzerindeki vazoregülasyon etkisi,
- 2) Serbest radikalleri inaktive etmesi,
- 3) Hücre membranları üzerindeki stabilizasyon etkisi,
- 4) Nöroprotektif etkisi ve
- 5) Metabolik dengeyi geliştirici etkisi nedeniyle kullanılmaktadır.

EGB 761'in vestibüler ve işitsel sistem üzerine etkileri;

- 1) Kokleadaki patolojik değişikliklerin iyileştirilmesi,
- 2) Vestibüler sensör yapının yapısal özelliklerini desteklemesi üzerinedir (29).

Gürültüye bağlı işitme kaybında nitrik oksit ve peroksinitrit benzeri serbest radikallerin (istenmeyen hücre değişimine yol açan yüksek reaktiviteye sahip moleküller) fazla üretiminden oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif hasarlanma ilaç kullanımına bağlı işitme kayıplarında da görülebilir. Ayrıca, tümör nekroz faktörü- α ve interlökin-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri açığa çıkaran akut ve kronik inflamasyon işitme organında hasarlanmaya neden olan faktörler içerisindedir (4).

2.5. Deney Hayvanları

Tarih boyunca hayvanlar tıbbi araştırmalarda çok büyük rol almışlardır. Hayvanların araştırmalarda kullanımı Yunan yazıtlarına kadar dayanmaktadır. Ancak modern anlamda hayvan çalışmaları 1800'lü yıllarda başlamıştır. İlk olarak Claude Bernard 19. yüzyılda hayvanların fizyolojik deneyler için kullanılması gerektiğini vurgulamıştır. Sonuç olarak hayvan deneyleri günümüze kadar gelişerek gelmiştir ve birçok bilim adamı yaptıkları çalışmalarla bilime katkı sağlamıştır. 1996-2001 yılları arasında fizyoloji ve tıp alanlarında altı Nobel ödülünün beşi hayvan deneylerinden elde edilen verilerle oluşturulmuş çalışmalardan olmuştur. Fizyoloji, mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji ve patoloji gibi biyomedikal bilimlerin gelişmesi için hayvan deneyleri gereklidir. Medikal ilaçların, cerrahi metotların ve bazı cihazların geliştirilip insan üzerinde uygulanması için bunların hayvan deneylerinde sınanması önemlidir. Hayvan deneyleri fizyoloji ve biyolojilerinin anlaşılmasını ve sonrasında bu verilerden hareketle insan fizyolojisi ve biyolojisine atıflar yapılmasını sağlamıştır. İnsanlardaki hastalıkları taklit eden hayvan modelleri birçok hastalığın fizyopatogenezinin anlaşılmasına, bunların teşhisine ve tedavisine katkı sağlamış ve sağlamaya da devam etmektedir (30).

Süreç içerisinde çalışmacılar hayvan deneyleri etiğini geliştirmişlerdir ve 3R kuralı olarak adlandırılan prensipleri belirlemişlerdir. Hayvan deneyleri etiği “bilimsel araştırmalarda ve benzeri uygulamalarda kullanılan deney hayvanlarının üretimlerinden ölümlerine kadar geçen süreçte onlara insanlar tarafından yapılan muamelelerin kural ve sınırlarını bilimsel ve etik ilkeler doğrultusunda tanımlanması” olarak açıklanabilir (31).

3R kuralına göre;

- 1) *Reduction* (Azaltma): Deneyde kullanılacak hayvan sayısını olabildiğince azaltma temeline dayanan prensiptir. Bunun için, deneysel teknikler geliştirilebilir, veri analiz teknikleri geliştirilebilir, elde edilen bilgiler bütün araştırmacılarla paylaşılabilir.
- 2) *Refinement* (Düzeltilme): Deneylerde hayvanların kullanım koşullarını iyileştirme esasına dayanır. Bunu sağlamak için, daha az *invaziv* teknikler kullanılabilir, daha iyi tıbbi bakım sağlanabilir, daha iyi yaşama koşulları sağlanabilir.
- 3) *Replacement* (Değiştirme): Deneysel araştırmaları mümkün olduğunca alternatif tekniklerle yürütme prensibine dayanır. Alternatif teknikler, deneylerin doku kültürleri üzerinde yapılması, bilgisayar modellerinin kullanımı, gönüllü insan çalışmalarının yapılması ve epidemiyolojik çalışmaların kullanımı olarak tanımlanabilirler (32).

Son yıllarda 3R kuralına ek olarak *Responsibility* olarak geçen ve araştırmacının hayvanlara, kamuoyuna, bilimsel camiaya ve sponsor kurumlara sorumlulukları olduğunu belirten sorumluluk prensibi de gündemdedir (31).

Türkiye’de, hayvanların deneylerde kullanımı ve bakımı ile bunlara ilişkin yöntemlerde asgari etik standartları sağlamak amacıyla, 1990’ların ikinci yarısından itibaren “Deney Hayvanı Etik Kurulları” oluşturulmaya başlanmıştır. Hayvanları Koruma Kanununun yürürlüğe girmesinin ardından, kanunun ilgili maddelerine dayanılarak 2006 yılında çıkartılan “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik” ile de, hayvanların deneylerde kullanılmasına ve Hayvan Deneyleri Etik

Kurullarının kuruluşu, çalışma yöntemi ve görevlerine ilişkin esaslar son şeklini almıştır (30).

Ratlar birçok fizyolojik ve farmakolojik çalışmada deney hayvanı olarak kullanılmaktadır. Tercih edilmesinin nedeni çabuk üreyebilmesi, deney uygulamalarında kullanımının ve bakımının kolay olması ve kısa sürede genetik açıdan benzer nitelikte gruplar oluşturulabilmesidir. Tablo 1' de ratların fizyolojik özellikleri yer almaktadır.

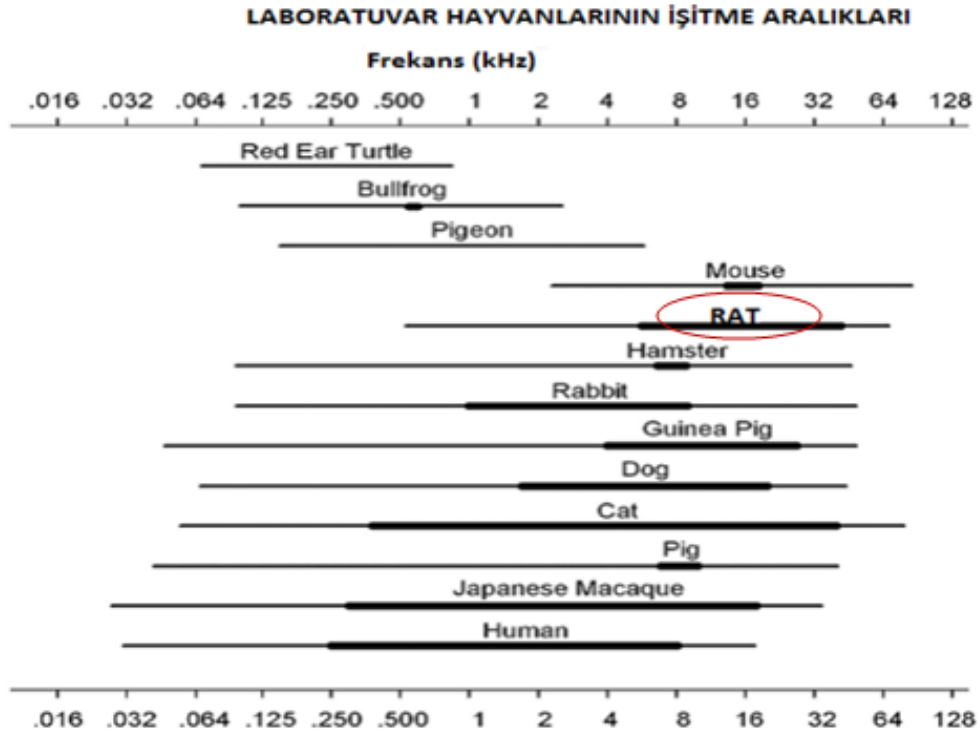
Tablo 1. Ratların Fizyolojik Özellikleri (33)

| | | | |
|-------------------------------------|---|---|---|
| Erişkin vücut ağırlığı (dişi) | 200-300 g | Eritrosit sayısı (RBC) | 5-10 x 10 ⁶ /mm ³ |
| Erişkin vücut ağırlığı (erkek) | 300-500 g | Hematokrit (PCV) | %36-57 |
| Doğum ağırlığı | 5-6 g | Hemoglobin (Hb) | 11-18 g/dl |
| Vücut yüzey alanı | 230 cm ² /50 g; 250 cm ² /130 g; 325 cm ² /200 g | Ortalama alyuvar hacmi (MCV) | 46.0-65.0 fl |
| Vücut sıcaklığı | 35.9-37.5 °C | Ortalama alyuvar Hemoglobini (MCH) | 11.9-19.0 pg |
| Yaşam süresi | 2.5-3.5 yıl | Ortalama alyuvar hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) | 25.9-35.1 g/dl |
| Gıda tüketimi | 5-6 g/100 g CA/gün | Lökosit sayısı (WBC) | 3-17 x 10 ³ /mm ³ |
| Su tüketimi | 10-12 ml/100 g CA/gün | Nötrofil | %9-34 |
| Gastrointestinal kanal geçiş zamanı | 12-24 saat | Lenfosit | %65-85 |

Tablo 1 (Devam). Ratların Fizyolojik Özellikleri (33)

| | | | |
|-------------------------------------|----------------------------|------------------------|---|
| Seksüel olgunluk (dişi) | 65-110 gün (13 hafta) | Eozinofil | %0-6 |
| Seksüel olgunluk (erkek) | 65-110 gün (13 hafta) | Monosit | %0-5 |
| Siklus uzunluğu | 4-5 gün | Bazofil | %0-1.5 |
| Östrus süresi | 14 gün | Trombosit sayısı (PLT) | 500-1300 x 10 ³ /mm ³ |
| Gebelik süresi | 21-23 gün | İdrar pH | 7.3-8.5 |
| Yavru sayısı | 6-12 | İdrar miktarı | 5.5 ml/24 saat |
| Doğurganlık süresi | 350-440 gün | İdrarın özgül ağırlığı | 1040-1070 |
| Işık periyodu (aydınlık / karanlık) | 12 / 12 | | |
| Oksijen tüketimi (250 g CA için) | 0.84 (0.68-1.10) ml/g/saat | | |
| Kalp atım sayısı | 250-500/dak | | |

İnsanlar 16 Hz - 20 kHz arasındaki frekansa sahip ses dalgalarını duyarlar. Öte yandan ratlar 250 Hz – 80 kHz arasındaki ses dalgalarına duyarlıdır. Ultrasonik ses 20 kHz üzerindeki ses dalgalarıdır. Başparmağımızı işaret parmağımıza çok hafif sürttüğümüzde oluşan ses ultrasonik bir sestir ve insan kulağı bu sesi duyamazken rat kulağı ultrasonik sesleri de duyabilmektedir (33). Resim 3'te laboratuvar hayvanlarının işitme aralıkları görülmektedir.



Resim 3. Laboratuvar Hayvanlarının İşitme Aralıkları (34)

2.5.1. Ratlarda İşitme Organı Anatomi ve Fizyolojisi

Otolojik çalışmalarda hayvan modellerinin kullanımı önemlidir ve hayvan modelinin kulak anatomisinin anlaşılması araştırma projelerinde hayvan modellerinin uygun şekilde kullanımına yardımcı olur. Bazı çalışmacılar ratları çalışmalarında pratik avantajları nedeniyle ve rat kulakları ile insan kulakları arasındaki hem anatomik hem de patolojik benzerlikleri nedeniyle kullanmışlardır (35).

Koklea ratlarda $2\frac{1}{2}$ - $2\frac{3}{4}$ turlu sarmal yapı gösterir. Koklear spiral kanal uzunluğu 9-11 mm (ortalama 9.87 mm) olarak bulunmuştur. Vestibüler ve timpanik skalalar oldukça küçük ve hem genişliği hem boyu 1 mm'nin altındadır. Koklear kanal skala timpaninin ventral duvarından gelir ve kranial kaviteye uzanır. Uzunluğu internal akustik kanal ve posterior semisirküler kanal arasında yaklaşık 2.05- 2.65 mm (ortalama 2.24mm) arasındadır. Bazal kıvrımın kalınlığı 1.75 mm olarak bulunmuştur. Kemirgenlerdeki kranial arter sistemi iyi gelişmiş karotid ve stapediyal arterlerle primitiflerdeki sisteme benzemektedir (36). Rat kokleasının bütün kıvrımlarında tektorial membran,

reissner membran korti organı ve Hensen hücreleri bulunur. Ratların korti organında iç ve dış tüy hücrelerinde V/W şekli görülür. Ayrıca dış tüy hücrelerini destekleyen Deiter's hücreleri de görülür (35).

Rat işitme sistemi doğumdan itibaren 10-12 gün içinde çevresel seslere hassas hale gelir. 2-5 hafta sonunda tam anlamıyla erişkin rat işitmesine ulaşır. Bu kritik periyod süresince frekans ve şiddet gibi akustik karakterlerin gösterimi oldukça iyi keskinlik ve hassasiyete sahiptir: Frekans ayarlama dalgası keskinleşir (*frequency-tuning curve*), hız-şiddet fonksiyonu (*rate-intensity functions*) daha az keskinleşir, monotonik olmayan hız-şiddet fonksiyonlarının yüzdesi düşer ve total ateşleme hızı artar (37).

Anatomik yapılardaki değişiklikler koklear fonksiyonları etkilemeyecektir. Ancak, kokleanın büyüklüğü farklılık olarak değerlendirildiğinde, bu durumda rez onans frekansının ve koklear hassasiyetin değişeceği düşünülür. Sese karşı olan hassasiyetteki farklılıklar değerlendirme açısından avantaj oluşturacaktır. Bu nedenle ancak bu şekildeki küçük farklılıklar fonksiyonel açıdan anlam ifade edecektir (38).

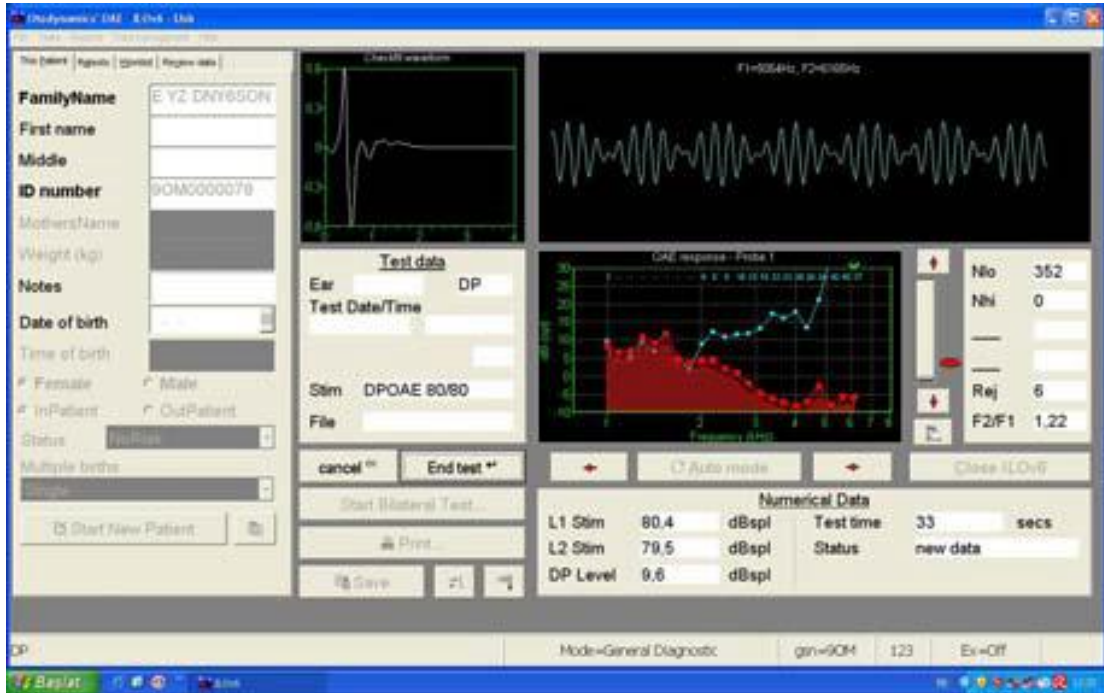
2.6. Elektrofizyolojik Testler

2.6.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE)

Otoakustik emisyonlar normal koklea fonksiyonu ile üretilen seslerdir. Alçak gürültü mikrofonlarıyla kulak kanalından kaydedilebilen zayıf seslerdir. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar iki tane eş zamanlı saf ses ile uyarılarak oluşturulurlar (39).

Bazal membran titreşimleri, uyarı şiddetindeki artışa paralel olarak orta kulaktaki doğrusal artışa karşın, doğrusal olmayan özellikler gösterir. Buna göre orta veya yüksek şiddette olan uyarılar, OAE amplitüplerinde çok kısıtlı miktarda (doğrusal olmayan tarzda) artışa yol açar. OAE amplitüd gelişimi, çoğu kulakta düşük amplitüdü uyarılar için artan uyarı amplitüdü ile doğrusal artış gösterir. Ancak uyarın şiddeti arttıkça, OAE oluşumu da doğrusal olmaz. Bu da OAE'lerin koklear orjinli olduğunu destekler. Kemirgenlerde iki tonla uyarın verilmesi sırasında yüksek seviyeli distorsiyon oluşur (40).

OAE'lar perinöral olup, stapes tabanı ile *afferent* koklear sinir liflerinin sinapsları arasında meydana gelir. İşitme kaybının olduğu frekanslarda emisyonların saptanmayıp, işitmenin normal olduğu frekanslarda emisyonun saptanması, OAE'ların koklear orjinli olduğunu gösteren bulgulardandır. En yüksek amplitüdü DPOAE'lar 2f1-f2 frekansında elde edilmektedir. Oluşan DPOAE'nun amplitüdü, stimülasyonda kullanılan tonların şiddetleri ile yakın ilişkilidir. DPOAE'lar saf ses işitme eşiklerini değerlendirmek için uygun değildirler. DPOAE'lar normal ve normale yakın orta kulak ve koklear fonksiyonun ispatını gösterir, fakat işitme eşiklerini yansıtmaz. Kokleadaki küçük fonksiyon defektleri DPOAE ile daha odyogramda belli olmadan önce yakalanabilir. Önceleri deney hayvanlarında kokleanın kısa olması nedeniyle emisyon latansının çok kısa olacağı ve emisyonların alınamayacağı iddia edilmiştir. Buna karşılık yapılan diğer çalışmalarda deney hayvanlarında emisyonlar başarıyla alınabilmiş, özellikle gürültü eşiğinin üzerinde saptanan yüksek frekans ölçümler alçak frekans ölçümlere göre ratlarda işitmeye yönelik çalışma yapmak için daha uygundur. Resim 4'te de görüldüğü gibi emisyonlar ratlarda rahatlıkla alınabilmektedir (41).



Resim 4. Ratlara ait DPOAE cevabı (41)

Kemirgenler kokleaları doğumdan sonra 16-18. günlere kadar gelişimini sürdürdüğü için işitme çalışmalarında kullanılan hayvanlardır. Bu nedenle ratlarda kokleanın gelişimsel takibi DPOAE'lar ile yapılabilir (39).

DPOAE' lar gürültüye bağlı oluşan kalıcı ve/veya geçici korti organı hasarlarında oldukça hassas cevaplardır. Bu durum DPOAE'ları tüy hücre patolojilerinin görüntülenmesinde önemli kılar. Gürültüye maruziyetin sebep olduğu ciddi anlamda dış tüy hücre harabiyeti kokleada kalıcı hasara ve DPOAE'ların amplitüdlerinde kalıcı düşmeye neden olur (42).

2.6.2. İşitsel Beyin Sapı Cevabı (ABR)

İşitsel Beyin Sapı Cevapları; işitsel uyarandan 10 ms sonrasında açığa çıkan pozitif ve negatif yönde yaklaşık 7 tane seri dalgayı içerirler (43). İşitsel beyin sapı cevapları yıllardır işitsel sistemin fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Kullanım kolaylığı ve noninvaziv bir yöntem olması nedeniyle klinikte ve deneysel çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. ABR'de farklı anatomik bölgelerden köken alan dalgaların, latans, amplitüd ve morfoloji değerlendirilmesi esastır. Yapılan çalışmalarda kemirgenlerdeki ABR ile insanlar arasında önemli farklılıklar olduğu belirtilmiştir (44).

İşitme sinirinin uzunluğu insanda 2.5 cm olarak bilinmektedir (45). Koyu renkli farelerde koklear sinir topografik ve sitolojik olarak incelenmiş ve 0,2-0,3 mm uzunluğunda olduğu belirlenmiştir (46). Ratlar deneysel çalışmalarda çok sık kullanılmalarına karşın ABR bulgularının morfolojik açıdan standardize edildiği bir çalışma bulunmamaktadır (47). Yapılan farklı çalışmalarda farklı morfolojik bulguların baz alındığı görülmektedir. Hayvanların ve insanların koklear sinir uzunluğundaki farklılık dikkate alındığında rat çalışmalarda elde edilen en yüksek amplitüdü dalganın morfolojisi ve latansı da farklı olacaktır.

Alvarado ve ark. (2012) (47) çalışmalarında Wistar ratlarda amplitüdü en yüksek dalganın II. dalga en düşük dalganın ise III. dalga olduğunu belirtmiş olmalarına karşı Parthasarathy ve ark (2010) (48) ratlar üzerinde

yaptıkları çalışmalarında en yüksek amplitüdü dalgayı III. dalga olarak adlandırdıklarını şekil üzerinde göstermişlerdir (Bknz: Resim 5).

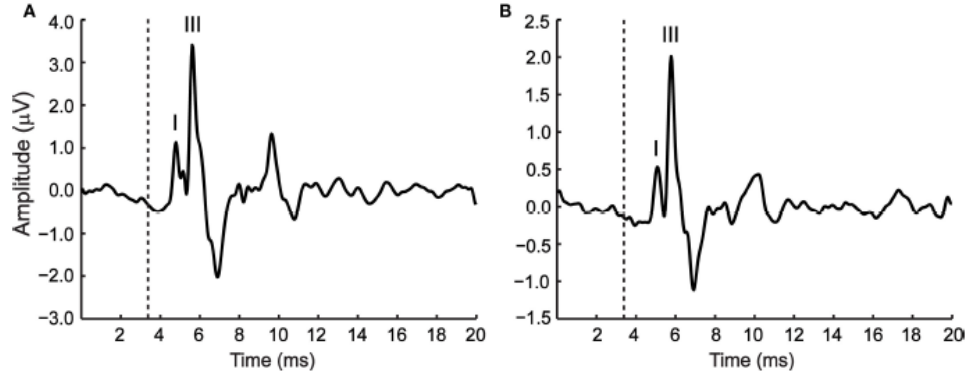


FIGURE 5 | Representative ABR waveforms from a young (A) and aged animal (B), in response to a 0.1-ms rectangular click stimulus presented at 85 dB. The first and third positive peaks are labeled wave I and wave III

respectively. The dotted line indicates stimulus onset at the ear. The time of the recording window (20 ms) is indicated along the x axis and the amplitude of the ABR along the y axis.

Resim 5. ABR Grafikleri Parthasarathy ve ark (2010) (48) 'ndan alınmıştır.

Aydın ve ark (2012) (49) wistar ratlarla yaptıkları çalışmalarında ABR grafiklerini resim 6'daki gibi göstermişlerdir.

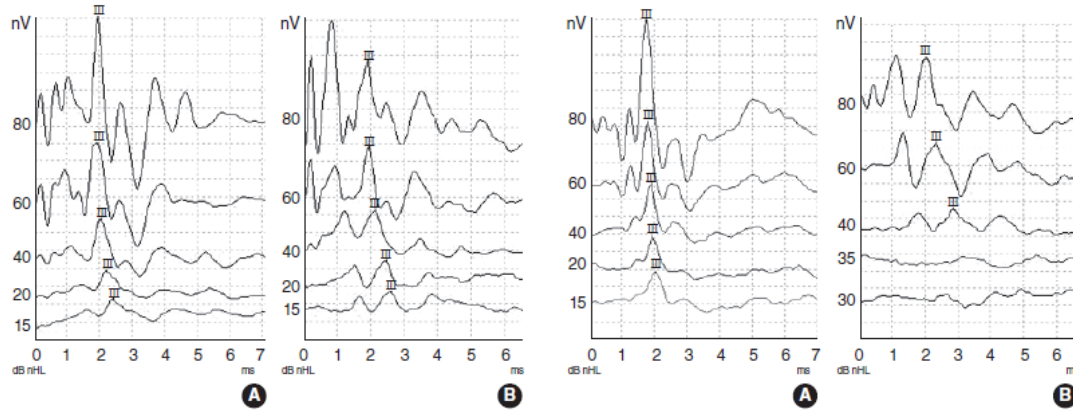


Fig. 1. Graphs showing an example of auditory brainstem responses (ABRs) for click stimulus before (A) and after (B) voriconazole administration. ABR thresholds were unchanged before and after voriconazole administration.

Fig. 3. Graphs showing an example of auditory brainstem responses (ABRs) for click stimulus before (A) and after (B) gentamicin administration. ABR thresholds before and after gentamicin administration were changed.

Resim 6. ABR grafikleri; Aydın ve ark (2012) (49)'ndan alınmıştır.

Aksoy ve ark (2014) (50) ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada ABR eşliğini; III. dalganın gözleendiği minimum şiddet seviyesi olarak kabul ettiklerini belirtmişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Odyoloji Anabilim Dalı, Odyoloji ve Konuşma Bozuklukları Doktora Programı tezi olarak yapılmıştır. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun izni ile; Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi'nde Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin maddi desteği ile yapılmıştır (karar tarihi: 29.04.2014; sayı: 2014/109).

3.1. Grupların Oluşturulması ve Çalışmanın Düzenlenmesi

Deney hayvanlarında aynı koşullarda üretiminin yapılması, beslenme ve bakım koşullarının sabit olması nedeniyle varyasyonlar görülmemektedir. Deney Hayvanları Etik Kurulu, çalışmanın gereklilikleri doğrultusunda çalışma gruplarında 8'er ratın kullanımına izin vermiştir.

- Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı (Gürültü-Grup 1) Grubu,
- Ginkgo Biloba (EGb 761- Grup 2) Grubu;
- Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Sonrasında Ginkgo Biloba Kullanılan Grup (Gürültü+ EGb 761- Grup 3) ve
- Kontrol (Kontrol- Grup 4) Grubu olacak şekilde dört farklı grup oluşturulmuştur.

Tüm ratların kulak muayeneleri KBB hekimi tarafından yapılmıştır. Muayenede ameliyat mikroskobu kullanılmış ve dış kulak yolunda buşon bulunan ratlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm ratların dış kulak yolu ve kulak zarları normal görünümündedir. Toplamda 32 tane Spraque Dawley yetişkin dişi rat çalışmaya dahil edilmiştir.

Gruplardaki bütün ratlar 200/240 gr ağırlığında yetişkin Spraque Dawley ratlardır. Ratlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21 C° ±1 sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'nin altında olduğu bir ortamda barındırılmıştır. Hayvanlar Ulusal Laboratuar Hayvanlarını Koruma ve Kullanma Yönetmenliğine uygun şekilde kullanılmıştır.

Çalışmanın başında bütün ratların DPOAE ve ABR ölçümleri yapılmıştır. DPOAE ve ABR ölçümlerinden önce bütün ratlara intraperitoneal *ketamine hydrochloride* (45 mg/kg) ve *xylozine* (5 mg/kg) kullanılarak anestezi uygulanmıştır.

- Bazal ölçümler yapıldıktan hemen sonra Grup 2'deki ratlara 21 gün boyunca devam edilecek oral gavaj ile 100 mg/kg/gün dozunda EGb 761 uygulamasına başlanmıştır.
- Bazal ölçümlerden 1 hafta sonra
 - Grup 1 ve Grup 3' teki ratlar 8 saat boyunca 100 dB SPL şiddetinde geniş band gürültüye (*white noise*) maruz bırakılmışlardır.
 - 8 saatin sonunda Grup 1 ve Grup 3' teki ratların gürültü sonrası 1. gün elektrofizyolojik testleri yapılmıştır ve
 - Grup 3'teki ratlara da 21 gün boyunca devam edecek oral gavaj ile 100 mg/kg/gün dozunda EGb 761 uygulamasına başlanmıştır.
 - Aynı gün Grup 2 ve Grup 4'teki ratların 7. gün elektrofizyolojik ölçümleri yapılmıştır.

Elektrofizyolojik ölçümler bütün gruplar için 1., 7., 14. ve 21. günlerde tekrar edilmiştir. EGb 761 uygulamasının dozuna Rojas ve ark. (2012) (51) EGb 761'in tedavi edici etkisinin insanda 40mg/kg/gün X 3 olduğu hayvanda ise etkili dozun 50-100 mg/kg/gün olduğunu bildirdiği çalışması referans alınarak karar verilmiştir.

3.2. Biyokimyasal Analizler

21. gün ölçümlerinin sonunda bütün ratların intrakardiyak 5 ml kan örnekleri Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Biyokimya Bölümünden bir uzman biyolog ve bir KBB hekimi tarafından alınmıştır. Örnekler hemen heparinize tüplere konarak karanlıkta 2-4 °C de tutulmuş ve hemolize bağlı olarak DNA hasarı olmaması için 2 saat içinde işleme alınmıştır. Mononükleer lökositler *Histopaque 1077* (*Sigma*) ile santrifüje edilerek izole edilmiştir. Bir ml heparinli kan dikkatli bir şekilde 1 ml

Histopaque üzerine konularak 35 dk ve 25 °C de 500 x g santrifüj edilmiştir. Mononükleer lökosit içeren tabaka bant *phosphate-buffered saline (PBS)* ile tekrar 400 x g de 15 dk santrifüj edilmiştir. Membran bütünlüğü the *Trypan-Blue exclusion assay* ile ölçülüp %90 üzeri canlılık elde edilen numunelerden DNA hasarı çalışılmıştır. Kalan heparinize kan 1500 x g de 10 dk santrifüje edilmiş ve elde edilen plazma TOS ve TAS analizi için -80 C de saklanmıştır. Santrifüj yapıldıktan sonra ayrılan serum örneklerinde biyokimyasal parametreler ticari kit (*Rel Assay Diagnostic*) ile çalışılmıştır. Çalışılan biyokimyasal parametreler; TAS (*Total Antioxidant Status*), TOS (*Total Oxidant Status*) ve OSI (*Oxidative Stress Index*)' dir.

3.3. Elektrofizyolojik Testler

3.3.1. DPOAE

DPOAE ölçümlerinde GSI *Audera* cihazı kullanılmıştır. Ölçümler sessiz kabinde yapılmıştır. Ratların dış kulak kanalına probun tam oturması için en küçük boy kauçuk tip timpanometri probu kullanılmıştır. Tüm ölçümler ratların kafası yere yatay pozisyonda iken yapılmıştır. Emisyonlar genel tanısal modda Distorsiyon ürünü diagram (DPgram) olarak ölçülmüştür. F2/F1 oranı 1:10 olarak seçilmiş şiddet seviyesi 55, 65 dB (L2=L1-10) olarak belirlenmiştir. DPgram ölçümü 3000, 4008, 5004, 6000, 6996, 8004, 9012, 10008, 11004 ve 12000 Hz frekanslarında yapılmıştır. DPOAE amplitüdlerinin gürültü eşiğinin 3 dB üstündeki değerleri anlamlı kabul edilmiştir. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde oluşan sinyalin gürültüye oranı esas alınmıştır.



Resim 7. Ratlarda DPOAE ölçümü

3.3.2. ABR

ABR ölçümleri sessiz kabinde *Viasys Medelec Synergy* cihazı ile subkutan iğne elektrodlar (*Technomed Europe*) kullanılarak yapılmıştır. Aktif elektrot test edilen mastoid bölgesi cilt altına, toprak elektrot *vertexe*, referans elektrot test edilmeyen mastoid cilt altına yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır. Ölçümde ER-3A insert kulaklık, alternate polarite 21,1/s rate klik uyarı, 25 msn analiz zamanı, 1024 sweep, 30-1500 Hz filtreleme kullanılmıştır. Uyarı 80 dB nHL şiddetinden başlatılmış ve 20 dB basamaklar halinde III. dalga'nın görüldüğü en düşük şiddete kadar inilerek eşik taraması yapılmıştır. ABR eşiği; III. dalga'nın gözlemlendiği minimum şiddet seviyesi olarak tanımlanmıştır.



Resim 8. Ratlarda ABR ölçümü

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler *SPSS for Windows Version 21.0* paket programında yapılmıştır. Sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma ile gösterilmiştir. Gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi ANOVA testi ile gruplar içindeki anlamlılık düzeyi *Tukey HSD (post hoc test)* ile değerlendirilmiştir.

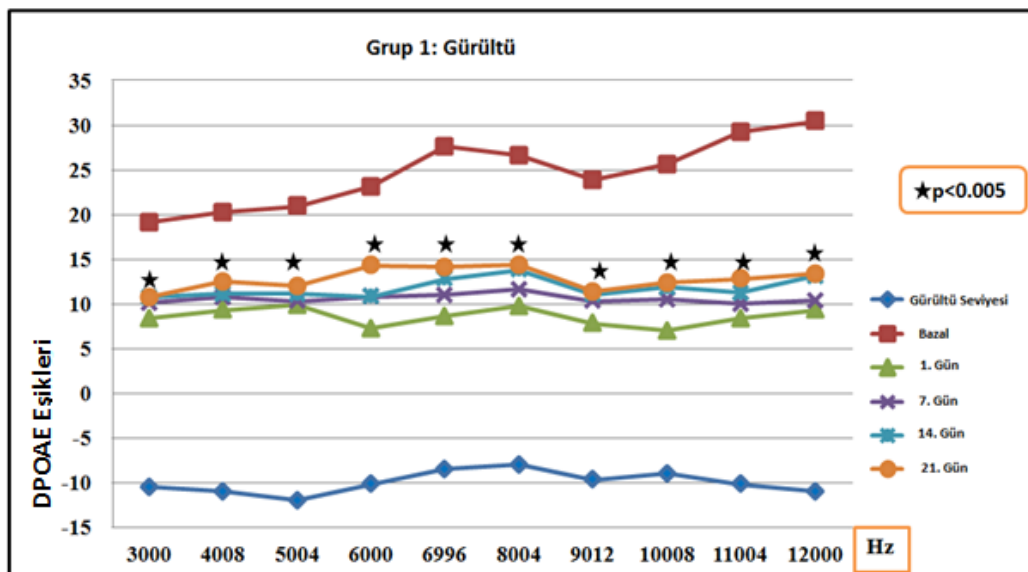
4. BULGULAR

Elektrofizyolojik bulgular değerlendirilirken sağ ve sol kulağa ait eşik ortalamaları alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen 32 rattan 2 tanesi 21 günlük takip süresi içerisinde öldüğü için istatistiksel analizlere her gruptan 7 rat dahil edilmiştir. Çalışmayı oluşturan gruplara ait bulgular aşağıda sunulmuştur.

4.1. Elektrofizyolojik Bulgular

4.1.1. DPOAE Bulguları

Sadece gürültü verilen Grup 1'e ait bazal, 1., 7., 14. ve 21. günlere ait DPOAE amplitüdlerindeki değişimler Grafik 1'de ve Tablo 2'de gösterilmiştir. Grupların karşılaştırılması için tekrarlı ANOVA testi kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak elde edilmiştir. Günler arasındaki farklılıkları tanımlamak için ise *Bonferroni* Testi post-hoc test olarak kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p < 0.005$ olarak elde edilmiştir. Gürültü sonrasında elde edilen DPOAE eşikleri ile bazal DPOAE eşikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.005$).

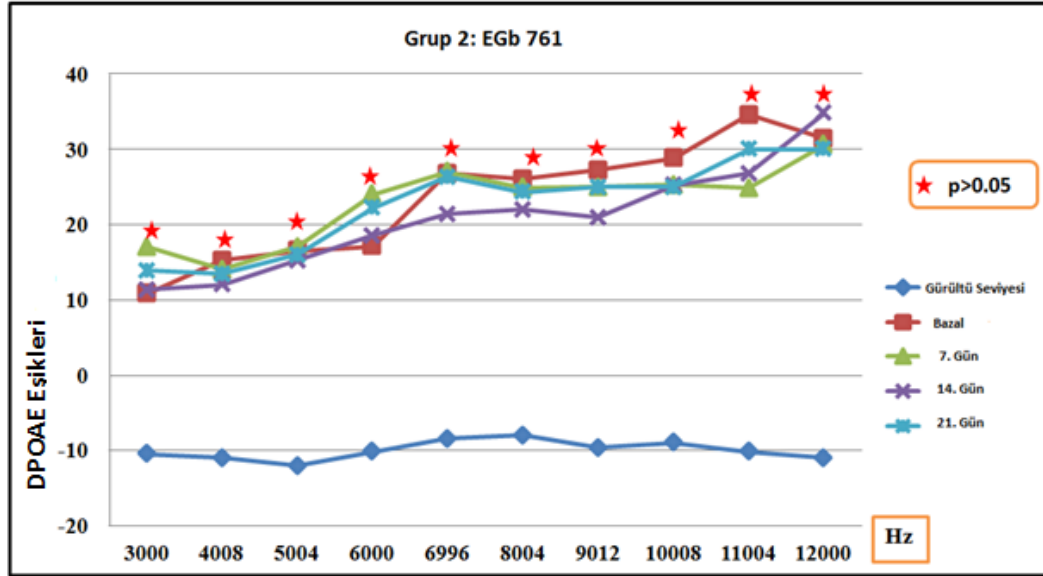


Grafik 1. Grup 1'e ait DPOAE bulguları

Tablo 2. Grup 1'e ait DPOAE eşikleri (ortalama \pm standart sapma)

| GRUP 1 | Gürültü Seviyesi (dB SPL) | Bazal (dB SPL) | 1.Gün (dB SPL) | 7.Gün (dB SPL) | 14.Gün (dB SPL) | 21.Gün (dB SPL) |
|----------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| 3000 Hz | -10,5 \pm 1,38 | 15,1 \pm 2,17 | 11,4 \pm 1,94 | 10,1 \pm 0,92 | 10,77 \pm 1,80 | 10,7 \pm 1,52 |
| 4008 Hz | -11 \pm 2,05 | 15,2 \pm 2,34 | 10,3 \pm 1,18 | 10,7 \pm 1,27 | 11,07 \pm 1,35 | 12,5 \pm 1,11 |
| 5004 Hz | -12 \pm 3,17 | 19,9 \pm 1,72 | 9,9 \pm 1,37 | 10,3 \pm 1,79 | 11,1 \pm 1,76 | 12 \pm 1,26 |
| 6000 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 23,1 \pm 3,03 | 12,2 \pm 1,62 | 10,8 \pm 2,60 | 10,8 \pm 2,91 | 17,3 \pm 3,32 |
| 6996 Hz | -8,5 \pm 0,86 | 27,6 \pm 3,71 | 12,6 \pm 1,11 | 11 \pm 3,03 | 12,8 \pm 1,21 | 14,1 \pm 3,27 |
| 8004 Hz | -8 \pm 1,20 | 26,6 \pm 3,65 | 9,7 \pm 2,09 | 11,6 \pm 2,31 | 15,8 \pm 1,12 | 10,4 \pm 2,03 |
| 9012 Hz | -9,7 \pm 1,07 | 23,8 \pm 3,06 | 7,8 \pm 2,21 | 10,3 \pm 1,12 | 11,04 \pm 2,89 | 11,4 \pm 1,05 |
| 10008 Hz | -9 \pm 1,45 | 25,6 \pm 3,95 | 7 \pm 0,82 | 10,5 \pm 3,01 | 11,9 \pm 2,02 | 12,4 \pm 2,44 |
| 11004 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 29,2 \pm 2,41 | 5,4 \pm 1,13 | 17 \pm 4,01 | 11,2 \pm 2,61 | 12,8 \pm 3,18 |
| 12000 Hz | -11 \pm 2,04 | 30,4 \pm 3,63 | 9,3 \pm 1,60 | 10,4 \pm 1,28 | 13,1 \pm 1,52 | 13,4 \pm 2,04 |

Grup 2'ye ait (Sadece EGb 761 uygulanan grup) bazal, 7., 14. ve 21. günlere ait DPOAE amplitüdlerindeki değişimler Grafik 2'de ve Tablo 3'de gösterilmiştir. Grupların karşılaştırılması için tekrarlı ANOVA testi kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak elde edilmiştir. Günler arasındaki farklılıkları tanımlamak için ise *Bonferroni Testi post-hoc* test olarak kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p < 0.008$ olarak elde edilmiştir. EGb 761 grubunda elde edilen DPOAE eşikleri bazal ölçümler ile diğer ölçümler arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$).



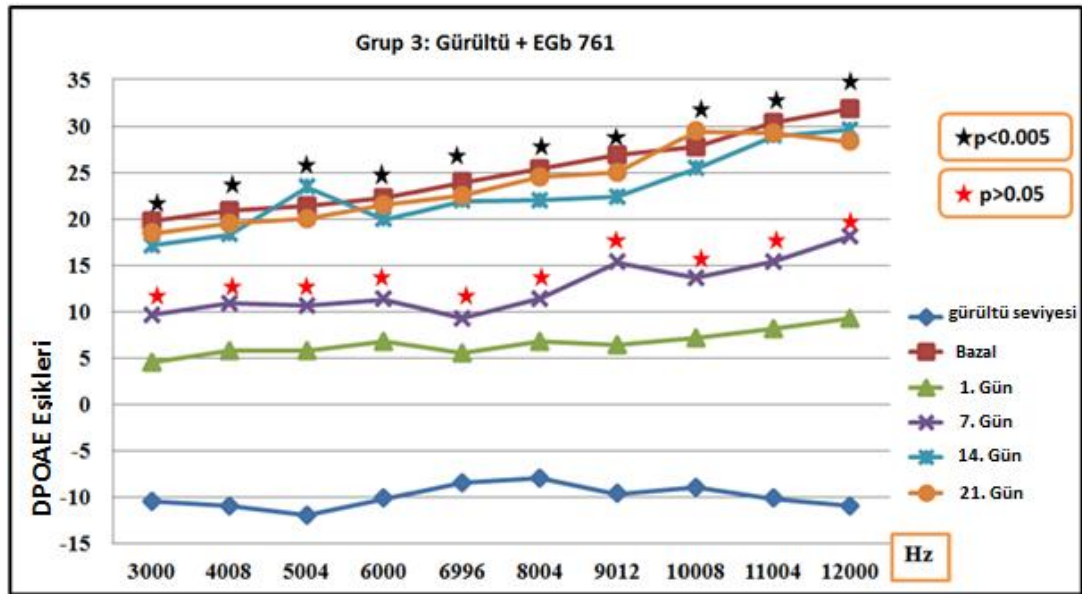
Grafik 2. Grup 2'ye ait DPOAE Bulguları

Tablo 3. Grup 2'ye ait DPOAE eşikleri (ortalama \pm standart sapma)

| GRUP 2 | Gürültü Seviyesi (dB SPL) | Bazal (dB SPL) | 7.Gün (dB SPL) | 14.Gün (dB SPL) | 21.Gün (dB SPL) |
|----------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 3000 Hz | -10,5 \pm 1,38 | 10,8 \pm 1,25 | 17 \pm 2,36 | 11,3 \pm 2,71 | 13,92 \pm 2,37 |
| 4008 Hz | -11 \pm 2,05 | 15,2 \pm 2,73 | 14 \pm 2,52 | 12 \pm 2,87 | 13,4 \pm 1,06 |
| 5004 Hz | -12 \pm 3,17 | 16,5 \pm 3,22 | 17 \pm 3,76 | 15,2 \pm 3,10 | 16 \pm 2,71 |
| 6000 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 17,1 \pm 1,32 | 24 \pm 4,1 | 18,5 \pm 2,59 | 22,2 \pm 4,43 |
| 6996 Hz | -8,5 \pm 0,86 | 26,8 \pm 1,45 | 27 \pm 4,49 | 21,4 \pm 2,44 | 26,3 \pm 3,38 |
| 8004 Hz | -8 \pm 1,20 | 26 \pm 3,71 | 24,9 \pm 3,97 | 22 \pm 4,83 | 24,3 \pm 3,27 |
| 9012 Hz | -9,7 \pm 1,07 | 27,2 \pm 3,75 | 25 \pm 4,25 | 20,9 \pm 3,28 | 25 \pm 5,01 |
| 10008 Hz | -9 \pm 1,45 | 28,8 \pm 4,22 | 25,3 \pm 3,96 | 25,2 \pm 4,16 | 25 \pm 2,24 |
| 11004 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 34,6 \pm 4,26 | 24,8 \pm 4,05 | 26,8 \pm 3,52 | 30 \pm 6,18 |
| 12000 Hz | -11 \pm 2,04 | 31,4 \pm 3,98 | 30,6 \pm 4,28 | 34,8 \pm 6,04 | 25,4 \pm 5,27 |

Grup 3 (Gürültüye maruziyetin ardından 21 gün boyunca EGb 761 uygulanan grup)'e ait bazal, 7., 14. ve 21. günlere ait DPOAE amplitüdlerindeki değişimler Grafik 3'de ve Tablo 4'te gösterilmiştir. Grupların karşılaştırılması için tekrarlı ANOVA testi kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi

$p < 0.05$ olarak elde edilmiştir. Günler arasındaki farklılıkları tanımlamak için ise *Bonferroni Testi post-hoc* test olarak kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p < 0.005$ olarak elde edilmiştir. Gürültü sonrasında EGb 761 uygulanan gruptan elde edilen 7. gün DPOAE bulguları ile 1. gün DPOAE bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$) ancak; 21. gün bulguları ile 1. gün bulguları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.005$).

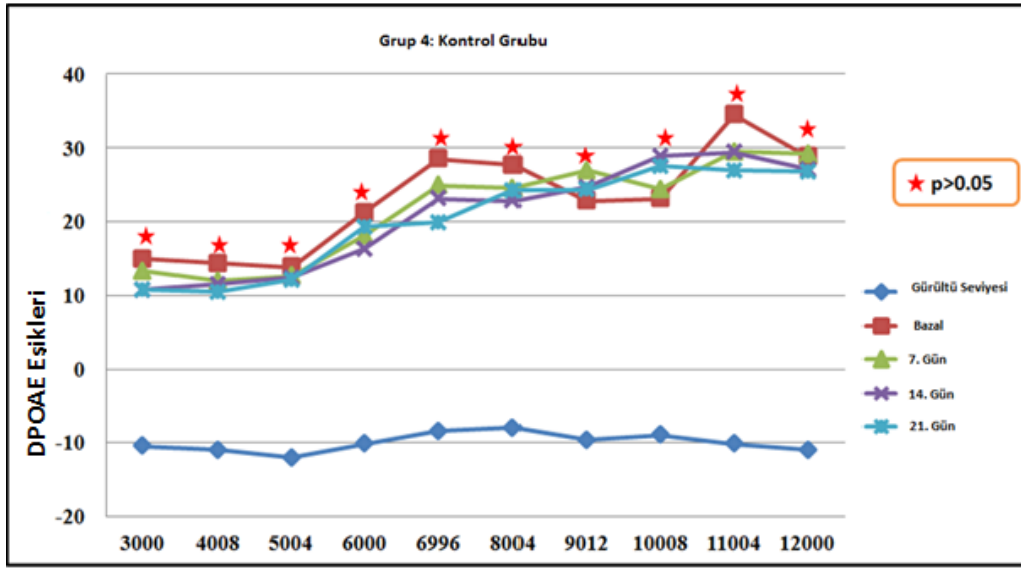


Grafik 3. Grup 3'e ait DPOAE Bulguları

Tablo 4. Grup 3'e ait DPOAE eşikleri (ort ortalama \pm standart sapma)

| GRUP 3 | Gürültü Seviyesi (dB SPL) | Bazal (dB SPL) | 1.Gün (dB SPL) | 7.Gün (dB SPL) | 14.Gün (dB SPL) | 21.Gün (dB SPL) |
|----------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 3000 Hz | -10,5 \pm 1,38 | 11,7 \pm 2,71 | 10,5 \pm 1,93 | 12,6 \pm 1,52 | 12,1 \pm 2,10 | 12,4 \pm 2,29 |
| 4008 Hz | -11 \pm 2,05 | 11,8 \pm 1,69 | 7,7 \pm 2,27 | 11,9 \pm 2,85 | 9,3 \pm 2,56 | 12,5 \pm 3,41 |
| 5004 Hz | -12 \pm 3,17 | 11,3 \pm 2,43 | 10 \pm 2,63 | 13,6 \pm 2,06 | 13,4 \pm 2,29 | 14,2 \pm 3,36 |
| 6000 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 14,2 \pm 2,82 | 12,7 \pm 1,99 | 17,3 \pm 2,57 | 17,9 \pm 3,01 | 16,5 \pm 3,82 |
| 6996 Hz | -8,5 \pm 0,86 | 17,9 \pm 1,41 | 9,6 \pm 2,24 | 21,2 \pm 4,03 | 21,9 \pm 3,82 | 19,5 \pm 3,52 |
| 8004 Hz | -8 \pm 1,20 | 21,3 \pm 4,96 | 8,7 \pm 2,44 | 17,4 \pm 2,75 | 20 \pm 2,89 | 18,5 \pm 3,65 |
| 9012 Hz | -9,7 \pm 1,07 | 24,8 \pm 3,92 | 12,4 \pm 1,70 | 21,8 \pm 3,09 | 22,3 \pm 3,75 | 18 \pm 3,87 |
| 10008 Hz | -9 \pm 1,45 | 23,7 \pm 3,58 | 11,1 \pm 2,91 | 20,6 \pm 2,57 | 22,4 \pm 3,51 | 19,4 \pm 2,94 |
| 11004 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 30,3 \pm 4,26 | 11,1 \pm 1,52 | 20,4 \pm 3,15 | 22,9 \pm 2,98 | 23,2 \pm 4,11 |
| 12000 Hz | -11 \pm 2,04 | 31,8 \pm 4,57 | 13,2 \pm 2,08 | 14,1 \pm 2,91 | 20,6 \pm 3,62 | 21,6 \pm 3,85 |

Grup 4 (kontrol grubu)'e ait bazal, 7., 14. ve 21. günlere ait DPOAE amplitüdlerindeki değişimler Grafik 4'te ve Tablo 5'te gösterilmiştir. Grupların karşılaştırılması için tekrarlı ANOVA testi kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak elde edilmiştir. Günler arasındaki farklılıkları tanımlamak için ise *Bonferroni Testi post-hoc* test olarak kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi $p<0.008$ olarak elde edilmiştir. Kontrol grubuna ait bazal DPOAE bulguları ile 21. gün DPOAE bulguları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).



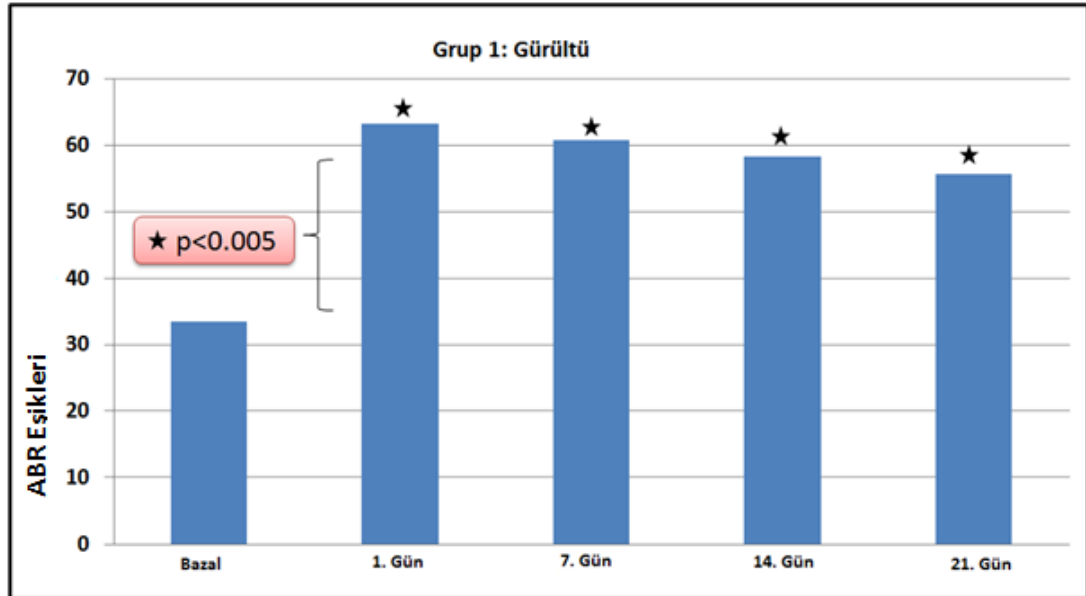
Grafik 4. Grup 4'e ait DPOAE Bulguları

Tablo 5. Grup 4'e ait DPOAE eşikleri (ortalama \pm standart sapma)

| GRUP 4 | Gürültü Seviyesi (dB SPL) | Bazal (dB SPL) | 7.Gün (dB SPL) | 14.Gün (dB SPL) | 21.Gün (dB SPL) |
|----------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 3000 Hz | -10,5 \pm 1,38 | 14,9 \pm 1,05 | 13,3 \pm 2,19 | 10,7 \pm 1,11 | 10,7 \pm 1,96 |
| 4008 Hz | -11 \pm 2,05 | 14,3 \pm 2,03 | 11,9 \pm 1,93 | 11,5 \pm 2,86 | 10,4 \pm 2,18 |
| 5004 Hz | -12 \pm 3,17 | 16,8 \pm 1,66 | 12,6 \pm 1,86 | 12,4 \pm 1,37 | 12,1 \pm 1,68 |
| 6000 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 21,2 \pm 2,95 | 18,1 \pm 2,36 | 16,3 \pm 2,13 | 19,3 \pm 2,74 |
| 6996 Hz | -8,5 \pm 0,86 | 28,5 \pm 3,46 | 24,9 \pm 3,72 | 23,1 \pm 2,97 | 19,9 \pm 3,14 |
| 8004 Hz | -8 \pm 1,20 | 27,7 \pm 3,25 | 24,5 \pm 4,09 | 22,8 \pm 3,48 | 24,2 \pm 3,67 |
| 9012 Hz | -9,7 \pm 1,07 | 22,8 \pm 2,87 | 36,9 \pm 4,28 | 24,7 \pm 3,31 | 24,3 \pm 4,27 |
| 10008 Hz | -9 \pm 1,45 | 23,1 \pm 3,27 | 24,4 \pm 4,09 | 28,9 \pm 4,72 | 27,5 \pm 4,07 |
| 11004 Hz | -10,2 \pm 1,97 | 34,5 \pm 4,51 | 29,5 \pm 2,95 | 29,4 \pm 4,91 | 26,9 \pm 3,46 |
| 12000 Hz | -11 \pm 2,04 | 28,8 \pm 3,67 | 29,2 \pm 3,18 | 27,1 \pm 3,85 | 26,8 \pm 2,72 |

4.1.2. ABR Bulguları

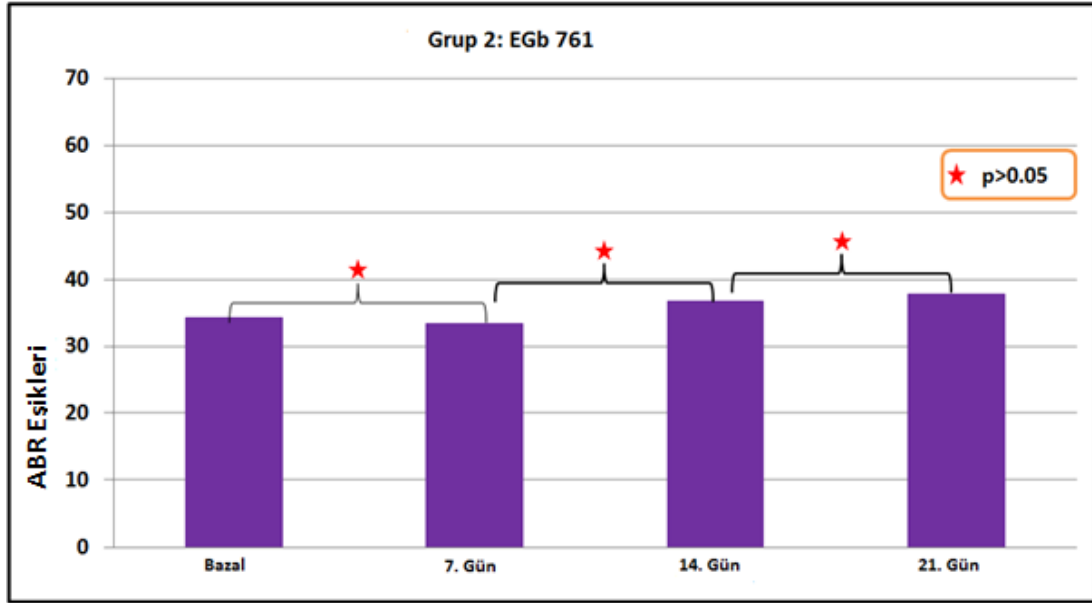
Grup 1 (sadece gürültü verilen grup)'e ait ABR bulgularının karşılaştırılması Grafik 5'de görülmektedir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için tekrarlı ANOVA testi uygulanmıştır ve $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ölçüm günleri arasındaki farklılığın tanımlanması için *post-hoc* test olarak *Bonferroni* testi uygulanmıştır. $p < 0.005$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gürültü verilen gruba ait bazal ABR eşikleri ile gürültü sonrası 1. gün ABR eşikleri arasında anlamlı farklılık belirlenmiştir. 21. gün sonundaki ABR eşikleri ile bazal ABR eşikleri arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.005$).



Grafik 5. Grup 1'e ait ABR Bulguları

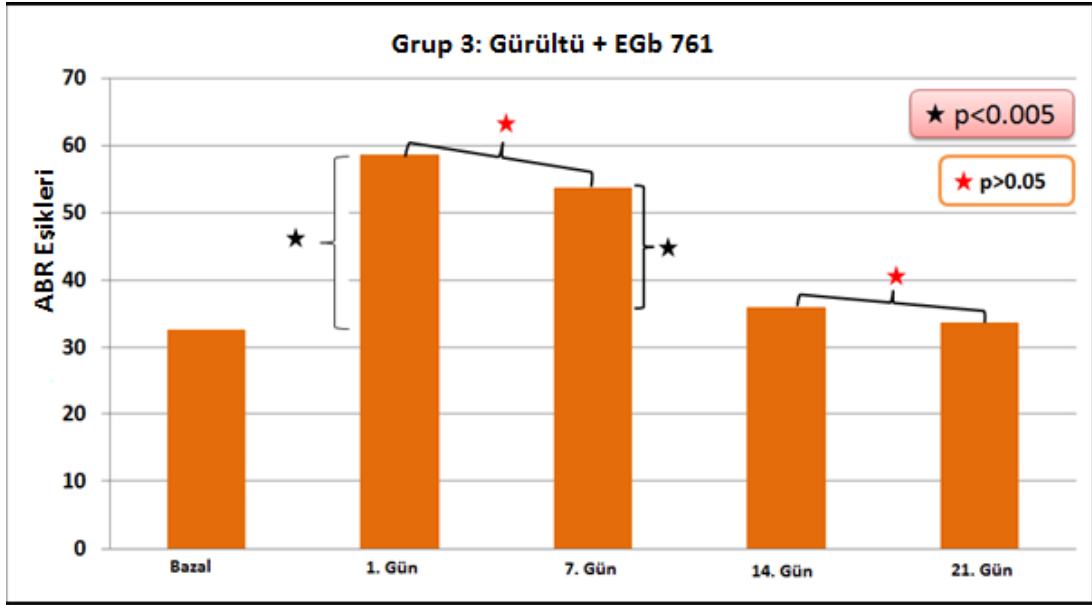
Grup 2 (sadece EGb 761 uygulanan grup)'ye ait ABR bulgularının karşılaştırılması Grafik 6'da görülmektedir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için tekrarlı ANOVA testi uygulanmıştır ve $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ölçüm günleri arasındaki farklılığın tanımlanması için *post-hoc* test olarak *Bonferroni* testi uygulanmıştır. $p < 0.008$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sadece EGb 761

uygulanan gruba ait farklı günlerdeki ABR eşikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmemiştir ($p>0.05$).



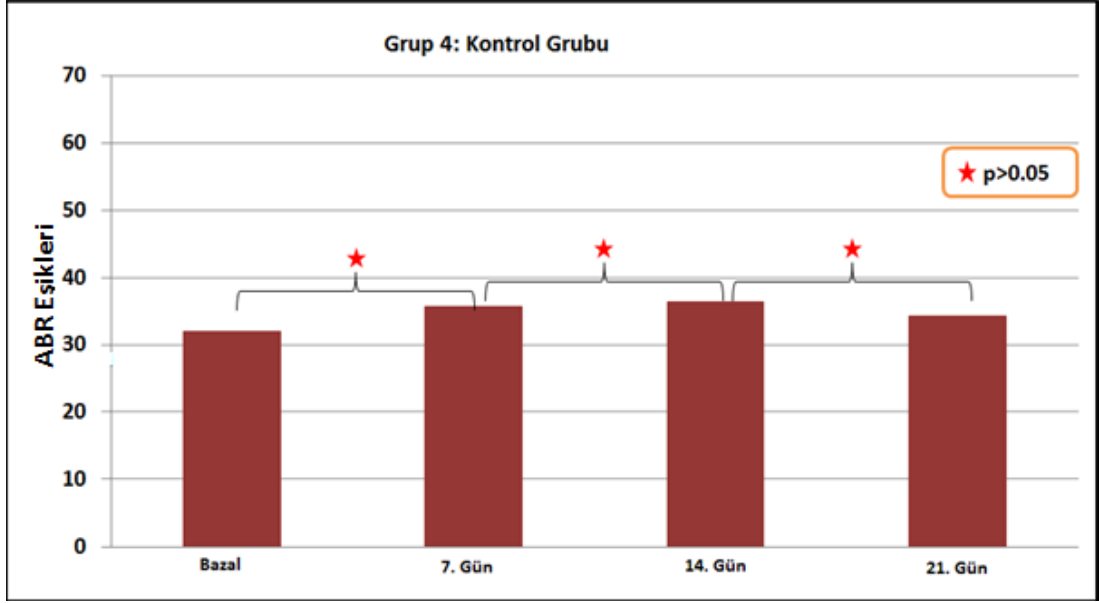
Grafik 6. Grup 2'ye ait ABR Bulguları

Grup 3 (gürültünün ardından 21 gün boyunca EGb 761 uygulanan grup)'e ait ABR bulgularının karşılaştırılması Grafik 7'de görülmektedir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için tekrarlı ANOVA testi uygulanmıştır ve $p<0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ölçüm günleri arasındaki farklılığın tanımlanması için *post-hoc* test olarak *Bonferroni* testi uygulanmıştır. $p<0.005$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gürültü sonrası EGb 761 uygulanan grupta bazal ABR eşikleri ile gürültü sonrası 1. günde elde edilen ABR eşikleri arasında anlamlı derecede farklılık mevcuttur ($p<0.005$). Aynı grubun 1. gün ve 7. gün ABR eşikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). 7. gün ve 14. gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.005$). 14. gün ABR eşikleri ile 21. gün ABR eşikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Bu durum 14. gün itibariyle EGb 761 uygulamasına bağlı olarak eşiklerde bazal ölçüm değerlerine yaklaşma olduğunu göstermektedir.



Grafik 7. Grup 3'e ait ABR Bulguları

Grup 4 (kontrol grubu)'e ait ABR bulgularının karşılaştırılması Grafik 8'de görülmektedir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için tekrarlı ANOVA testi uygulanmıştır ve $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ölçüm günleri arasındaki farklılığın tanımlanması için *post-hoc* test olarak *Bonferroni* testi uygulanmıştır. $p < 0.008$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Kontrol grubundan elde edilen bazal ABR eşikleri ile diğer günlerdeki ABR eşikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Grafik 8. Grup 4'e ait ABR Bulguları

Gruplar arasındaki ABR eşiklerinin karşılaştırılması aşağıdaki Tablo 6'da gösterildiği gibidir. Gruplar arası karşılaştırma için *one-way analysis of variance test* (ANOVA) kullanılmıştır. $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar içindeki farklılıkların değerlendirilmesi için *TUKEY'S HSD Test post-hoc* test olarak kullanılmıştır. $p < 0.008$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Grup1 ve Grup 3 arasındaki 1. gün testlerinde *Mann Whitney U* testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 6. Gruplar arasında ABR Eşiklerinin Karşılaştırılması

| Gruplar | Bazal (dB nHL) | 1.Gün (dB nHL) | 7. Gün (dB nHL) | 14. Gün (dB nHL) | 21. Gün (dB nHL) |
|---|-------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| Grup 1 (Gürültü) | 33,5±5,3 | 63,3±7,1 | 60,7±6,4 | 58,2±6,1 | 55,6±7,1 |
| Grup 2 (EGb 761) | 34,3±5,7 | - | 33,4±5,3 | 36,8±3,9 | 37,8±3,8 |
| Grup 3 (Gürültü + EGb 761) | 32,6±4,9 | 58,7±6,5 | 53,8±6,8 | 35,9±4,0 | 33,6±5,1 |
| Grup 4 (Kontrol Grubu) | 32,1±6,3 | - | 35,7±4,8 | 36,5±4,8 | 34,4±6,0 |
| One way ANOVA (Gruplar arası) $p=,817$ μ $p=,549$ $p=,001$ $p=,001$ $p=,001$ | | | | | |
| Post hoc test TUKEY HSD x: $p<0.008$ Ψ : $p>0.008$ | | | Gr1- Gr2 x | Gr1- Gr2 x | Gr1- Gr2 x |
| | | | Gr1- Gr3 Ψ | Gr1- Gr3 x | Gr1- Gr3 x |
| | | | Gr1- Gr4 x | Gr1- Gr4 x | Gr1- Gr4 x |
| | | | Gr2- Gr3 x | Gr2- Gr3 Ψ | Gr2- Gr3 Ψ |
| | | | Gr2- Gr4 Ψ | Gr2- Gr4 Ψ | Gr2- Gr4 Ψ |
| | | | Gr3- Gr4 x | Gr3- Gr4 Ψ | Gr3- Gr4 Ψ |

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Gruplar arası karşılaştırma için *one-way analysis of variance test* (ANOVA) kullanılmıştır. $p<0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar içindeki farklılıkların değerlendirilmesi için *TUKEY'S HSD Test post-hoc test* olarak kullanılmıştır. $p<0.005$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

- Grup 1 ve Grup 2 arasında,
- Grup 1 ve Grup 3 arasında,

- Grup 1 ve Grup 4 arasında, TOS (*Total Oxidant Status*) ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.005$)
- Grup 1 ve Grup 2 arasında TAS (*Total Antioxidant Status*) ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.005$).
- Grup 1 ve Grup 2 arasında,
- Grup 1 ve Grup 3 arasında
- Grup 1 ve Grup 4 arasında OSI (*Oxidative Stress Index = TOS/TAS * 100*) ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.005$). Biyokimyasal parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması Tablo 7’de görülmektedir.

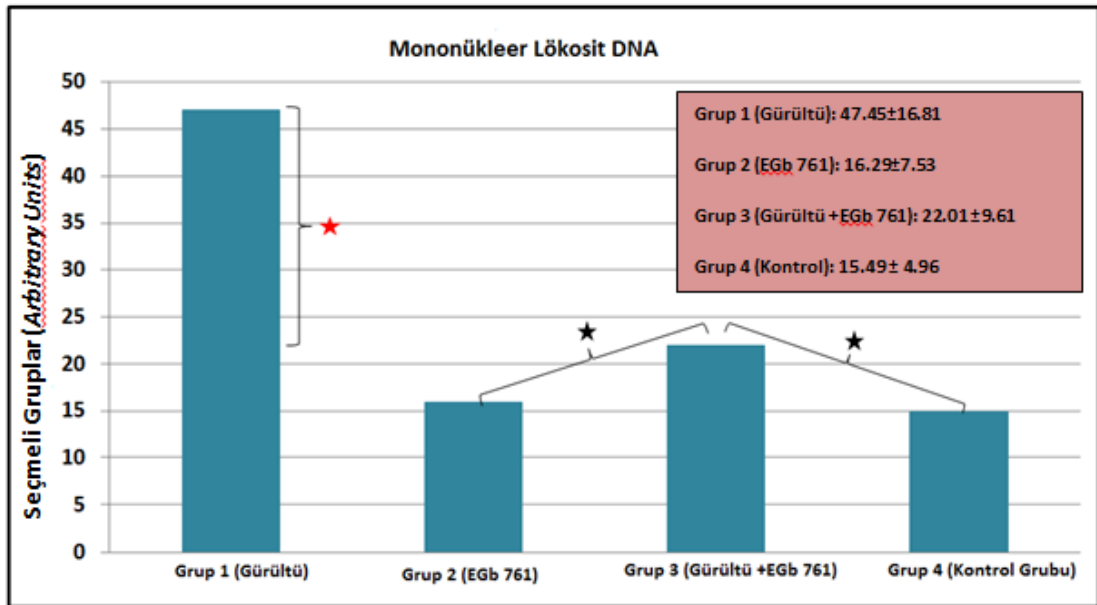
Tablo 7. Biyokimyasal Parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması (ortalama \pm Standart sapma)

| GRUPLAR | TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eqv/L}$) | TAS ($\mu\text{mol TroloxEqv/L}$) | OSI ($\text{TOS/TAS} \cdot 100$) |
|----------------------------------|--|--|---------------------------------------|
| Grup 1 (Gürültü) | 10.28 \pm 2.64 | 0.48 \pm 0.50 | 0.214 \pm 0.058 |
| Grup 2 (EGb 761) | 5.32 \pm 1.24 | 1.04 \pm 0.63 | 0.051 \pm 0.037 |
| Grup 3 (Gürültü+ EGb 761) | 6.32 \pm 1.04 | 0.64 \pm 0.36 | 0.098 \pm 0.028 |
| Grup 4 (Kontrol) | 6.16 \pm 1.64 | 0.73 \pm 0.45 | 0.084 \pm 0.036 |
| One-way ANOVA (Gruplar arası) | $p=.0004$ | $p=.026$ | $p=.0003$ |

4.3. DNA Hasarı

Grup 1' e ait mononükleer lökosit DNA hasarı değerleri ile Grup 3'e ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.005$) ancak; Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu bulgu,

- Gürültüye bağlı hücresel düzeyde anlamlı derecede DNA hasarı oluştuğunu,
- Gürültü sonrası EGb 761 kullanılan grupta oluşan DNA hasarının anlamlı olmadığını göstermiştir.



Grafik 9. Gruplar Arasında DNA Hasarı Parametrelerinin Karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Gürültüye bağlı işitme kaybı iş sektöründe olduğu kadar modern toplumlarda günlük hayatta da insan sağlığını etkilemektedir. Bu nedenle gürültüye bağlı işitme kayıplarının göz ardı edilmemesi gerekir. Uzun süre gürültüye maruziyetin işitme sistemi üzerine etkilerinin temelinde bir çok sistemi etkileyebilecek faktörler bulunmaktadır. Gürültüye bağlı işitme kaybı bireylerin yaşam kalitelerini etkileyen bir sağlık problemidir. GBİK;

- İnsan sağlığı üzerinde önemli bir etki yaratması
- Modern toplumlarda görülme sıklığının artması
- Gürültünün işitme kaybı yaratırken bir çok sistemi de beraberinde etkiliyor olması
- Etkilediği sistemlerdeki fonksiyonların desteklenebilme/iyileşebilme özelliklerinin olması
- Önlenebilir olması
- Akut dönemde kullanılan antioksidanlarla iyileştirilebileceğinin düşünülmesi nedeniyle bir çok çalışmacı tarafından araştırılmıştır.

Bir antioksidan türevi olan Ginkgo Biloba üzerine yapılmış önceki çalışmalar EGb 761'in gürültüye bağlı işitme kaybını düzeltebileceğini belirtmiştir. Lee ve ark (1) yayınlarında Lamn ve Arnold'un önceki çalışmalarından bahsetmiştir. Bu çalışmacılar; gürültüye maruziyetten sonra kobaylara 8.75 mg/kg dozunda EGb 761 uygulamışlardır. Koklear kan akışını ve perilenfatik oksijen basıncını maruziyetten 3 saat önce ve sonra ölçmüşlerdir. Değerlerde EGb 761'e bağlı herhangi bir farklılık bulamadıklarını belirtmişler ve bunun sebebini EGb 761'i gürültüden 30 dk sonra tek doz olarak vermiş olmalarına ve sadece 2 saat gözlem süresi kullanmış olmalarına bağlamışlardır. EGb 761'in farklı dozlarda ve farklı koşullarda etkileri üzerine daha fazla çalışmanın yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Lee ve ark (1) 2013 yılında yayımlanan ve fareler üzerinde yaptıkları çalışmada; hem deney grubunun hem kontrol grubunun gürültü maruziyeti sonrası ölçülen bütün frekanslardaki elektrofizyolojik işitme eşiklerinde

yükselme olduğunu ve bu eşik kaymasının zaman içinde düzelmeye başladığını bildirmişlerdir (geçici eşik kayması). Kontrol grubunda gürültüye maruziyetten sonra ölçülen ABR eşiklerinin bütün frekanslarda maruziyet öncesi eşiklere göre daha kötü bulunduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Grup 1 (sadece gürültü uygulanan grup)'de yer alan ratların bazal ABR eşik ortalamaları $33,5 \pm 5,3$ dB nHL bulunurken 100 dB SPL şiddetinde gürültüye 8 saatlik maruziyet sonrası ABR eşik ortalamaları $63,3 \pm 7,1$ dB nHL olarak bulunmuştur. Yani gürültüye maruziyet ratların ABR eşik ortalamalarında ortalama olarak 30 dB'lik bir eşik kaymasına neden olmuştur.

Lee ve ark (1) çalışmalarında gürültüye bağlı değişime uğrayan ABR eşiklerinin 5. günde maruziyet öncesi işitme eşiklerine geri döndüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Grup 1'de yer alan ratlarımızda 21 günlük takip süreci sonrasında elde edilen ortalama ABR eşikleri $55,6 \pm 7,1$ dB nHL olarak bulunmuştur. Yani gürültüye maruziyetten 21 gün sonra elde edilen ortalama ABR eşikleri ile maruziyetten önce elde edilen ortalama ABR eşikleri arasındaki fark ortalama 22 dB'dir. Bu da bize; çalışmamız süresince ratlarımızın gürültüye maruziyet sonrası ortalama ABR eşiklerinde kendiliğinden bir iyileşme olmadığını göstermektedir.

Lee ve ark (1) aynı çalışmalarında EGb 761'in uygulama dozuna ve süresine bağlı olarak elektrofizyolojik işitme eşikleri üzerinde iyileştirici etkilerinin farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Ancak takip süreleri içerisinde eşiklerde kendiliğinden bir iyileşme gözlemledikleri için EGb 761'in koruyucu etkisi hakkında bir şey söyleyememişlerdir. Çalışmalarında EGb 761'i üç hafta boyunca 1 doz olarak kullanmışlardır. Çalışmalarının sonunda uzun dönem ya da yüksek doz kullanılan EGb 761'in etkilerinin ve kalıcı işitme kaybı oluşturulmuş hayvan modelleri üzerinde EGb 761'in etkilerinin araştırılması konusunda görüş bildirmişlerdir (1). Bizim çalışmamızda ise; gürültüye bağlı eşik düşmelerinin takip süremiz boyunca kendiliğinden iyileşmemiş olması EGb 761'in işitme eşikleri üzerine etkisini izole olarak incelememizi sağlamıştır. Çalışmamızdaki Grup 3 (gürültü maruziyetinin ardından 21 gün boyunca EGb 761 uygulanan grup)'te bazal ölçümde elde

edilen ortalama ABR eşikleri $32,6 \pm 4,9$ dB nHL iken gürültüye maruziyetten hemen sonra elde edilen ortalama ABR eşikleri $58,7 \pm 6,5$ dB nHL'dir. Bu gruba gürültüye maruziyetin hemen ardından başlanarak 21 gün boyunca 100 mg/kg/gün dozunda EGb 761 uygulaması yapılmıştır. 21 gün sonunda elde edilen ortalama ABR eşikleri $33,6 \pm 5,1$ dB nHL'dir. Yani EGb 761'e bağlı olarak ortalama ABR eşiklerinde ortalama 25 dB'lik bir iyileşme gözlemlenmiştir.

Kumar ve ark (52) edinilmiş SNİK vakalarının işitmelerinde EGb 761'e bağlı %16.6 oranında iyileşme olduğunu belirlemişlerdir. Vakalarını seçerken, neoplazmlara bağlı SNİK, ani SNİK, konjenital SNİK, otoimmün nedenli SNİK, vertigonun eşlik ettiği SNİK ve geçmişinde otoskleroz öyküsü olan SNİK hastalarını çalışmaya dahil etmemişlerdir. İşitsel değerlendirmelerini saf ses odyometrik test ile tedavi öncesi ve tedavi sonrası takip eden üç ay boyunca yapmışlardır. Hastalarını üç gruba ayırmışlardır. Birinci gruba üç ay boyunca günde 3 defa 40 mg Ginkgocer tablet ile EGb 761 uygulamışlardır. İkinci gruptaki hastalara SNİK konvansiyonel tedavisi olarak belirttikleri oral yoldan vitamin A, vitamin B1, B6, B12 ve vazodilatör *Nylidrine Hydrochloride* 3 ay boyunca uygulamışlardır. Üçüncü gruptaki hastalarına üç ay birinci gruba uyguladıkları tedaviyi, üç ay ikinci gruba uyguladıkları tedaviyi uygulamışlar ve bu gruptaki hastalarının işitmelerini 6 ay boyunca takip etmişlerdir. Tedavilerine başlamadan önce bütün katılımcılarda subjektif tinnitus şiddet ölçeği ile tinnitus değerlendirmesi yapmışlardır. EGb 761 uygulamasının %16,6 oranında işitme eşiklerinde iyileşmeye yol açtığını, EGb 761' in işitme eşiklerini iyileştirmede diğer tedavilere göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda tinnitusta da anlamlı iyileşme gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızı gürültüye bağlı kalıcı SNİK rat modeli üzerinde yürüterek EGb 761' in ABR eşikleri üzerindeki ortalama 22 dB'lik iyileştirici etkisini gösterdik.

EGb 761 ekstresi tinnitus tedavisinde de en sık reçete edilen bitkisel ekstrelerdir. İşitme kaybıyla ilişkili olarak, koklear tüy hücrelerinde oluşan harabiyet sonucunda beyine iletilen fantom işitme hissine benzer bir ses oluşur. Bu durum periferik tinnitus olarak adlandırılır. Güncel çalışmalar EGb

761 ekstresinin periferik tinnitus terapisinde ciddi anlamda başarılı olduğunu göstermiştir. Çalışmalarda kullanılan ekstrenin dozu ve içeriğinin önemli olduğu da vurgulanmıştır (53). Biz çalışmamızı tinnitus üzerine yürütmedik fakat, tinnitusun sıklıkla yüksek frekans bölgesini tutan SNİK'lere ve gürültüye bağlı işitme kaybına eşlik eden bir semptom olabildiği ve işitsel amplifikasyonun hastaların tinnitus şikayetinde azalmaya yol açtığı bilindiği unutulmamalıdır. Çalışmamızda 21 gün boyunca 100 mg/kg/gün dozunda uyguladığımız EGb 761 ekstresinin gürültüye bağlı işitme kaybında işitme eşiklerini iyileştirici, oksidatif stres türevlerinin seviyesini azaltıcı ve DNA hasarını azaltıcı etkilerini gösterdik. Bu noktadan hareketle gürültüye bağlı işitme kaybına tinnitusun da eşlik ettiği bireylerde EGb 761' in etkileri üzerine kapsamlı çalışmalar yürütülebilir.

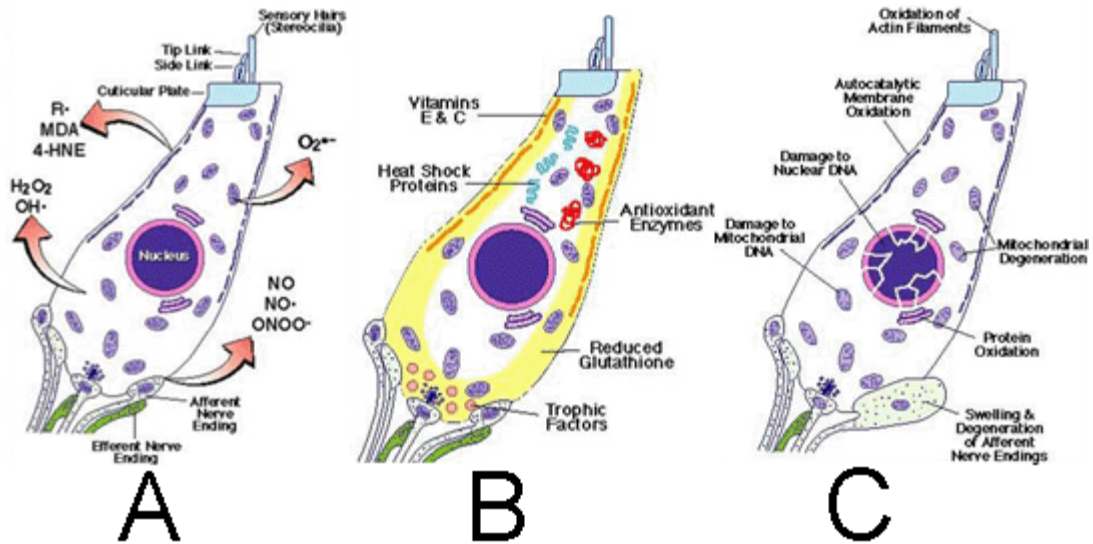
Yang ve ark (54) yaptıkları çalışmada, koklear kültürde gentamisin tedavisinin ardından ROS ve NO seviyelerinin arttığı ve EGb 761' in ROS ve NO seviyelerini tedavi öncesi düzeye ve daha altına indirdiği bulmuşlardır. Bu bulgular, EGb 761' in ROS ve NO formlarını inhibe ederek gentamisin ototoksitesini önleyici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kobaylar üzerinde yapılan in vivo çalışmaları EGb 761'in apoptosis ve tüy hücre kaybını önlediğini ve işitsel fonksiyonu gentamisin ototoksisine karşı koruduğunu göstermiştir. EGb 761'in gentamisin sitotoksitesini ROS ve NO formlarının üretimini azaltarak önlediğini belirtmişlerdir ve EGb 761'in apoptosis ve tüy hücre ölümünü inhibe ettiğini söylemişlerdir. Sonuç olarak EGb 761'in koklear tüy hücre kaybını önlediği ve gentamisin tedavisi uygulanan kobaylarda işitsel fonksiyonları geliştirdiği bildirilmiştir (54). Biz de çalışmamızda gürültüye maruz kalan ratlarda kan TOS düzeyi ile gürültüye maruz kalmayan ratlarda TOS düzeyi arasında ortalama 4 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv/L' lik fark bulduk (bknz: Tablo 7). Yani gürültüye maruziyet kandaki total oksidan statüsünü artırmaktadır. Gürültüye maruziyet sonrasında 21 gün boyunca 100 mg/kg/gün dozunda EGb 761 uyguladığımız ratlarda ise elde edilen TOS seviyesi ile gürültüye maruz kalmayan ratlara ait TOS seviyesi arasında fark gözlemedik. Bu durum bize gürültüye bağlı olarak artan TOS seviyelerinin EGb 761 ile azaltıldığını göstermektedir. EGb 761 uyguladığımız ratların

işitme eşiklerinde görülen iyileşme (bknz: Grafik 12 ve Grafik 16) EGb 761'in oksidatif strese bağlı olarak bozulan işitsel fonksiyonları düzelttiğini göstermektedir.

Burschka ve ark. (55), ani SNİK üzerine yaptıkları çalışmada EGb 761'in işitme kaybı üzerine iyileştirici etkisini bildirmişlerdir. Çalışmalarına, etkilenen kulakta herhangi bir iletim komponenti, inflamasyon bulgusu, şüphelenilen retrokoklear işitme problemi, Meniere hastalığı olmayan ve işitme kaybı 75 dB'den daha düşük olan hastaları dahil etmişlerdir. Ciddi böbrek veya karaciğer yetersizliği olan, gastrointestinal sistem bozukluğu ya da malabzorbsiyon sendromu olan hastalar, emziren bebekli kadınlar, alkolizm şüphesi olanlar, aminoglikozid antibiyotik, diüretik, vazoaaktif ilaç, merkezi sinir sistemi uyarıcı ilaç, antihistaminik, kalsiyum antagonisti, beta bloker, antikoagülan ve platelet toplayıcı inhibitörü kullananları çalışma dışı bırakmışlardır. Hastaları yüksek doz EGb 761 ve düşük doz EGb 761 olacak şekilde iki gruba ayırmışlardır. İşitsel değerlendirmeleri saf ses odyometrik eşikleri belirleyerek yapmışlardır. Tedavi sürecinin sonunda vakaların çoğunda dozdan bağımsız işitme kaybında iyileşme olduğunu tespit etmişlerdir. Orta dereceli işitme kaybı olan ve tinnitus şikayeti olmayan yüksek doz grubundaki 23 hastanın 22'sinde bütün frekanslarda iyileşme olduğu bildirilmiştir. Yüksek doz uygulamanın alçak doz uygulamaya göre tedavi şansını artırdığı ve sonuçların tedaviden 1 hafta sonra hemen gözlemlendiği bildirilmiştir (55). Biz çalışmamızda Grup 3 (gürültü maruziyetinin ardından 21 gün boyunca EGb 761 uyguladığımız grup)'te yer alan önce gürültüye bağlı işitme kaybı oluşturduğumuz ratlara 100 mg/kg/gün dozunda EGb 761'i 21 gün boyunca uyguladık ve elektrofizyolojik işitme eşiklerinde iyileşme elde ettik. Gürültüye bağlı işitme kaybı oluşturmadan sadece aynı dozda EGb 761 uyguladığımız Grup 2'deki ratların uygulama öncesi ve sonrası elektrofizyolojik işitme eşiklerinde anlamlı bir farklılık gözlemlemedik. Bu durum bize EGb 761'in bozulan işitsel fonksiyonları iyileştirdiğini ancak, normal fonksiyonu artırıcı bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Serbest radikallerin gürültüye bağlı işitme kaybı ve hücre ölümü üzerindeki etkileri ispatlanmıştır. Çeşitli antioksidanların gürültüye bağlı işitme

kaybı ve tüy hücre ölümünü azalttığına dair sonuçlar ortadadır. Preklinik çalışmalar sınırlı yan etkileri olan ve yıllardır insanlar üzerinde kullanılan çoklu antioksidan ajanlarının güvenilirliğini kabul etmektedir. İnsan üzerindeki klinik çalışmalar ile antioksidanların gürültüye bağlı işitme kaybı üzerine önleyici etkileri çalışılabilir. Gürültüye bağlı oluşan serbest radikaller koklear kan akımının azalmasına neden olmaktadır. ROS üretimi ile azalmış koklear kan akımı arasında bağlantı olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle vazokonstrüksiyonu azaltan ya da vazodilatasyon etkiye sahip ajanların gürültüye bağlı işitme kaybını azaltabileceğine dair farklı hipotezler vardır (56).



Resim 9. Gürültüye bağlı oksidatif stres oluşumu ve tetiklediği DNA hasarı ile apoptosis (57)

A: superoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil anyon (OH^{\cdot}) gibi hasar verici ROS formları.

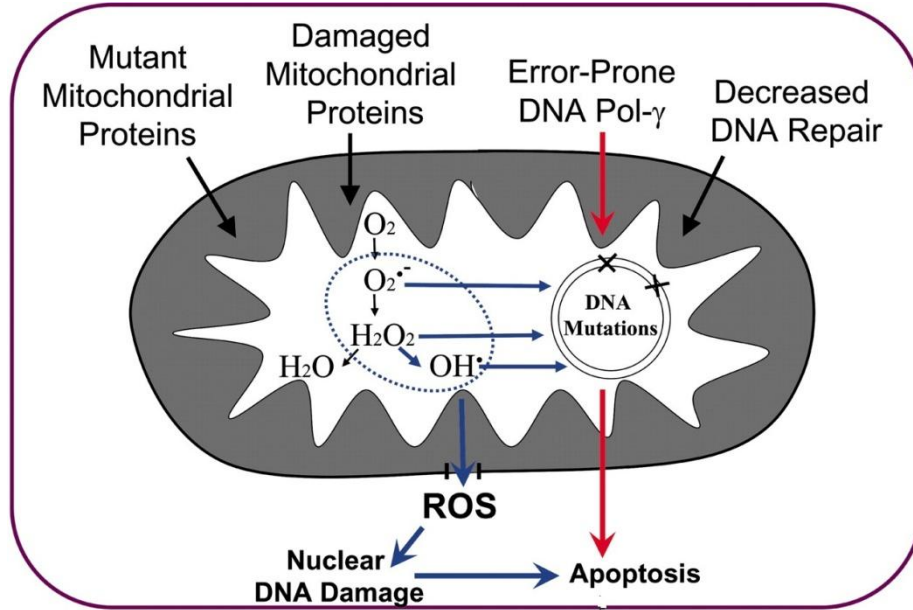
B: ROS ile tetiklenmiş Glutasyon ve bazı antioksidan enzimlerin azalmasını içeren hücre hasarının tüy hücrelerinde iç antioksidan mekanizmalarla kontrol edilmesi

C: ROS hücre membranını, mitokondriyi, nükleer DNA' yı ve proteinleri geri dönüşsüz olarak hasara uğratar ve hücreyi apoptosise götürür.

Gürültüye maruziyetin ardından dokuda açığa çıkan serbest radikaller DNA'yı hasarlayabilir, lipid ve protein molekülleri arasındaki bağları koparabilir, hücre ölümünü tetikleyebilir ve bütün bunlar tüy hücre ölümü ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilir. Gürültüye maruziyet tüy hücre

mitokondrilerinde aerobik respirasyon yoluyla büyük miktarda enerji üretimi açığa çıkarır ve bu durum yapının oksidatif strese bağlı olarak rahatlıkla hasarlanabilmesine neden olur. Kokleadaki oksidatif stresi azaltacak iki strateji vardır; birincisi, kokleadaki antioksidan seviyesini yükseltmek ikincisi, ROS üretimini azaltmaktır. Her ikisi de tüy hücre hasarını ve işitme kaybını önler. Antioksidanlar ROS'u hücreden temizler ve onları daha az tehlikeli bir forma dönüştürürler. Antioksidanlar glutatyon, vitamin C, E ve superoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz gibi enzimler (serbest oksijen türevlerini inhibe etmeye yarayan enzimlerdir) içerirler (58) (bkz resim 9). OSI; sistemdeki reaktif oksijen türevleri ve sistemin detoks yeteneği arasındaki denge bozukluğunu gösterir. Çalışmamızda sadece gürültüye maruz bıraktığımız ratlar ile kontrol grubundaki ratlar arasındaki OSI değeri anlamlı derecede farklılık göstermektedir. Bizim de çalışmamızda kullandığımız antioksidan türevi olan EGb 761, gürültü maruziyeti sonrası %20'lere ulaşan oksidatif stres indeksi (OSI) düzeyini %9'lara düşürmüştür. Bu durum sistemdeki dengesizliğin gürültüye bağlı arttığını gösterir. Sadece gürültüye maruz bıraktığımız ratlara ait OSI değeri ile gürültü sonrası 21 gün boyunca EGb 761 uyguladığımız ratlara ait OSI değeri arasındaki anlamlı farklılık EGb 761'in gürültüye bağlı artmış olan sistemdeki dengesizliğin toparlandığını işaret etmektedir.

Gürültüye maruziyet süresince, mitokondrinin elektron taşıma zinciri büyük miktarda oksijen tüketir ve istenmeyen dış ürün olarak superoksit üretimine neden olur. Superoksidin fazla üretimi yüksek miktarda hidrojen peroksit ve peroksinitrata dönüşecek olan hidroksil radikalleri gibi ROS açığa çıkarır. Serbest radikaller DNA hasarına neden olabilir, lipid ve protein moleküllerini bozabilir, hücre ölümünü tetikleyebilir ve sonuç olarak gürültü sonrasındaki işitsel fonksiyon kaybına neden olabilirler (59).



Resim 10. Serbest radikaller, protein ve lipidleri, mitokondrinin çalışma mekanizmasını bozarak, DNA hasarına neden olabilir (60)

Çalışmamızda heparinize kan örnekleri üzerinden değerlendirilen mononükleer lökosit DNA hasarı bulguları, resim 10'da da görüldüğü gibi, gürültünün ratlarda DNA hasarını anlamlı derecede tetiklediğini göstermektedir. Grafik 9'da verilen rakamlara bakacak olursak, Grup 4 (hiç bir işleme maruz tutulmamış kontrol grubu)'e ait mononükleer lökosit DNA hasarı $15,49 \pm 4,96$ au (*arbitrary units*) iken Grup 1 (sadece gürültüye maruz bırakılmış grup)'de aynı değer $47,45 \pm 16,81$ 'e ulaşmıştır. Bu bulgu, bize gürültünün DNA hasarı oluşturduğunu göstermektedir. Grup 1'e ait mononükleer lökosit DNA hasarı verisi $47,45 \pm 16,81$ değerindeyken Grup 3 (gürültüye maruziyetin ardından 21 gün boyunca EGb 761 uygulanan grup)'e ait mononükleer lökosit DNA hasarı verileri $22,01 \pm 9,61$ değerini göstermektedir. Grup 3 ve Grup 4'e ait mononükleer DNA hasarı verileri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farklılık görülmemektedir. Bu durum EGb 761'in gürültüye bağlı oluşan mononükleer DNA hasarını azalttığını göstermektedir.

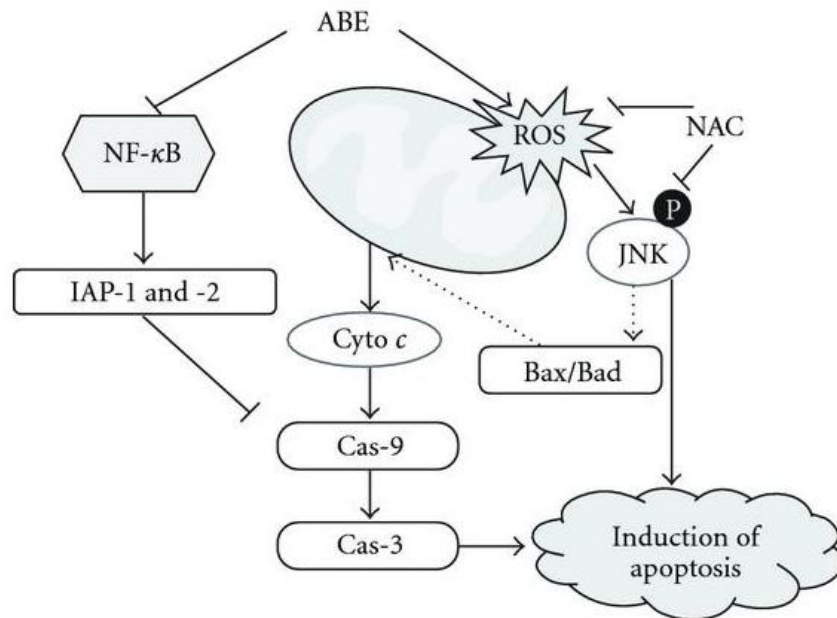
Yüksek şiddetli seslere maruziyet mekanik hasarlanmayı tetikler ve reaktif oksijen türevlerinin üretimiyle ikincil hasarlanmalara neden olabilir. Antioksidan tedavilerinin hücre hasarını minimize ettiği kadar gürültüye

bağlı işitme kaybını azalttığı da bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda belli paternlerde gen regülasyonları gözlenmiştir. 3 saatlik travmayı takiben düzenlenen genler çoğunlukla erken genlerdir ve bunlar stresle aktive olan kinaz proteini olarak bilinen bir çok transkripsiyon faktörü içerirler. Maruziyetten 24 saat sonra genlerin çoğu inflamasyon cevabı oluşan dokularda görülürler. Oksidatif stres cevabı oluşan dokulardaki genler, antioksidan regülasyonunu artırmayı kodlayan genlerdir (59).

Wolfram Sendromu tip 1 geni (WFS 1), diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırlıkla ilişkili olan hidrofilik transmembran proteinini kodlar. WFS 1 geni alçak frekans bölgesini etkileyen sensörinöral tip işitme kaybı ile ilişkilidir. Yuan ve ark. (59) çalışmalarında WFS1 ve IL4-R (*interleukin 4* ani sağırılık ile ilişkilidir) polimorfizmlerinin (biyolojide, iki veya daha fazla farklı fenotipin aynı tür popülasyonunda bulunmasıdır) hangisinin gürültüye bağlı işitme kaybıyla daha çok ilişkili olduğunu araştırmışlardır. Çalışmaya demografik özellikleri benzer olan işitme kayıplı 39 birey (askeriye personeli) ve normal işitmeye sahip 80 birey dahil etmişlerdir. Sonuçta; kontrol grubu ve işitme kayıplı grup arasında WFS 1 geni polimorfizmi açısından anlamlı farklılık bulmuşlardır. WFS 1 geni polimorfizminin gürültüye bağlı işitme kaybında diğer polimorfizmlerden daha önemli olduğunu belirtmişlerdir ve WFS 1 polimorfizminin sadece alçak frekans işitme kaybıyla değil yüksek frekans işitme kaybıyla da ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada WFS 1 geni, silah patlamasıyla oluşmuş gürültüye bağlı işitme kaybı ile ilişkili aday gen olarak tanımlanmıştır (59). Biz çalışmamızda mononükleer lökosit DNA hasarı üzerinde durduk. Bu nedenle WFS 1 geni ile ilgili herhangi bir bulgumuz yoktur ancak, yüksek frekans bölgesini etkileyen gürültüye bağlı işitme kaybının DNA hasarı oluşturduğunu gösterdik. Yüksek frekans bölgesini etkileyen gürültüye bağlı işitme kaybı modelleriyle WFS 1 geni üzerindeki DNA hasarı konusunda kapsamlı çalışmalar yapılabilir.

Nagashima ve ark (61) yayınlarında Elliott ve Gall (2000)'ün görüşlerini paylaşmıştır. Bu görüşte; ROS'un sinyal hücrelerini kurtarabilmesi ya da öldürebilmesi; aktivatör protein-1 (*activator protein-1: AP-1*), nükleer faktör-kappaB (*nuclear factor-kappaB: NF-kB*)' nin gen modülasyonu ile

bağlantılıdır denilmiştir. Aslında AP-1'in travma ve iskemi gibi stresle sonuçlanan durumlarda arttığı görülür. Nagashima ve ark (61) önceki çalışmalarında aşırı yüksek gürültünün kobay kokleasında AP-1 DNA bağlayıcı proteininde artışa neden olduğunu gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ancak, gürültüye maruziyet sonrasında kokleada AP-1'in bulunmasıyla ilişkili gen regülasyonu sınırlı miktarda bulunmuştur. AP-1 ve NF- κ B gürültüye maruziyet sonrasında kokleada stres unsuruna cevaben görülen moleküllerdir. Bu moleküllerin artışı hücre içi antioksidan düzeyini düzenlemeyi sağlamak içindir (61). AP-1 ve NF- κ B eksikliği, hücre içi antioksidan düzensizliğinin regüle edilmesini önler. Hücre içi antioksidan düzensizliği ise hücre apoptozisine yol açacak bir durumdur. AP-1 ve NF- κ B gürültüye bağlı DNA hasarı mekanizması incelenirken dikkat edilmesi gereken proteinlerdir (bkz Resim 11). Çalışmamızda DNA hasarı mekanizmasındaki enzim ve proteinleri detaylı olarak incelemediğimiz için bu proteinlere ait herhangi bir bulgumuz yoktur. Ancak gürültüye bağlı işitme kaybı ve EGb 761 gibi antioksidan türevleri arasındaki ilişki araştırılırken bu proteinler üzerine de çalışmaların yapılması literatüre katkı sağlayacaktır.



Resim 11. AP-1 ve NF- κ B' nin hücre ROS'a bağlı apoptozisteki rolü (62)

Campen ve ark (63) yaptıkları çalışmada yüksek akustik uyararı takiben oksidatif DNA hasarının işitsel disfonksiyona neden olduğunu

söylemişlerdir ve maruziyet sonrası ilk 8 saatin antioksidan tedavinin başlaması için kritik süreç olduğunu belirtmişlerdir. Gürültüye bağlı işitme kaybının antioksidan tedavilerle önlenmesi klinik anlamda her geçen gün önem kazanmaktadır. Biz çalışmamızda gürültüye bağlı işitme kaybı oluşturduğumuz ratlara EGb 761 uygulamasını gürültüye maruziyetin hemen arkasından uygulamaya başladık. Bu nedenle sonuçlarımız akut dönemde uygulanan EGb 761'in etkilerini göstermektedir. EGb 761'in gürültüye bağlı işitme kaybı üzerine akut dönem ve geç dönem etkilerinin araştırılacağı kontrollü çalışmalar literatüre katkı sunacaktır.

Çalışmamızda TOS değerlerinin gürültüye maruz bırakılan ratlarda kontrol grubundaki ratlara oranla anlamlı derecede artmış bulunması literatürde yer alan, gürültünün kanda oksidatif stres faktörlerinin artışına yol açtığı hipotezini desteklemektedir. Gürültüye maruz bırakıp ardından 21 gün boyunca EGb 761 uyguladığımız rat grubu ile sadece gürültüye maruz bıraktığımız rat grubuna ait TOS değerleri arasında bulduğumuz anlamlı farklılık antioksidan türevi olan EGb 761'in koklear düzeyde hasar verici etkisi olan oksidatif stres faktörlerinin kandaki düzeyini azalttığını göstermektedir.

Çalışmamızda Grup 1 (sadece gürültüye maruz bırakılan grup) ve Grup 4 (kontrol grubu)'e ait TAS değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu bulgu hücrede oksidatif stres faktörleri ile savaşılabilecek hücre içi antioksidan türevlerinin düzeyinin düşük olduğunu göstermektedir. Ancak, Grup 2 (sadece EGb 761 uygulanan grup)'ye ait TAS değerleri, Grup 1'e ait TAS değerlerinden anlamlı derecede farklıdır ve bu EGb 761'in kandaki antioksidan düzeylerinde artışa neden olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızın odyolojik değerlendirme aşamasından elde ettiğimiz bulgular gürültünün DPOAE ve ABR eşiklerinde kaymaya neden olduğunu göstermektedir. Bu kaymanın biyokimyasal bulgularımızda gösterdiğimiz oksidatif stres türevlerinin kandaki düzeylerinin artmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Gürültüye bağlı olarak kandaki oksidatif stres faktörlerinin artışı işitsel fonksiyonlarda bozulmayla sonuçlanmıştır.

Çalışmamızdaki Grup 1 (sadece gürültüye maruz bırakılan grup)'de bazal ortalama DPOAE eşikleri minimum $15,1 \pm 2,17$ dB SPL, maksimum

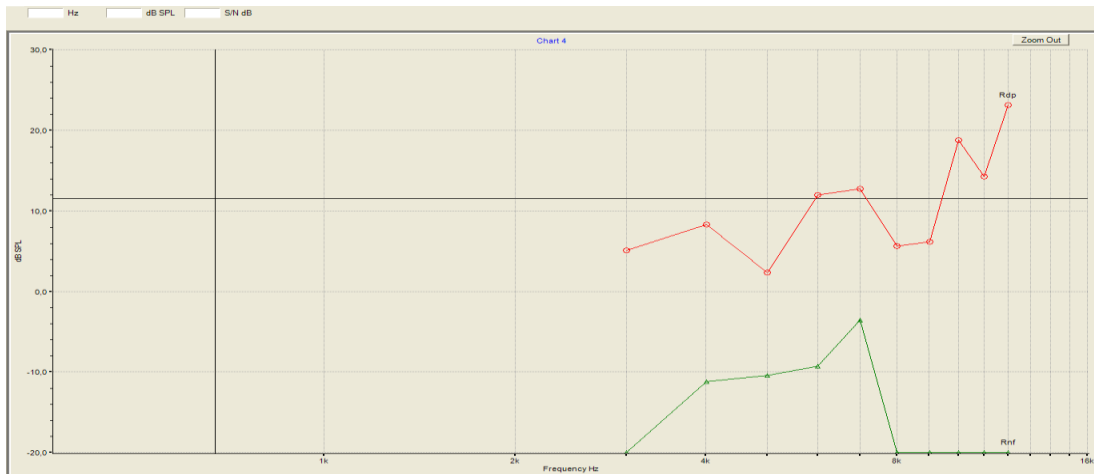
30,4±3,63 dB SPL arasında görülürken, gürültüye maruziyetten sonra 1. günde eşikler minimum 5,4±1,13 dB SPL, maksimum 12,6±1,11 dB SPL şiddetleri arasında gözlenmiştir. Grafik 1'de görüldüğü gibi gürültüye maruziyetten sonra işitme eşiklerindeki düşme 5004 Hz'in üzerindeki frekanslarda daha belirgindir. Eşiklerdeki belirgin düşüş, gürültünün işitmeyi yüksek frekanslarda daha fazla etkilediğini göstermektedir. Tablo 2'ye bakılacak olursa gürültüye maruziyet sonrası ortalama DPOAE eşiklerinin 21 gün sonunda minimum 10,4±2,03 dB SPL, maksimum 17,3±3,32 dB SPL arasında kaldığı görülmektedir. Bu durumda, 100 dB SPL şiddetinde 8 saat boyunca uyguladığımız gürültüye bağlı oluşan işitme kaybının çalışma süremiz boyunca karakterini koruduğunu söylemek mümkündür. Aynı grubun ABR eşik ortalamaları Tablo 6'dan incelendiğinde gürültüye maruziyet sonrası ortalama 30 dB'lik eşik kaymasının, 21 günün sonunda ortalama 22 dB civarında olduğu görülmektedir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte oluşan işitme kaybının 21 gün boyunca düzelmediğini göstermektedir. DPOAE ve ABR bulguları birbirlerini desteklemektedir.

Çalışmamızda Grup 2 (gürültüye maruz bırakılmadan sadece 21 gün boyunca EGb 761 uyguladığımız grup)'ye ait ortalama DPOAE bazal eşikleri minimum 10,8±1,25 dB SPL, maksimum 34,6±4,26 dB SPL arasında değişiklik gösterirken, 21. gün ortalama DPOAE eşiklerinin minimum 13,4±1,06 dB SPL, maksimum 30±6,18 dB SPL aralığında olduğunu görmekteyiz. Bütün frekanslara ait DPOAE değerleri Tablo 3'te yer almaktadır. Bu da bize ortalama bazal DPOAE eşikleri ile 21. gün ortalama DPOAE eşiklerinin arasında büyük farklılıklar olmadığını göstermektedir. Aynı grubun ortalama bazal ABR eşikleri 34,3±5,7 dB nHL iken 21 günün sonunda ortalama eşikler 37,8±3,8 dB nHL şiddetinde elde edilmiştir. Bu bulguya dayanarak EGb 761'in normal işitsel fonksiyonlar üzerine geliştirici etkisinin olmadığını söyleyebiliriz.

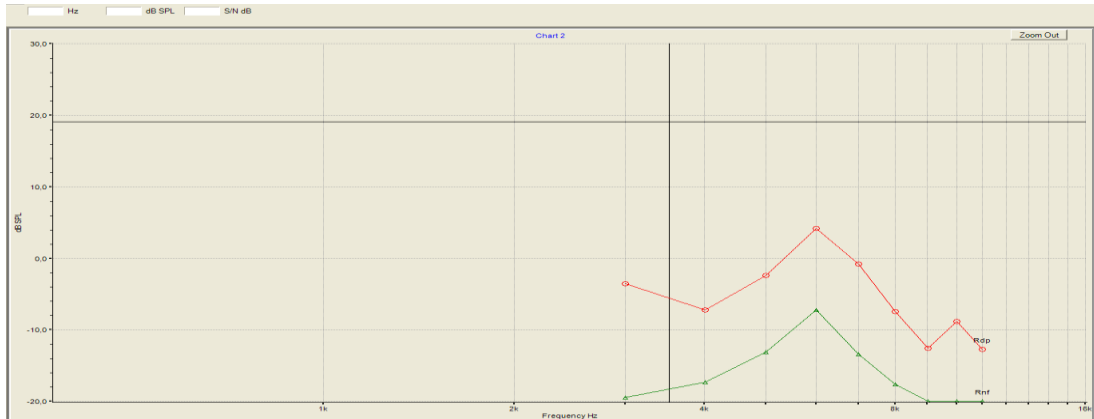
Çalışmamızdaki Grup 3 (gürültüye maruziyetin ardından 21 gün boyunca EGB 761 uyguladığımız grup)'e ait ortalama bazal DPOAE eşiklerinin minimum 11,3±2,43 dB SPL, maksimum 31,8±4,57 dB SPL arasında olduğunu, gürültüye maruziyetin ardından 1. gün ortalama eşiklerin

minimum $7,7 \pm 2,27$ dB SPL, maksimum $12,7 \pm 1,99$ dB SPL arasında yer aldığını görmekteyiz. Bu grup için de gürültünün neden olduğu işitme kaybının yüksek frekans bölgesinde özellikle 5004 Hz'in üzerindeki frekanslarda oluştuğunu söylemek mümkündür (bknz Grafik 3). 7. günün sonunda aynı gruba ait ortalama DPOAE eşikleri minimum $11,9 \pm 2,85$ dB SPL, maksimum $21,8 \pm 3,09$ dB SPL arasında yer alarak ortalama 5-10 dB'lik bir iyileşme göstermiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte Grafik 3'de de gösterildiği gibi 7. günde bütün frekanslardaki DPOAE eşiklerinde iyileşme olmuştur. Bu grupta yer alan ratların ortalama DPOAE eşikleri 14. gün itibariyle bazal değerlere yaklaşmıştır.

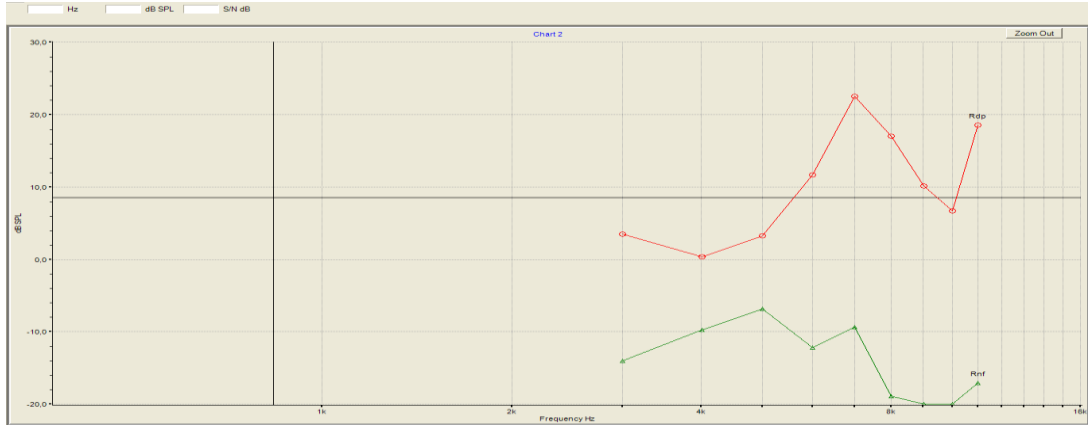
Resim 12, 13 ve 14'te Grup 3'te yer alan I nolu ratın; bazal, gürültü sonrası 1. gün ve EGb 761 uygulanan 21 gün sonunda ölçülen DPOAE grafikleri görülmektedir.



Resim 12. Grup 3'teki I nolu ratın bazal DPOAE grafiği



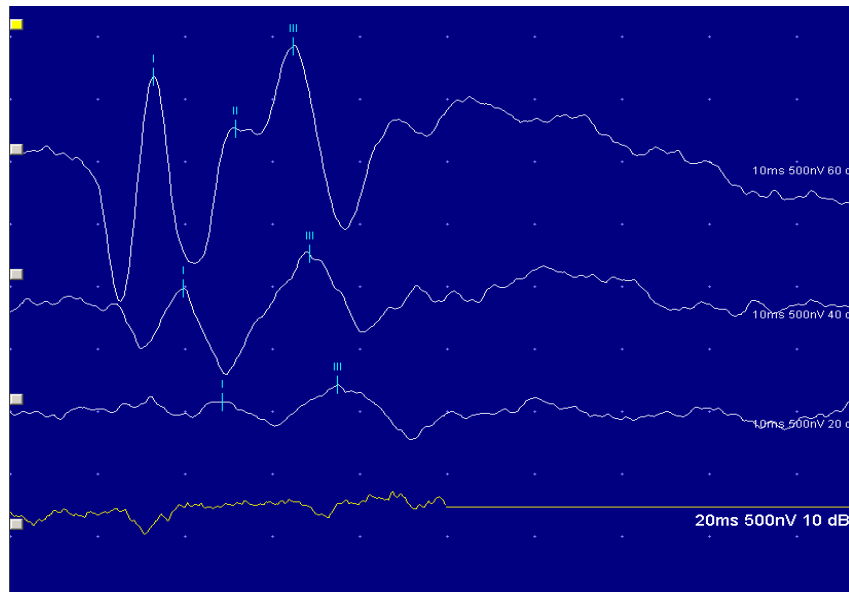
Resim 13. Grup 3'teki I nolu ratın gürültü sonrası 1. gün DPOAE grafiği



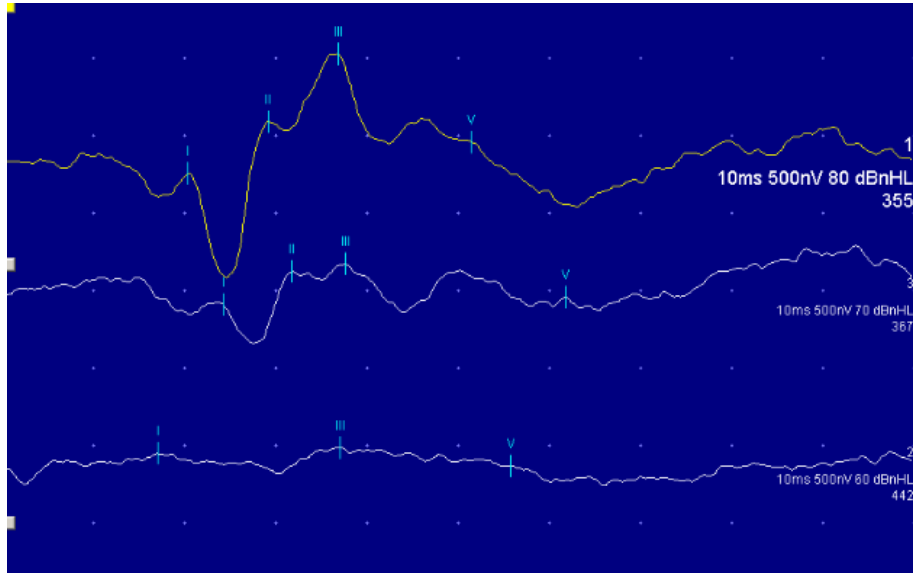
Resim 14. Grup 3'teki I nolu ratın gürültüde maruziyetinin ardından 21 gün Egb 761 uygulaması sonrası 21. gün DPOAE grafiği

Aynı grubun ortalama bazal ABR eşikleri ile gürültüye maruziyet sonrası 1. gün ortalama ABR eşikleri arasında ortalama 26 dB'lik bir düşme gözlenmektedir. 1. günden sonra Egb 761 uygulamasının sürdüğü 14. günde ortalama ABR eşiklerinde ortalama 23 dB'lik belirgin bir iyileşme gözlenmektedir (bknz Tablo 6).

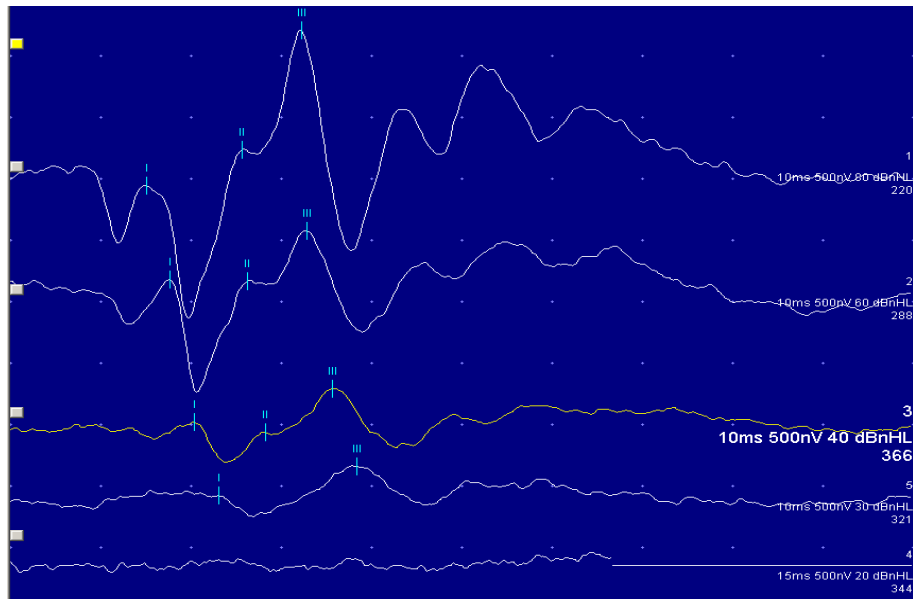
Resim 15, 16 ve 17'de ise Grup 3'te yer alan I nolu ratın bazal, gürültü sonrası 1. gün ve Egb 761 uygulanan 21 gün sonunda ölçülen ABR grafik örnekleri görülmektedir.



Resim 15. Grup 3'teki I nolu ratın bazal ABR grafiği



Resim 16. Grup 3'teki I nolu ratın gürültü sonrası 1. gün ABR grafiği



Resim 17. Grup 3'teki I nolu ratın gürültüye maruziyetinin ardından 21 gün EGb 761 uygulaması sonrası 21. gün ABR grafiği

Gürültüye maruziyetten sonra akut dönemde uygulamaya başladığımız ve 21 gün boyunca uygulamasına devam edilen EGb 761'in 7. ve 14. gün itibariyle DPOAE ve ABR eşiklerinde iyileşmeye yol açtığı, 21. gün sonunda ise gürültüye maruziyet sonrasında kötüleştiği belirlenen eşiklerin,

bazal eşiklere yaklaştığı bulgularımızda görülmektedir. Bu bulgular, EGb 761'in işitsel fonksiyonlar üzerindeki iyileştirici etkisini kanıtlamaktadır.

Çalışmamızın kontrol grubunda (herhangi bir işlem uygulanmadan takip edilen kontrol grubu) ise ortalama DPOAE ve ABR eşikleri arasında bazal ölçüm ile 21. gün ölçümü arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Bu bulgu bize çalışmamız süresince ratlarımızın yaş, beslenme, barınma gibi çevresel etmenlere bağlı olarak kazandığı bir işitme kaybının olmadığını göstermektedir.

Odyolojik bulgularımız, biyokimyasal bulgularımız ve DNA hasarına ait bulgularımız;

- Gürültünün oksidatif stres türevlerinin kandaki düzeyini artırdığını belirten,
- Kanda düzeyi yükselen oksidatif stres türevlerinin işitsel fonksiyonlarda bozulmaya neden olduğunu gösteren,
- Gürültüye bağlı kandaki seviyesi artan oksidatif stres türevlerinin DNA hasarına yol açtığını vurgulayan,
- EGb 761'in farklı nedenlere bağlı oluşmuş işitme kaybı üzerine iyileştirici etkisini bildiren,
- EGb 761'in kandaki oksidatif stres faktörlerinin seviyesini düşürdüğünü ve DNA hasarını aza indirdiğini belirten literatür bulgularını desteklemektedir.

Gürültüye bağlı işitme kaybı toplumsal hayatın bir çok alanında insan sağlığını etkilemektedir. Uzun süre gürültüye maruziyet işitme sisteminin yanı sıra sinir sistemi, dolaşım sistemi, solunum sistemi gibi bir çok sistemi de etkilemektedir. Gürültünün istenmeyen sonuçlarından biri olan gürültüye bağlı işitme kaybı bireylerin yaşam kalitelerini de etkileyen bir sağlık problemidir. Bu nedenle modern toplumlarda gürültüye maruziyet yaşayan bireylerde işitme taramaları ve genel sağlık taramalarının yapılması ve toplumun konuyla ilgili bilgilendirilmesi gerekmektedir. Gürültüye bağlı işitme kaybının önlenebilir olduğu ve hücresel düzeyde oluşturduğu etkilerin iyileştirilebilir olduğu unutulmamalıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, yetişkin ratlarda gürültüye bağlı işitme kaybı oluşturarak EGb 761' in işitsel elektrofizyolojik bulgular üzerindeki etkisi, gürültüye bağlı ortaya çıkan biyokimyasal değişiklikler ve DNA hasarı, EGb 761'in biyokimyasal değerler ve DNA hasarı üzerine etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızda;

- 1) Gürültü işitsel elektrofizyolojik eşiklerde (DPOAE ve ABR eşikleri) düşmeye neden olmaktadır.
- 2) EGb 761'in tek başına işitsel eşikler üzerine herhangi bir etkisi yoktur.
- 3) Gürültüye bağlı işitme kaybı oluşturulmuş ratlarda, maruziyetin hemen arkasından EGb 761'in uygulanması halinde, 7. gün itibariyle ortalama DPOAE eşiklerinde, 14. gün itibariyle ortalama ABR eşiklerinde iyileşme gözlenmektedir. Eşikler 21 günlük EGb 761 uygulaması sonunda normal değerlere yaklaşmaktadır.
- 4) Gürültüye bağlı olarak kandaki total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksinin (OSI) normal değerlerin üstüne çıktığı belirlenmiştir.
- 5) Yükselen total oksidan seviyesi ve oksidatif stres indeksinin uygulanan EGb 761 sonrasında anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir.
- 6) EGb 761'in kandaki total antioksidan seviyesini (TAS) yükselttiği gözlenmiştir.
- 7) Gürültüye bağlı DNA hasarının olduğu tespit edilmiştir.
- 8) Gürültüye bağlı oluşan DNA hasarının EGb 761 kullanımıyla azaldığı belirlenmiştir.

Öneriler

- 1) Deney hayvanlarında oluşturulan gürültüye bağlı işitme kaybı modellerinde;
 - Farklı antioksidan türevlerinin etkileri,
 - Farklı dozlardaki antioksidanların etkileri,

- Antioksidan kullanımının akut ve kronik etkileri konuları üzerinde yapılabilecek araştırmalar gürültüye baēlı işitme kaybı yaşayan bireylerin tedavisine çok büyük katkı sunacaēı gibi bilimsel literatürün gelişmesini de saēlayacaktır.
 - Deney hayvanlarında ABR dalga lokalizasyonları tercih edilen hayvana göre farklılık göstermektedir. Buna istinaden deneysel çalışmalarda ABR dalga lokalizasyonları kullanılan deney hayvanı dikkate alınarak deēerlendirilmelidir.
- 2) Gürültüye baēlı işitme kaybı ve EGb 761 gibi antioksidan türevleri arasındaki ilişki araştırılırken AP-1 ve NF-kB gibi moleküllerin etkilenimleri araştırılabilir.
 - 3) Yüksek frekans bölgesini etkileyen gürültüye baēlı işitme kaybı modelleriyle WFS 1 geni üzerindeki DNA hasarı konusunda çalışmalar planlanabilir.
 - 4) Gürültüye baēlı işitme kaybına eşlik eden tinnitus şikayeti olan bireylerde EGb 761'in tinnitus ve işitme eşikleri üzerine etkilerini inceleyen kapsamlı çalışmalar yapılabilir.
 - 5) Gürültüye baēlı işitme kaybı riski taşıyan bireylerde önleyici tedbirler alınmalıdır, alınamıyorsa erken dönemde tıbbi ve odyolojik takip ve antioksidan tedavileri bireylere yardımcı olacaktır.
 - 6) Modern toplumlarda gürültüye maruziyet yaşayan bireylerde işitme taramaları ve genel saēlık taramalarının yapılması ve toplumun konuyla ilgili bilgilendirilmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Ji-Won Lee, Byoung Soo Shim ve Jong Woo Chung; The Effect Of Ginkgo Biloba On Hearing In Mice With Noise-Induced Temporary Threshold Shift; *Korean J Audiol* 2013;17:74-77
- 2- [Http://Hannaziegler.Tripod.Com/Ent/Varia/Rabinowi.Pdf](http://Hannaziegler.Tripod.Com/Ent/Varia/Rabinowi.Pdf) Erişim Tarihi: 03.06.2014
- 3- Mariola Sliwinska-Kowalska, Adrian Davis; Noise-Induced Hearing Loss; *Noise & Health*, November-December 2012, Volume 14:61, 274-80
- 4- Kenichiro Wakabayashi, Masato Fujioka, Sho Kanzaki, Hirotaka James Okano, Shinsuke Shibata, Daisuke Yamashita ve ark.; Blockade Of Interleukin-6 Signaling Suppressed Cochlear İnflammatory Response And Improved Hearing Impairment In Noise-Damaged Mice Cochlea; *Neuroscience Research* 66 (2010) 345–352
- 5- <http://www.dangerousdecibels.org/education/information-center/noise-induced-hearing-loss/> Erişim Tarihi: 26/09/2014
- 6- Noise-Induced Hearing Loss İn The 21st Century: A Research And Translational Update
http://www.wjgnet.com/2218-6247/news_20130903160157.htm
Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 7- Medi Herb; A Physiotherapist's Perspective; *Ginkgo And Ear Disorders*; No. 26 October 2002
- 8- K. Ashok Shenoy, S. N. Somayaji, K. L. Barry; Hepatoprotective Effects Of Ginkgo Biloba Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Injury İn Rats; *Indian Journal Of Pharmacology* 2001; 33: 260-266
- 9- Emir H, Kaptan Zk, Samim E, Sungu N, Ceylan K, Ustun H; The Preventive Effect Of Ginkgo Biloba Extract İn Myringosclerosis: Study İn Rat; *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009 Feb;140(2):171-6. Doi: 10.1016/J.Otohns.2008.10.027.
- 10- Ross J. Roeser; Michael Valente; Holly Hosford- Dunn; *Audiology Diagnosis; 2 Nd Edition; Anatomy And Physiology Of The Peripheral Auditory System*; Thieme; 2007;
- 11- *Temel Otolaringoloji, Adım Adım Öğrenme Rehberi*, Çev.Edt: Doç.Dr. Nadir Yıldırım; Nobel Tıp Kitabevleri, 2011;
- 12- *Hearing: Anatomy, Physiology, And Disorders Of The Auditory System*, 2nd Edition; A.R.Moller, Elsevier; 2006

- 13- *Anatomy & Physiology For Speech, Language, And Hearing*, 4th Edition; J. Anthony Seikel, Ph.D., Douglas W. King, Ph.D., David G. Drumright; © 2010, 2005 Delmar, Cengage Learning
- 14- <http://ajprenal.physiology.org/content/294/1/F139> Erişim Tarihi: 01.06.2014
- 15- Tsutomu Nakashima; Nagoya; Autoregulation Of Cochlear Blood Flow; *J. Med. Sci.* 62. 1 - 9, 1999
- 16- <http://dizziness.webs.com/vestibularneuronitis.htm> Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 17- Roberto Reif, Zhongwei Zhi, Suzan Dziennis, Alfred L. Nuttall, Ruikang K. Wang; Changes In Cochlear Blood Flow In Mice Due To Loud Sound Exposure Measured With Doppler Optical Microangiography And Laser Doppler Flowmetry; *Quantitative Imaging In Medicine And Surgery*, Vol 3, No 5, October 2013
- 18- Wei Chen, Jianmin Wang, Jing Chen, Jichuan Chen, Zhiqiang Chen; Relationship Between Changes In The Cochlear Blood Flow And Disorder Of Hearing Function Induced By Blast Injury In Guinea Pigs; *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6(3):375-384).
- 19- Xiaorui Shi; Physiopathology Of The Cochlear Microcirculation; *Hearing Research* 282 (2011) 10e24
- 20- Warangkana Arpornchayanon, Martin Canis, Markus Suckfuell, Fritz Ihler, Bernhard Olzowy, Sebastian Strieth; Modeling The Measurements Of Cochlear Microcirculation And Hearing Function After Loud Noise; *Otolaryngology -- Head And Neck Surgery* 2011 145: 463 Originally Published Online 2 June 2011; Doi: 10.1177/0194599811407829
- 21- The Anatomy And Physiology Of The Ear And Hearing; Peter W. Alberti; http://www.who.int/occupational_health/publications/noise2.pdf Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 22- Oğuz Erdoğan, Mustafa Tüz, Hasan Yasan, Giray Aynali, Murat Yarıktaş; Deneysel Akustik Travmada Kafeik Asit Fenetil Esterinin İşitme Kaybı Üzerine Etkisi Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Ad, Isparta; *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 2012;19 (3) /81-86).
- 23- Oisaeng Hong, Faan, Madeleinej.Kerr, Gaylal.Poling, Sumitrajit Dhar; Understanding And Preventing Noise-Induced Hearing Loss; *Disease-A-Month* 59 (2013) 110–118
- 24- Colleen G. Le Prell, Daisuke Yamashita, Shujiro B. Minami, Tatsuya Yamasoba, Josef M. Miller; Mechanisms Of Noise-Induced Hearing Loss Indicate Multiple Methods Of Prevention; *Hearing Research* 226 (2007) 22–43

- 25- *Cep Telefonu Radyasyonunun Sıçan (Wistar Albino) Karaciğer Dokusundaki Oksidant/Antioksidant Dengesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi*; Emine Okcu Yaykaşlı; Yüksek Lisans Tezi; Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; Haziran 2006; Ankara
- 26- Kevin K. Ohlemiller; Recent Findings And Emerging Questions In Cochlear Noise Injury; *Hearing Research*; 245 (2008) 5–17
- 27- Hilton Mp, Stuart El.; Ginkgo Biloba For Tinnitus (Review); *The Cochrane Library*; 2004, Issue 2
- 28- Ginkgo Biloba: Local Experiences; *International Tinnitus Journal*, Vol. 6, No.1, 54-55 (2000)
- 29- G.M. Haase Et Al.; Antioxidant Micronutrient Impact On Hearing Disorders: Concept,Rationale, And Evidence; *American Journal Of Otolaryngology–Head And Neck Medicine And Surgery* 32 (2011) 55–61
- 30- <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-442.pdf> Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 31- Ethics in Animal Experimentation; Yusuf Ergün; *Archives Medical Review Journal*. 2010; 19(4): 220-235
<http://www.scopemed.org/?mno=19509> Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 32- <http://www.nt.ntnu.no/users/clabec/pdf/MedicalResearchAnimalExperiments.pdf> Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 33- <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-431.pdf> Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 34- Hearing Ranges Of Laboratory Animals, *Journal Of The American Association For Laboratory Animal Science*, Volume 46, Number 1, January 2007, Pp.20-22(3) Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 35- Agnes Afrodite Sumarelli Albuquerque, Maria Rossato, José Antonio Aparecido De Oliveira, Miguel Angelo Hyppolito; Understanding The Anatomy Of Ears From Guinea Pigs And Rats And Its Use In Basic Otologic Research; *Braz J Otorhinolaryngol* 2009;75(1):43-9
- 36- J. Wysocki; Topographical Anatomy And Measurements Of Selected Parameters Of The Rat Temporal Bone; *Folia Morphol.*, 2008, Vol. 67, No. 2
- 37- Zbynek Bures, Jolana Grecova, Jiri Popelar, Josef Syka; Noise Exposure During Early Development Impairs The Processing Of Sound Intensity In Adult Rats; *European Journal Of Neuroscience*, Vol. 32, Pp. 155–164, 2010

- 38- Saad Alsaleh, Brian W. Blakley, Eric Meen, Zameel Dewji; Addressing Animal Model Issues In Auditory Research; *Journal Of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, Vol 40, No S1 (February), 2011: Pp S41-S44
- 39- Aimee Woolard; The Characterization Of Distortion Product Otoacoustic Emissions In The Sprague-Dawley Rat During Development; http://digitalcommons.wustl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1539&context=pacs_capstones Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 40- *Amikasinin Ototoksik Etkisinin Ve E Vitamininin Ototoksitedeki Olası Protektif Etkisinin, Sıçan Kokleasında Otoakustik Emisyon İle Araştırılması; (Deneysel Çalışma);* Uzmanlık Tezi; Dr. Bünyamin Turhan; T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Okmeydanı Eğitim Ve Araştırma Hastanesi; Kulak Burun Bogaz Kliniği; İstanbul 2008
- 41- <http://www.genelip.org/upload/sayi/70/GTD-00564.pdf> Erişim Tarihi: 07.10.2014
- 42- Ana E. Vazquez, Anne E. Luebke, Glen K. Martin, Brenda L. Lonsbury-Martin; Temporary And Permanent Noise-Induced Changes In Distortion Product Otoacoustic Emissions In Cba/Caj Mice; *Hearing Research* 156 (2001) 31-43
- 43- *Handbook Of Clinical Audiology* 5. Basım; Jack Katz; Lippincott Williams And Wilkins
- 44- *Hiperbilirubinemili Yenidoğan Wistar Albino Rat Modelinde Elektrofizyolojik İşitsel Yanıtların Morfolojik Bulgularla Karşılaştırılması;* Çağıl Gökdoğan; Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Odyoloji Ve Konuşma Bozuklukları Programı; Doktora Tezi; Ankara 2013
- 45- *Hearing: Its Physiology And Pathophysiology*, A.R. Moller, Amsterdam: Elsevier, 2006
- 46- M. Anniko, A. R. Arnesen; Cochlear Nerve Topography And Fiber Spectrum In The Pigmented Mouse; *Archives Of Oto-Rhino-Laryngology*; July 1988, Volume 245, Issue 3, Pp 155-159
- 47- Juan Carlos Alvarado, Verónica Fuentes-Santamaría, Tania Jare ~no-Flores, José Luis Blanco, José M. Juiz; Normal Variations In The Morphology Of Auditory Brainstem Response (Abr) Waveforms: A Study In Wistar Rats; *Neuroscience Research* 73 (2012) 302–311
- 48- Aravindakshan Parthasarathy, Paul A. Cunningham, Edward L. Bartlett; Age-Related Differences In Auditory Processing As Assessed By Amplitude-Modulation Following Responses In Quiet And In Noise; *Frontiers In Aging Neuroscience*; December 2010 | Volume 2 | Article 152

- 49- Emine Aydın, Filiz Aydog, Eren Taştan, Ayşe İriz, Gökhan Karaca, İlknur Haberal Can; Are Systemic Voriconazole And Caspofungin Ototoxic? An Experimental Study With Rats; *Clinical And Experimental Otorhinolaryngology* Vol. 5, No. 3: 145-149, September 2012
- 50- Aksoy F, Dogan R, Ozturan O, Eren SB, Veyseller B, Pektas A, Hüseyinbas Ö; Protective Effect Of Trimetazidine On Amikacin-Induced Ototoxicity In Rats, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2014 Apr;78(4):663-9
- 51- Patricia Rojas, Pedro Montes, Carolina Rojas, Norma Serrano-Garcia, Julio Cesar Rojas-Castaneda; Effect Of A Phytopharmaceutical Medicine, Ginkgo Biloba Extract 761, In An Animal Model Of Parkinson's Disease: Therapeutic Perspectives; *Nutrition* 28 (2012) 1081–1088
- 52- Role Of Ginkgo Biloba Extract In Acquired Sensorineural Hearing Loss link.springer.com/article/10.1007%2FBF03006187#page-1 Erişim Tarihi: 8.10.2014
- 53- Alexander Von Boetticher; Ginkgo Biloba Extract In The Treatment Of Tinnitus:A Systematic Review; *Neuropsychiatric Disease And Treatment*; 2011:7 441– 447
- 54- T.H. Yang Et Al.; Egb 761 (Ginkgo Biloba) Protects Cochlear Hair Cells Against Ototoxicity Induced By Gentamicin Via Reducing Reactive Oxygen Species And Nitric Oxide-Related Apoptosis; *Journal Of Nutritional Biochemistry*; 22 (2011) 886–894
- 55- Martin A. Burschka, Hassan Abdel-Hady Hassan, Thorsten Reineke, Lara Van Bebber, David M. Caird, Ralph Mösges; Effect Of Treatment With Ginkgo Biloba Extract Egb 761 (Oral) On Unilateral Idiopathic Sudden Hearing Loss In A Prospective Randomized Double-Blind Study Of 106 Outpatients; *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2001) 258 :213–219
- 56- C.G. Le Prell Et Al.; Mechanisms Of Noise-Induced Hearing Loss Indicate Multiple Methods Of Prevention; *Hearing Research* 226 (2007) 22–43
- 57- <http://www.soundpharmaceuticals.com/technology.html> Erişim Tarihi 10.11.2014
- 58- Srdjan M. Vlajkovic, Shelly Ching-Yu Lin, Ann Chi Yan Wong, Brad Wackrowa, Peter R. Thorne; Noise-Induced Changes In Expression Levels Of NADPH Oxidases In The Cochlea; *Hearing Research* 304 (2013) 145e152
- 59- Ben-Chih Yuan, Feng-Ming Su, Wen-Tung Wu, Wen-Sheng Liu F, Kuo-Hsun Chiu; A Predictive Model Of The Association Between Gene Polymorphism And The Risk Of Noise-Induced Hearing Loss Caused By

Gunfire Noise; *Journal Of The Chinese Medical Association* 75 (2012) 36e39

- 60- <http://www.pnas.org/content/102/52/18769/F1.expansion.html> erişim Tarihi: 10.11.2014
- 61- Reiko Nagashima, Chie Sugiyama, Masanori Yoneyama, Nobuyuki Kuramoto, Koichi Kawada, Kiyokazu Ogita; Acoustic Overstimulation Facilitates The Expression Of Glutamate–Cysteine Ligase Catalytic Subunit Probably Through Enhanced DNA Binding Of Activator Protein-1 And/Or Nf-Kb In The Murine Cochlea; *Neurochemistry International* 51 (2007) 209–215
- 62- <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/838172/fig7/> Erişim Tarihi: 10.11.2014
- 63- Luann E. Van Campen, William J. Murphy, John R. Franks, Patricia I. Mathias, Mark A. Toraason; Oxidative DNA Damage is Associated With Intense Noise Exposure in The Rat; *Hearing Research* 164 (2002) 29^38

8. EKLER

Ek-1: Etik Kurul Karar Metni



**T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ**

SAYI: 2014/ 109
KONU: Sn. Öğr. Gör. Alev PEKTAŞ

29.04.2014

Sayın Öğr. Gör. Alev PEKTAŞ,

Başlığı “Ginko biloba ekstresinin ratlarda gürültüye bağlı oluşan işitme kaybını iyileştirici etkisinin odyolojik ölçümler (DPOAE ve ABR) ve biyokimyasal parametreler (DNA hasarı, TAS, TOS, OSI) ile incelenmesi” olan projeniz 29.04.2014 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

Doç. Dr. Ülkan KILIÇ
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Ahmet BELCE
Üye

Prof. Dr. Erhan AYŞAN
Üye

Prof. Dr. İsmail MERAL
Üye

Prof. Dr. Serdar ÜŞÜMEZ
Üye

Yrd. Doç. Dr. Mahmur GÜRGAN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ömer UYSAL
Üye

Nasuhi GÜNAY
Üye

Veli ÖZTÜRK
Üye